



T.C.

**VAN YÜZÜNCÜ YIL ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ  
ENFEKSİYON HASTALIKLARI VE KLİNİK MİKROBİYOLOJİ  
ANABİLİM DALI**

**KARBAPENEMAZ ÜRETEN ENTERİK BAKTERİLERİN  
E-TEST (EPSİLOMETER TEST) İLE DOĞRULANMASI VE  
HASTANE KÖKENLİ ENFEKSİYON TANISI ALAN OLGULARDA  
RİSK FAKTÖRLERİNİN DEĞERLENDİRİLMESİ**

**Dr. MEHMET ÇELİK**

**TIPTA UZMANLIK TEZİ**

**VAN-2018**



T.C.

**VAN YÜZÜNCÜ YIL ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ  
ENFEKSİYON HASTALIKLARI VE KLİNİK MİKROBİYOLOJİ  
ANABİLİM DALI**

**KARBAPENEMAZ ÜRETEEN ENTERİK BAKTERİLERİN  
E-TEST (EPSİLOMETER TEST) İLE DOĞRULANMASI VE  
HASTANE KÖKENLİ ENFEKSİYON TANISI ALAN OLGULARDA  
RİSK FAKTÖRLERİNİN DEĞERLENDİRİLMESİ**

**Dr. MEHMET ÇELİK**

**TIPTA UZMANLIK TEZİ**

**DANIŞMAN**

**Doç.Dr. MAHMUT SÜNNETÇİOĞLU**

---

Bu çalışma Yüzüncü Yıl Üniversitesi Araştırma Fonu tarafından 93VF-219 numaralı proje olarak desteklenmiştir.

# İçindekiler

TEŞEKKÜR .....	5
KISALTMALAR .....	6
TABLolar DİZİNİ .....	7
ÖZET .....	8
SUMMARY .....	9
2. GENEL BİLGİLER .....	11
2.1. <i>Enterobacteriaceae</i> (Enterik Bakteriler Ailesi) .....	11
2.1.1. Sınıflandırma: .....	13
2.1.2. Mikrobiyolojik Özellikler .....	16
2.1.3. Biyokimyasal Özellikler .....	18
2.1.4. Antijenik Yapıları .....	19
2.1.5. Virulans ve Patojenite Özellikleri .....	20
2.1.6. <i>Enterobacteriaceae</i> Enfeksiyonları .....	22
2.2. Bakterilerde Genel Direnç Mekanizmaları .....	25
2.3. B-Laktam Antibiyotikler .....	26
2.3.1. Penisilinler .....	27
2.3.2. Sefalosporinler .....	29
2.3.3. Monobaktamlar .....	32
2.3.4. B-laktamaz inhibitörleri .....	33
2.3.5. Karbapenemler .....	34
2.4. Antibiyotiklere direnç mekanizmaları .....	40
2.4.1. İntrinsik direnç (doğal direnç) .....	41
2.4.2. Kazanılmış direnç .....	41
2.4.3. Çevre ve koşullara bağlı direnç .....	41
2.5. Genişlemiş Spektürlü Beta-Laktamazlar (GSBL) .....	41
2.5.1. Tarihçesi .....	41

2.5.2. B-Laktam Antibiyotiklere Direnç Mekanizmaları .....	42
2.5.3.B-laktamazların sınıflandırılması .....	45
2.5.4. Karbapenemlere Direnç Mekanizmaları.....	51
2.6.Karbapenemaz Üreten Enterik Bakterilerde Risk Faktörleri .....	68
4.BULGULAR-SONUÇLAR.....	71
5.TARTIŞMA.....	82
6.SONUÇ.....	88
7. KAYNAKLAR .....	90



## TEŞEKKÜR

Uzmanlık eğitimim boyunca bana maddi ve manevi yardımını esirgemeyen, konu seçiminden tez yazımı bitimine kadar her zaman yardımcı olan, güler yüzüyle zoru kolaylaştıran değerli hocam Doç. Dr. Mahmut SÜNNETÇİOĞLU'na ,

Bilgi ve tecrübesini aktarma hususunda cömert davranan, zor zamanımda desteğini esirgemeyen kıymetli Dr. Öğr. Üyesi Ali İrfan BARAN hocama,

Tezin mikrobiyolojik çalışma aşamasında maddi- manevi yardımlarını eksik etmeyen Tıbbi Mikrobiyoloji bölümünden değerli hocam Prof. Dr. Hüseyin GÜDÜCÜOĞLU'na ve Tıbbi Mikrobiyoloji departmanı çalışanlarına,

Tezin istatistiksel verilerinin yapılması aşamasında kıymetli vaktini harcayan Biyoistatistik Anabilim Dalından Prof. Dr. Sıddık KESKİN hocama,

Bu zor ve ciddi sabır gerektiren süreçte benden desteğini esirgemeyen, güler yüzü ile moral ve dualarıyla manevi güç veren, biricik hayat arkadaşım Gül ÇELİK'e,

Bu günlere gelmemde maddi ve manevi her türlü zorluğa göğüs gererek her sıkıntıyı gideren, dualarını eksik etmeyen biricik annem Zübeyde ÇELİK, değerli babacığım Ahmet ÇELİK ve kardeşim Musa ÇELİK'e,

Dostlukları ve kardeşlikleri ile huzur ortamı oluşturan yol arkadaşlarım, kliniğimizin değerli asistan doktorlarına başta Yusuf ARSLAN ve Deniz ULUTAŞ'a

Sonsuz saygı, sevgi ve hürmetlerimi sunarım.

## KISALTMALAR

<b>CLSI</b>	: Clinical and Laboratory Standards Institute
<b>ÇDST</b>	: Çift disk sinerji testleri
<b>DHP-1</b>	: Dehidropeptidaz-I
<b>ECA</b>	: Enterobacterial Common Antigen
<b>EDTA</b>	: Etilendiamin tetra asetik asit
<b>E-TEST</b>	: Epsilometer Test
<b>EUCAST</b>	: The European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing
<b>GES</b>	: Guiana extended-spectrum
<b>GSBL</b>	: Genişlemiş Spektrumlu Beta-Laktamaz
<b>IEF</b>	: Isoelectric Focusing
<b>KDE</b>	: Karbapenem Dirençli <i>Enterobacteriaceae</i>
<b>KPC</b>	: <i>Klebsiella Pneumoniae</i> Carbapenemase
<b>MALDI-TOF MS</b>	: Matriks ile desteklenmiş lazer desorpsiyon/ionizasyon uçuş zamanı kütle spektrometresi
<b>MBL</b>	: Metallo-B-Laktamaz
<b>MHT</b>	: Modifiye Hodge testi
<b>MİK</b>	: Minimum İnhibitör Konsantrasyon
<b>OMP</b>	: Outer Membran Protein
<b>PBP</b>	: Penicillin-binding protein

## TABLolar DİZİNİ

<b>Tablo 1</b>	<i>Enterobacteriaceae</i> Ailesinin Sınıflandırması .....	13
<b>Tablo 2</b>	<i>Enterobacteriaceae</i> ailesinde tıbbi önemi daha fazla olan cins ve türler.....	15
<b>Tablo 3</b>	<i>Enterobacteriaceae</i> 'ların Mac Conkey ve Koyun Kanlı Agarda Koloni Görünümler.....	17
<b>Tablo 4</b>	<i>E. coli</i> patojenik subtiplerinin patogenez mekanizması ve tipik klinik sendromları .....	23
<b>Tablo 5</b>	Çeşitli Enterik Bakteri Türlerinin Sıklıkla Oluşturduğu Enfeksiyonlar...25	
<b>Tablo 6</b>	Karbapenem grupları ve aktivite spektrumları .....	36
<b>Tablo 7</b>	$\beta$ -laktamaz grupları ve genel özellikleri.....	49
<b>Tablo 8</b>	Karbapenemazların Moleküler Ve Fonksiyonel Sınıflandırılması.....	53
<b>Tablo 9</b>	EUCAST 2018'e Göre <i>Enterobacteriaceae</i> İçin Güncel Karbapenem Duyarlılık Sınır Değerleri.....	62
<b>Tablo 10</b>	CLSI 2018'e Göre <i>Enterobacteriaceae</i> İçin Güncel Karbapenem Duyarlılık Sınır Değerleri.....	62
<b>Tablo 11</b>	Yaş-cinsiyet tablosu.....	71
<b>Tablo 12</b>	Klinik izolatların servis/polikliniklere göre dağılımı.....	73
<b>Tablo 13</b>	Kültürde üretilen karbapenemaz dirençli enterik bakterilerin dağılımı.....	74
<b>Tablo 14</b>	Kültürde üreme olan klinik materyal türü.....	75
<b>Tablo 15</b>	Antibiyoqram sonucuna göre direnç durumları.....	76
<b>Tablo 16:</b>	Hasta bazlı otomatize sistem ile E-test sonuç mukayesesi.....	77
<b>Tablo 17</b>	KDE ilişkili hastane kökenli enfeksiyon tanılı hastaların invaziv girişimler ile ilişkisi.....	78
<b>Tablo 18</b>	KDE ilişkili hastane kökenli enfeksiyon tanılı hastaların komorbid durumları.....	80
<b>Tablo 19</b>	KDE ilişkili hastane kökenli enfeksiyon tanılı hastaların antibiyotik kullanım durumu.....	81

## ÖZET

*Enterobacteriaceae; insanda enfeksiyon etkeni olarak sıklıkla izole edilen, çok sayıda bakteri cinsini ve türünü içeren bir ailedir. Antimikrobiyal direnç son yıllarda tüm dünyada hastanede yatan hastalarda anlamlı derecede artış göstermiştir. Karbapenemleri hidrolize eden  $\beta$ -laktamazlar (karbapenemazlar) en güçlü  $\beta$ -laktamazlardır. Çalışmamızda, karbapenemaz dirençli olarak sonuçlanan enterik bakterilerin E-test yöntemiyle doğrulanması ve hastane kökenli enfeksiyon tanısı alan olgularda risk faktörlerinin değerlendirilmesi amaçlanmıştır. Çalışmaya Van Yüzüncü Yıl Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı laboratuvarına Ağustos 2016-Ağustos 2017 tarihleri arasında çeşitli kliniklerden gönderilen otomatize sistemi sonucuna göre karbapenem dirençli Enterobacteriaceae ailesi üyesi olduğu saptanan 70 suş dahil edilmiştir. Bu suşlar E-test yöntemi ile MİK değerleri saptanarak EUCAST standartlarına göre duyarlı, orta derecede duyarlı ve dirençli olarak değerlendirildi. Hastane kökenli enfeksiyon tanısı alan hastaların risk faktörlerini değerlendirmek amacıyla daha önceden hazırlanmış olan standart forma demografik veriler kaydedildi. Çalışma sonucunda, 70 hastanın 50'inde (%71.4) izole edilen bakteri hastane kökenli enfeksiyon etkeni olarak kabul edilmiştir. Mikrobiyoloji laboratuvarına gönderilen izolatların kliniklere göre dağılımında, izolatların en sık Anestezi yoğun bakım ünitesinden (YBÜ) gönderildiği görülmüştür. Hem hastane kökenli enfeksiyon hem de kolonizasyon etkeni olarak en sık izole edilen bakteri K. Pneumoniae idi. Otomatize sistem sonucuna göre en yüksek direnç ertapenemde görülmüştür. İmipenem dirençli suşların %68'i, meropenem dirençli suşların %84.3'ü, ertapenem dirençli suşların %84.1'i, kolistin dirençli suşların %87.5'i E-test ile dirençli suşları saptama hususunda korelasyon göstermiştir. Hastane kökenli enfeksiyon tanısı alan hastaların komorbid durumlarının değerlendirilmesinde, en sık görülen komorbid faktör hipertansiyondur. Çalışmamızda enfeksiyon tanı-tedavi süresince gelişen enfeksiyöz nedenler veya altta yatan diğer tıbbi nedenlere bağlı mortalite %36 oranında izlenmiştir Karbapenemaz dirençli enterik bakterilerin neden olduğu enfeksiyonlar ülkemizde de son yıllarda belirgin bir artış göstermiştir. Bazı temel politikaları uygulayarak, karbapenem direncinin yayılmasının azaltılabileceği düşünüülerek hareket edilmelidir.*

**Anahtar kelimeler:** Karbapenemaz dirençli enterik bakteriler, E-test



## **SUMMARY**

*Enterobacteriaceae; a family of many bacterial genus and species which is frequently isolated as an effect of human infection. Antimicrobial resistance has increased significantly in recent years in hospital patients all over the world. B-lactamases that hydrolyze carbapenems (carbapenemases) are the strongest  $\beta$ -lactamases. In our study, it was aimed to confirmation of enteric bacteria resulting in carbapenemase resistance by E-test method and evaluate the risk factors in case of hospital acquired infection. The study included 70 strains were identified to be members of the carbapenem resistant Enterobacteriaceae family according to the automated system which were sent to Van Yüzüncü Yıl University Medical Faculty Hospital Medical Microbiology Department from various clinics between August 2016 and August 2017. These strains were evaluated as sensitive, moderately sensitive and resistant according to EUCAST standards by detecting MIC values by E-test method. In order to evaluate the risk factors of hospital-acquired infection, demographic data were recorded in the standard form previously prepared. As a result of study, isolated bacteria in 50 out of 70 patients (71.4%) were accepted hospital-acquired infections. Distribution of isolates sent to the microbiology laboratory according to clinics, isolates were most frequently delivered from the Anesthesia Intensive Care Unit (ICU). *K. pneumoniae* was the most frequently isolated bacterium as both hospital-acquired infection and colonization factor. According to automatical system result the highest resistance seen in ertapenem. 68% of imipenem resistant strains, 84.3% of meropenem resistant strains, 84.1% of ertapenem resistant strains and 87.5% of colistin resistant strains correlated with detection of resistant strains by E-test. Assessment of comorbid conditions of hospital-acquired infected patients, the most common comorbid factor was hypertension. In our study, mortality due to infectious causes or other underlying medical conditions during infectious diagnosis and treatment was 36%. Infections caused by carbapenemase-resistant enteric bacteria have shown a significant increase in recent years in our country too. By implementing some basic policies, it should be acted with the belief that the spread of carbapenem resistance can be reduced.*

**Key words:** Carbapenemase resistant enteric bacteria, E-test

## 1.GİRİŞ VE AMAÇ

*Enterobacteriaceae*; insanda enfeksiyon etkeni olarak sıklıkla izole edilen, çok sayıda bakteri cinsini ve türünü içeren bir ailedir. *Enterobacteriaceae* ailesi içerisinde tıbbi önemi olan birçok bakteri türü bulunmaktadır. Bu ailedeki bakterilerin birçoğu insan ve hayvanların bağırsak florasında, bitkilerde, suda ve toprakta yaygın olarak bulunmaktadırlar (1) *Enterobacteriaceae* ailesindeki bakteriler günümüzde enfeksiyon etkeni olarak izole edilen tüm mikroorganizmaların %50'sini, klinik olarak önemli Gram negatif çomakların %80'ini oluşturmaktadır. Üriner sistem enfeksiyonlarının %70'inden, septisemi olgularının %50'sinden ve bağırsak enfeksiyonlarının önemli bir kısmından sorumlu tutulmaktadır. Bu grupta yer alan başlıca patojenler; *Escherichia*, *Klebsiella*, *Citrobacter*, *Enterobacter*, *Proteus*, *Providencia*, *Serratia*, *Hafnia*, *Morganella*, *Edwardsiella*, *Yersinia*, *Shigella* ve *Salmonella*'dır (2).

Karbapenemler,  $\beta$ -laktamlar içerisinde Gram pozitif ve Gram negatif bakterilere en geniş spektrum ve etkinliğe sahip olan antibiyotik grubudur. Bu antibiyotik sınıfı, ağır enfeksiyonların ya da dirençli mikroorganizmaların neden olduğu klinik tabloların tedavisi için "son basamak antibiyotik" olarak bilinmektedir (3).

Antimikrobiyal direnç son yıllarda tüm dünyada hastanede yatan hastalarda anlamlı derecede artış göstermiştir. Direnç gelişiminin en önemli nedenlerinden birisi antibiyotiklerin aşırı ve uygunsuz kullanımudur (4). Karbapenemlere karşı gelişen direnç mekanizmaları;  $\beta$ -laktamaz üretimi, efluks (atım) pompaları, porin ve PBP'lerin (Penicillin-binding protein) ekspresyonlarını ve/veya fonksiyonlarını değiştiren mutasyonlar şeklinde özetlenebilir (3). Karbapenemleri hidrolize eden  $\beta$ -laktamazlar (karbapenemazlar), hemen hemen tüm  $\beta$ -laktamları hidrolize edebilen en güçlü  $\beta$ -laktamazlardır ve *Enterobacteriaceae* ailesi üyeleri arasında dünya çapındaki yayılımları endişe yaratmaktadır (5) .

Karbapenem dirençli *Enterobacteriaceae* (KDE)'nin sebep olduğu enfeksiyonlarda tedavi seçenekleri kısıtlı ve mortalite oranları yüksektir (6). Karbapenemaz dirençli *Enterobacteriaceae* ailesinde yer alan bakterilerin doğru ve hızlı tesbiti, uygun antibiyoterapinin seçilmesi enfeksiyon kontrol önlemleri açısından

fevkalade önemlidir (7). E-test yöntemi, ilk olarak 1988 tarihinde tanımlanmış antifungal ve antibakteriyel duyarlılık yöntemidir. E-test metodunun uygulanması disk diffüzyon metoduna benzerdir(8). Bu test, referans yöntemlere alternatif, pratik, diğer yöntemlere göre daha erken sonuç verebilen, kolay uygulanabilir bir yöntemdir (9). Sağlık ilişkili enfeksiyonlar ve dolayısıyla KDE gelişimine sebebiyet veren çevre ve konağa ait birçok risk faktörü mevcuttur. Hastaya uygulanan birçok girişimsel işlem KDE gelişimine yol açan risk faktörleri olarak değerlendirilmektedir (10). KDE üreten enterobakteriyel hastalıklar, hemen her organ veya sistemde enfeksiyonlara sebebiyet verebilmektedirler. Genellikle sistemik enfeksiyonlara yol açarlar. İdrar yolu enfeksiyonları sıklıkla görülmekte olan enfeksiyon türüdür. Bu enfeksiyonlar genel olarak üriner kateteri olmayan immünsüpresif hastalarda görülür. KDE olan bakterilerin kazanılmasında ön planda olan risk faktörleri olarak uzun süreli hastanede yatış, yoğun bakımda yatış, invaziv alet kullanımı (özellikle multiple sayıda invaziv alet kullanım durumu), immünosüpresif durum varlığı ve çok sayıda antibiyotik kullanım durumudur (karbapenemler, betalaktamlar ve florokinolonlar). KDE'ye bağlı gelişen enfeksiyonlarda mortalite de artmaktadır (11).

## 2. GENEL BİLGİLER

### 2.1. *Enterobacteriaceae* (Enterik Bakteriler Ailesi)

*Enterobacteriaceae* ailesi; tıbbi olarak önem taşıyan Gram negatif çomakların en büyük topluluğudur (12). *Enterobacteriaceae* sıklıkla bitkilerde, toprakta, suda ve insanlar da dahil birçok hayvan türünün doğal bağırsak florası içerisinde yer alan mikroorganizmalardır. Bu bakteri ailesinin üyeleri insanda oluşan bakteriyemik durumların %30-35'ine, üriner sistem enfeksiyonlarının %70'den fazlasına ve intestinal enfeksiyonlar gibi birçok hastalık tablosuna sebebiyet vermektedir. Bazı bakteriler (*Shigella* türleri, *Salmonella typhi*, *Yersinia pestis*) insanda hastalık yaparken bazıları ise (*K. Pneumoniae*, *E. coli*, *P. mirabilis*) flora bakterisi olarak oportunistik enfeksiyonlardan sorumludurlar. *Enterobacteriaceae* ailesi bakterilerinin neden olduğu enfeksiyonlar hayvan rezervuarlardan (*Yersinia*, *Salmonella*); insanlardan (*Shigella* türleri, *Salmonella* serotip *Typhi*) veya sensitif olan kişiden endojen olarak (*E. coli*) bulaşabilir ve genellikle

vücudun her bölgesinde (santral sinir sistemi, alt solunum yolu, kan, sindirim sistemi ve üriner sistem) enfeksiyonlara sebebiyet verebilirler (13).

*Enterobacteriaceae* ailesi bakterilerinden olan *E. coli*, 1884 yılında ilk olarak Teodor Esherich tarafından kolon florası üyesi olarak tanımlanmıştır. *Klebsiella* cinsi ise ismini, 19.yy'ın sonlarına doğru yaşayan Alman mikrobiyolog Edwin Klebs'den almıştır. İlerleyen dönemlerde araştırmacı Carl Friedlander, *K. pneumoniae*'nin sebebiyet verdiği mortal seyreden pnömoniye ayrıntılı olarak tanımlamış ve bu nedenle bu bakteri yıllar boyunca 'Friedlander basili' olarak isimlendirilmiştir (14).

*E.coli*, barsak florası içinde en yaygın bulunan, fakültatif anaerop özellikteki türdür. Diğer koliform bakterilerden farklı olarak tabiatta bulunmazlar. Bu nedenle, besin maddeleri ve su gibi çevreden alınan numunelerde *E.coli*'nin saptanması test edilen maddelerin dışkıyla kontaminasyonun işareti olarak değerlendirilmektedir. *E.coli* toplum kökenli enfeksiyonlar oluşturabildiği gibi hastane kökenli enfeksiyonlara da sebep olduğu bilinen oportunistik bir etkindir (15).

*Klebsiella* cinsi, *Citrobacter*, *Enterobacter* ve *Serratia* ile birlikte *Enterobacteriaceae* ailesinde *Klebsiella* kabilesinde yer alır. Tıbbi olarak en önemli olan tür ise *K.pneumoniae*'dir. Doğada bulunduğu gibi, insanda boğaz, deri ve barsakta kommensal olarak da bulunabilmektedir. Lober pnömoni, üriner sistem enfeksiyonları ve çeşitli nozokomiyal enfeksiyonlarda etken olarak görülmektedir (16).

*Enterobacter* türleri suda ve toprakta yaygın bir şekilde bulunan bakterilerdir. Bazı enterotoksijenik yapıdaki gruplar besin kaynaklı zehirlenme vakalarında önemli rol oynamaktadırlar. *Enterobacter* grubu bakterilerin yaygın görülmelerine sebep olarak özellikle böcek türlerinin büyük rol taşıdığı gösterilmiştir. Gıda maddelerinin elle işlenmesiyle birlikte elden izole edilme sıklığının %25 olduğu ama bu bakterilerin ellerde bulunmasının hijyen eksikliğinden ziyade bitkisel temastan kaynaklanabileceği düşünülmektedir (17).

*Proteus* cinsindeki bakteriler Gram negatif, pleomorfik, kapsülsüz, sporsuz ve hareketli yapıda bakterilerdir ve *Enterobacteriaceae* ailesi üyesi olan bakterilerin genel özelliklerini yansıtmaktadırlar. Genel olarak insan barsak florasında, lağım sularında, kirli sularda ve kokmuş organik maddelerde bulunurlar. Başta üriner sistem

enfeksiyonları olmak üzere çeşitli enfeksiyonlara ve yine idrar yollarında kronik enfeksiyonların oluşmasına, ayrıca tek başlarına veya başka bakterilerle birlikte hastane enfeksiyonlarına sebep olabildiğinden önemli patojenlerden biridir. Yara yeri enfeksiyonları, organ apseleri, pnömoni ve sepsisemide sıklıkla izole edilirler (18, 19).

### 2.1.1.Sınıflandırma:

Mikrobiyoloji alanında yapılan ilk sınıflandırmalar bakterilerin morfolojik ve biyokimyasal özellikleri göz önüne alınarak yapılmıştır. Fakat teknolojik yöntemlerin yaygınlaşmasıyla yeni tanımlama yöntemlerinin kullanıma girmesiyle birlikte bakterilerin tanımlanmasında yenilikler ve buna bağlı olarak da sınıflandırmada birtakım değişiklikler yapılmıştır. Bu moleküler tekniklerin gelişmesiyle beraber nükleik asit hibridizasyon, DNA sekans yöntemi gibi yeni tekniklerle aile içindeki bakterilerin evrimsel geçmişi ve diğer kökenlerle yakınlıklarını belirlemek mümkün olmuştur. Bu araştırmalarla birlikte birçok yeni tür tanımlanmış ve birçok bakterinin sınıflandırmadaki yeri değiştirilmiştir (2, 20). Bakteriolojinin diğer alanlarında olduğu gibi mikrobiyoloji alanındaki gelişmelerle beraber, özellikle moleküler mikrobiyolojik tekniklerin daha fazla kullanılmasıyla birlikte *Enterobacteriaceae* ailesinin üyelerinin sınıflandırılmasında da cins, tür, alt tür, biyogrup ve serotip düzeyinde değişiklikler olabilmektedir. Örneğin daha önce *Pasteurella pestis* ve *P. pseudotuberculosis* gibi *Pasteurellaceae* ailesinde bulunan türler *Yersinia* cinsine konup *Enterobacteriaceae* ailesine geçirilmiştir. Ailede bulunan diğer pek çok cins ve türlerin isimlendirilmesinde ya da sınıflandırılmasında değişiklikler olmuştur (2, 21). (Tablo1-2).

**Tablo 1:** *Enterobacteriaceae* Ailesinin Sınıflandırması

Familiya	Cins	Tür
<i>Escherichieae</i>	<i>Escherichia</i>	<i>E. coli</i> , <i>E. blatae</i> , <i>E. vulneris</i> , <i>E. fergusonii</i> , <i>E. hermannii</i>
	<i>Shigella</i>	<i>S. dysenteriae</i> , <i>S. flexneri</i> , <i>S. boydii</i> , <i>S. sonnei</i>
<i>Edwardsiellae</i>	<i>Edwardsiella</i>	<i>E. tarda</i> , <i>E. hoshina</i> , <i>E. İctaluri</i>

<b><i>Salmonelleae</i></b>	<i>Salmonella</i>	<i>S. typhi</i> , <i>S. choleraesuis</i> , <i>S. paratyphi A, B, C</i> , <i>S. enteridis</i> , <i>S. gallinarum</i> , <i>S. pullorum</i>
<b><i>Citrobacteriaceae</i></b>	<i>Citrobacter</i>	<i>C. freundii</i> , <i>C. diversus</i> , <i>C. amalonaticus</i>
<b><i>Klebsielleae</i></b>	<i>Klebsiella</i>	<i>K. pneumoniae</i> , <i>K. ozanae</i> , <i>K. oxytoca</i> , <i>K. rhinoscleromatis</i> , <i>K. planticola</i> , <i>K. terrigena</i> , <i>K. omithinolytica</i>
	<i>Enterobacter</i>	<i>E. aerogenes</i> , <i>E. cloacae</i> , <i>E. agglomerans</i> , <i>E. amnigenus</i> , <i>E. sakazakii</i> , <i>E. gergoviae</i> , <i>E. dissolvens</i> , <i>E. taylorae</i> , <i>E. nimipressuvali</i> , <i>E. nimipressuvalis</i> , <i>E. asburiae</i> , <i>E. hormaechei</i>
	<i>Hafnia</i>	<i>H. alvei</i>
	<i>Serratia</i>	<i>S. marcescens</i> , <i>S. lique</i> , <i>S. liquefaciens</i> , <i>S. rubidaea</i> , <i>S. fonticola</i> , <i>S. odorifera</i> , <i>S. plymuthica</i> , <i>S. ficaria</i>
<b><i>Proteeae</i></b>	<i>Proteus</i>	<i>P. mirabilis</i> , <i>P. vulgaris</i> , <i>P. pennei</i> , <i>P. myxofaciens</i>
	<i>Morganella</i>	<i>M. morganii</i>
	<i>Providencia</i>	<i>P. alcalifaciens</i> , <i>P. stuartii</i> , <i>P. rettgeri</i> , <i>P. rustigianii</i>
<b><i>Yersinieae</i></b>	<i>Yersinia</i>	<i>Y. pseudotuberculosis</i> , <i>Y. pestis</i> , <i>Y. enterocolitica</i> , <i>Y. frederiksenii</i> , <i>Y.</i>

		<i>kristensenii</i> , <i>Y. intermedia</i> , <i>Y. ruckeri</i> , <i>Y. aldovae</i>
<b><i>Erwinieae</i></b>	<i>Erwinia</i>	<i>E. amylovora</i> , <i>E. carotovora</i>
<b><i>Herhangi bir aile içinde yer almayan cinsler</i></b>	<i>Arsenophonus</i> <i>Buttiauxella</i> <i>Budvicia</i> <i>Cedecea</i> <i>Kluyvera</i> <i>Leclercia</i> <i>Leminorella</i> <i>Moellerella</i> <i>Obesumbacterium</i> <i>Pantoea</i> <i>Pragia</i> <i>Rahnella</i> <i>Tatumella</i> <i>Xenorhabdus</i> <i>Yokonella</i>	

**Tablo 2 :** *Enterobacteriaceae* ailesinde tıbbi önemi daha fazla olan cins ve türler

Cins	Tür
<b><i>Citrobacter</i></b>	<i>freundii</i>
<b><i>Enterobacter</i></b>	<i>cloacae</i>
	<i>aerogenes</i>
	<i>sakazakii</i>
<b><i>Escherichia</i></b>	<i>coli</i>
<b><i>Klebsiella</i></b>	<i>pneumoniae</i>
	<i>oxytoca</i>
	<i>granulomatis</i>
<b><i>Morganella</i></b>	<i>morganii</i>

<b><i>Proteus</i></b>	<i>mirabilis</i>
	<i>vulgaris</i>
<b><i>Providencia</i></b>	<i>rettgeri</i>
	<i>stuartii</i>
<b><i>Salmonella</i></b>	<i>enterica</i>
<b><i>Serratia</i></b>	<i>marcescens</i>
<b><i>Shigella</i></b>	<i>boydii</i>
	<i>dysenteriae</i>
	<i>flexneri</i>
	<i>sonnei</i>
<b><i>Yersinia</i></b>	<i>enterocolitica</i>
	<i>pestis</i>
	<i>pseudotuberculosis</i>

### 2.1.2. Mikrobiyolojik Özellikler

*Enterobacteriaceae* ailesindeki bakteriler Gram negatif, genellikle homojen boyanan, 2-3 µm boyutlarında 0.3-1.0 µm eninde, uçları yuvarlak görümlü bakterilerdir, spor oluşturmazlar. *E.coli* cinsinde bazı kökenler ve *Klebsiella* cinsinde çoğu köken belirgin bir şekilde kapsül oluşturur. *Klebsiella* cinsi hareketsiz iken *E. coli* cinsi ise hareketlidir. *Enterobacteriaceae* ailesindeki bakterilerin tümü fakültatif anaerob özelliktedir. Bu bakterilerin çoğunun optimum üreme sıcaklığı 35-37 °C olmasına karşın, özellikle tabiatta bulunan türler daha düşük sıcaklıkta üremektedirler. Genel olarak üremenin olduğu sıcaklık aralığı 15- 45 °C' dir. *Enterobacteriaceae* ailesi bakterileri zenginleştirici, katkısız birçok besiyerinde rahatlıkla üreyebilmektedir. Buyyon besiyerinde 8- 12 saatte bulanıklık oluştururlar (22).

Enterik patojenlerin olası identifikasyonu için MacConkey agar gibi selektif ve Hektoen enterik agar ve ksiloz-lizin deoksikolat agar gibi yüksek ölçüde selektif olan farklı besiyerleri bulunmaktadır. Bu besiyerleri laktoz ve sükröz gibi bir veya daha fazla karbonhidrat içerir. Fermentasyon varlığında pH azalmasına bağlı olarak besiyerinde renk değişikliği görülür, non-fermentatif türlerde ise koloniler besiyerinin orijinal renginde



kalmaya devam ederler. Ayrıca Hektoen enterik agar ve ksiloz-lizin deoksikolat agarlarda H2S oluşturan kolonilerde siyahlaşma görülür (23).

Çoğu *Enterobacteriaceae* türü jeloz besiyerinde 18-24 saatte 2-3 mm çapında, düzgün kenarlı, ortası kabarık “S” tipi koloniler oluşturur. Bazı türler birkaç pasajdan sonra kenarları ve yüzeyi düzensiz şekillerde olan “R” tipi koloniler oluşturabilirler. *Klebsiella* cinsinde yer alan bakteriler ve diğer belirgin bir kapsül oluşturan türler ise “M” tipi koloni oluşturur. *Proteus* türleri çok hareketli bir yapıya sahip oldukları için besiyeri yüzeyinde yayılarak ürerler ve koloni oluşumu bu türlerde gözlenmez. Bu bakterilerin kolonilerinin gözlemlenebilmesi ve karışık ortamlardan saf kültürlerinin elde edilebilmesi için hareketlerinin engellenmesini sağlayan özel yöntemler kullanılmalıdır. *Serratia marcescens* ve *Serratia rubidaea* suşları oda sıcaklığında prodigiosin pigmenti sayesinde kırmızı renkli koloniler oluşturabilirler. *Escherichia hermanni*, *Escherichia vulneris*, *Enterobacter sakazakii* ve *Pantoea agglomerans* kökenleri ile *Leclercia* cinsine ait bakteriler ise sarı renkli koloniler oluştururlar. Ailedeki diğer bakterilerin kolonileri renksizdir. Türlerin çoğu eritrositleri parçalayan hemolizin salgılar (2, 20). (Tablo 3).

**Tablo 3:** *Enterobacteriaceae*’ların Mac Conkey ve Koyun Kanlı Agarda Koloni Görünümleri

Tipik Görünümü ve Büyüklüğü		
Cins/ tür	Mac Conkey agar	Koyun kanlı agar
<i>Shigella ve Salmonella</i>	Renksiz, düzgün, 2-3 mm	Düzgün, 2-3 mm
<i>Y. enterocolitica</i>	Renksiz, < 1 mm	Düzgün, < 1 mm
<i>E. coli</i>	Pembe, kırmızı, 2-3 mm	Düzgün 2-3 mm
<i>K. pneumoniae</i>	Mukoid, pembe 3-4 mm	Mukoid, 3-4 mm
<i>Enterobacter</i>	Pembe, <i>Klebsiella</i> kolonileri kadar mukoid değil	Düzgün, 3-4 mm

<i>Proteus vulgaris</i> ve <i>Proteus mirabilis</i>	Renksiz, yassı, hafifçe yayılabilen, 2-3 mm	Dalga dalga yayılarak petriyi kaplayabilen
<i>Providencia, Morganella</i>	Renksiz, yassı, 2-3 mm	Yassı, 2-3 mm

### 2.1.3. Biyokimyasal Özellikler

*Enterobacteriaceae* ailesindeki bakteriler metabolik olarak çok aktiftir. Grubun tümü glikozu fermente eder, bazıları gaz oluşturur. Glikoz dışındaki birçok karbonhidratı da asit veya gaz oluşturarak fermente edebilirler. Aminoasitleri dekarboksilasyon yoluyla parçalarlar. Katalaz pozitif, sitokrom oksidaz testi negatiftirler. *Pantoea agglomerans* dışındaki kökenler nitratları nitritlere indirgemektedir (22).

*Enterobacteriaceae* ailesi üyelerinin identifikasyonunda çok eski yıllardan beri kullanılan İMVIC yöntemi; indol (I), metil kırmızısı (M), voges-proskauer (V) ve sitrat (C) reaksiyonlarını içeren 4 kısımdan oluşmaktadır (1). Biyokimyasal tanımlama testleri  $36 \pm 1$  °C ' de inkübe edilerek yapılır. Test sonuçları büyük çoğunluğunda 24 saatte pozitifleşir, bazı testler 48 saat sonunda tekrar değerlendirilir (22). Örnek olarak *Klebsiella* IMVIC testi (- - + +), *E. coli* IMVIC test sonucu (+ + - -) dir (1).

*E. coli* türlerinin fenilalanin deaminaz, jelatin hidroliz testi ve üreaz testleri negatiftir. Triptofan aminoasitinden indol oluşturmaktadırlar. *Escherichia* cinsleri arasında *Escherichia coli*, *E. Vulneris*, *E. hermannii*, *E. Fergusonii* ve insanda enfeksiyon yapmayan *E. blattae* yer almaktadır.

*Klebsiella* cinsi bakteriler fermentasyon özelliğine sahiptirler. Birçok şeker fermentasyonu yapmalarıyla birlikte bazı kökenleri arasında farklılıklar bulunmaktadır. Sükroz, D-glukoz ve laktoz fermentasyonu yapmaları yanısıra mannitol, trehalozu, adonitolu de fermente edebilirler. Sitrat ve malonat karbon kaynağı olarak kullanılmaktadır. *Enterobacteriaceae* ailesinin diğer üyelerinin tamamında görülen oksidaz aktiviteleri *Klebsiella* 'da yoktur. *Klebsiella* cinsi bakterilerinde DNAaz aktivitesi yoktur. *K. ornithinolytica*, *K. oxytoca* ve *K. planticola* triptofan metabolizması sonucu indol, piruvik asit ve amonyak oluştururlar. Karbonhidratı metabolize ederek ara ürün

olarak asetoin oluşturmaktadırlar. *Klebsiella terrigena* ve *K. rhinoscleromatis* haricinde üreyi yavaş hidrolize ederler. *Klebsiella* türleri, fenilalanini deamine etmezler, H<sub>2</sub>S üretmezler. *K. ozaenae*, *K. pneumoniae* ve *K. rhinoscleromatis* laktozdan gaz oluşturabilirler. Bu bakteri türlerinin, *Hafnia*, *Enterobacter* ve *Serratia* cinsinde yer alan bakterilerden ayırımında DNAaz enzim aktiviteleri ve hareket yetenekleri araştırılarak ayırım yapılmaktadır(22).

#### 2.1.4. Antijenik Yapıları

Tüm *Enterobacteriaceae* türlerinde ortak olarak "Enterobacterial Common Antigen" (ECA) adlı antijen bulunur. ECA; hücre duvarında yer alan lipopolisakkarid tabakanın derin kısımlarında bulunmaktadır. *Enterobacteriaceae* ailesindeki bakterilerin tümü, ECA dışında güçlü ve karmaşık bir antijenik yapıya sahiptir.

Bakterilerin temel antijenik yapılarına baktığımızda;

- ✓ Hücrenin dış duvar yapısında bulunan somatik antijen (O antijeni),
- ✓ Kirpik antijeni (H antijeni),
- ✓ Kapsül antijeni (K antijeni) olmak üzere 3 temel antijen karşımıza çıkmaktadır (2, 20, 24).

H antijeni, kirpikleri (flagella) olan bakterilerde organelle bağlı olarak bulunur. H antijenleri, birbirinden ayrı yapı ve özellikte değişik komponentlerden oluşmuştur. Bunların bir kısmı aynı türden bir grup bakteride ortak bulunan, bir kısmı ise daha özgül olup serovarları tanımlayıcı niteliktedir. H antijeni, protein yapısındadır. Fimbria antijeni, *Enterobacteriaceae* ailesine ait bakterilerde hareketli ve hareketsiz şekillerde bulunan önemli bir yüzey antijenidir. Hemagglütinasyon oluşturma özelliğine, bu agglütinasyonun mannoz ile inhibe olup olmamasına, eritrosit dışındaki farklı hücrelere yapışabilme özelliklerine göre beş ayrı tip fimbria tanımlanmıştır. K antijeni bakteri duvarını çevreleyen kapsül katmanında, belirgin bir kapsül yapısı göstermeyen kökenlerde ise O antijeninin yüzeyini örten kapsül maddesinde bulunur. Polisakkarid yapısındadır. Yüzey antijenlerini içeren maddenin fagositozu, O anti serumunun etkisini ve komplemanın bakterisidal etkisini önleyici etkisi virülansta önemlidir (2, 25).

### **2.1.5. Virulans ve Patojenite Özellikleri**

Mikroorganizmanın hastalık oluşturabilme yeteneğine virulans denmektedir. Mikroorganizmanın patojenite kapasitesini göstermektedir. Mikroorganizmanın konağa girişi, konağa ait defans sisteminden kaçışı, konağa tutunması, konakta yayılması ve çoğalması, konağa toksinlerle ya da enflamatuvar cevaplarla zarar vermesi bakterinin sebep olduğu patogenezin temel basamaklarıdır (13, 20, 21).

#### **2.1.5.1.Adezinler**

Çoğu Gram negatif bakteri yapısında fimbria denilen yüzeysel organeller bulunmaktadır. Bu yapılar bakterinin yüzeyinden bütün yönlerde radial uzanım gösteren yapılardır. Helikal şeklindeki protein parçacıklarından oluşmaktadırlar. Bu organeller bakterinin mukozaya tutunmasını sağlamaktadırlar. Bu görev mikroorganizmanın konak dokuya yerleşmesindeki temel basamaktır (26).

#### **2.1.5.2.Endotoksin**

Gram negatif bakterilerin ortak özelliği, hücre duvarındaki lipopolisakkarid tabakanın endotoksin aktivitesi göstermesidir. *Enterobacteriaceae* ailesindeki bakterilerde de benzer bir şekilde O antijenini oluşturan lipopolisakkarid tabakanın lipid A kısmı endotoksin özelliğine sahiptir. Endotoksinler bakteri hücresinden dışarı salınmayan, bakterinin ölümü ve hücre duvarının yıkımı ile açığa çıkan ürünlerdir. Endotoksinler ısıya, proteolitik bazı enzimlere dayanıklı, asit hidrolizine duyarlı, pirojenik etkisi çok güçlü özelliğe sahiptirler. Makrofajlar tarafından tümör nekrozis faktör alfa (TNF-a) yapımını ve çeşitli sitokinlerin salınımını arttıırırlar (13, 20, 21).

#### **2.1.5.3.Ekzotoksin**

Ekzotoksinler, hücre dışına salınan, özgül fizyolojik etkilere sahip, oldukça toksikojenik olan protein yapısındaki moleküllerdir. *Enterotoksijenik E.Coli*'nin (*ETEC*) ısıya duyarlı toksini (LT) ve ısıya dayanıklı toksini (ST), *Enterohemorajik E.Coli*'nin (*EHEC*) salgıladığı verotoksin 1 ve verotoksin 2, *S. Dysenteria*'nin salgıladığı shiga toksin adı verilen ekzotoksinler; *Enterobacteriaceae* ailesindeki en önemli ekzotoksinlere örnektir (21).

#### **2.1.5.4. Fimbria**

Fimbria protein alt ünitelerinden oluşan ince saç benzeri yüzey tutunma organelleridir. Büyüklüklerine ve konak hedef moleküllerine göre değişiklik gösterebilen birçok fimbria tipi bulunmaktadır. Bunlar 1960'lı yıllarda J.P. Duguid tarafından bildirilmiştir. Genellikle *Salmonella spp.* ve *E. coli* gibi Gram negatif bakterilerde bulunmaktadır. Fimbria sitoplazmadan köken alarak hücre membranı ve hücre duvarından uzanım gösterir. Üroepitel hücrelerin glikoprotein veya glikolipitlerine bağlanarak bakterilerin epitele tutunmasını ve üriner sistemde persistan olarak kalmasına yol açmaktadır (27).

#### **2.1.5.5. Hemolizinerler**

Çeşitli enterik bakteri suşlarından hücre dışına sekrete edilen ürünlerdir. Hemolizinerlerin *E. coli*'ye bağlı gelişen bazı hastalık durumlarında önemi gösterilmiştir. Ekstraintestinal enfeksiyon klinik tabloları oluşturan *E. coli* suşlarının yarısından fazlası hemolizin salgılamaktadır; ama gastrointestinal sistem enfeksiyonu yapan *E. coli* suşlarının sadece %10'u hemolizin yapmaktadır. Hemolizinerler sitotoksik etkilerini yalnızca alyuvarlar üzerinde göstermezler. Alfa hemolizin, lenfositlere daha fazla etkinlik gösteren sitoksinlerdir. B-toksinler, nötrofil kemotaksisi ve fagositozunu önler.

#### **2.1.5.6. Siderofor Aracılı Demir Alımı**

Demir, esansiyel yapıda gelişim faktörlerinden biridir. Doku, mukozal yapılarda serbest halde bulunan demirin düşük yoğunluk ve miktarda bulunması, enterik bakterilerin neden olduğu ekstraintestinal enfeksiyonlarda konak savunma faktörlerindedir ve bakterinin üremesini önleyici özelliktedir. Enterik bakteriler konakta canlı kalabilme ve ekstraintestinal dokulara yayılmak açısından demir sağlamak amacıyla bazı mekanizmalar geliştirmişlerdir. Bu mekanizmalardan bir tanesi, siderofor denen demir bağlamaya meyilli olan yapılardır. Mikroorganizmalar konak demirini, laktoferrin ve transferrin gibi demir bağlayıcı yapılardan, sideroforlar aracılığıyla kazanmaktadırlar (26).

#### **2.1.5.7. Kapsül**

Kapsül bulduran *Enterobacteriaceae* ailesi bakterileri, fagositozdan hidrofilik yapıdaki kapsül antijenleri sayesinde korunmaktadırlar. Bu antijenik yapılar antikorların

bakteriye yapışmasını engellerler ve zayıf immünojenik yapıya sahiptirler. Ayrıca kompleman aktivasyonuna neden olmazlar; ancak kişide kapsüle karşı spesifik antikorlar gelişmesi halinde kapsülün koruyucu rolü zayıflar (13). Kapsül birçok *Enterobacteriaceae* üyesinde bulunur. *K. pneumonia*'nin üriner sistem epiteline kolonizasyonunu sağlar. Yenidoğan sepsis ve menenjitine sebep olan *E. coli K1* serotipinin kapsülü; bakterinin kan-beyin bariyerini geçmesi de yardımcı bir faktördür (2, 21).

### 2.1.6. *Enterobacteriaceae* Enfeksiyonları

*Enterobacteriaceae*'lar gastrointestinal sistem haricinde genellikle bulunmazlar. Gastrointestinal sistem haricinde yerleştiği üriner sistem gibi lokalizasyonlarda önemli enfeksiyonlara neden olabilirler. *Shigella* türleri gastrointestinal sistem haricinde, nadiren enfeksiyona neden olmaktadır. *Shigella* türleri dışında kalan enterik bakterilerden çoğu, sıklıkla ekstraintestinal sistem enfeksiyonlarına yol açmaktadırlar. Bu enfeksiyonlar arasından üriner sistem enfeksiyonları en sık görülen enfeksiyon türüdür. Bunun dışında septisemi, pnömoni, abse, menenjit gibi dolaşım, solunum ve santral sinir sistemi enfeksiyonlarına neden olabilmektedirler (28). Günümüzde; *Enterobacteriaceae* ailesi klinik mikrobiyoloji laboratuvarında enfeksiyon etkeni olarak izole edilen tüm mikroorganizmaların %50'sini, klinik olarak önemli Gram negatif çomakların %80'ini oluşturmaktadır. Üriner sistem enfeksiyonlarının %70'inden, septisemi olgularının %50'sinden ve barsak enfeksiyonlarının önemli bir kısmından sorumludur (2).

*E. coli*'ler patofizyolojiye ve neden oldukları klinik tablolara göre sınıflandırılmaktadırlar. Biyolojik açıdan önemli *E. coli*'ler 3 grupta sınıflandırılmaktadır:

- 1) Kommensalizm gösterenler
- 2) Bağırsak patojenleri (ishal etkenleri)
- 3) Bağırsak dışı patojenler (*Extra-intestinal pathogenic Escherichia coli (ExPEC)*)
  - a. Üriner sistemde enfeksiyon yapanlar (*Uropathogenic E. coli (UPEC)*)
  - b. Yenidoğan menenjiti ve diğer sık görülen enfeksiyonlara neden olanlar (*Extra-intestinal pathogenic Escherichia coli (ExPEC)*)

Bağırsak patojeni suşlar nadiren normal flora elemanı olarak bulunmaktadır. Oral alındıkları takdirde gastroenterit ve kolit tablosuna yol açarlar. Bu enterik patojenler genel olarak intestinal sistem haricinde hastalığa neden olmazlar. Bu enterik patojenler 6 patojenik sınıfa ayrılmaktadır;

- 1- *ETEC (Enterotoksijenik E. coli)*
- 2- *EIEC (Enteroinvaziv E. coli)*
- 3- *EPEC (Enteropatojenik E. coli)*
- 4- *EAEC (Enteroaggregativ E. coli)*
- 5- *EHEC (Enterohemorajik E. coli)*
- 6- *DAEC (Difuz Aderan E. coli)*

**Tablo 4:** *E. coli* patojenik subtiplerinin patogenez mekanizması ve tipik klinik sendromları

Patotip	Etki bölgesi	Patogenez mekan.	Yaptığı klinik
<i>ETEC</i>	İnce bağırsak	Isıya dayanıklı/dayanıklısız enterotoksin üretimi	Turist diyaresi ve infant diyaresi
<i>EPEC</i>	İnce bağırsak	İnce bağırsağa tutunma ve intimin aracılığı ile epitel hücrelerin yok edilmesi	Akut sulu diyare, ateşsiz, bazen ağrılı
<i>EAEC</i>	İnce bağırsak	İnce bağırsa tutunma, enterotoksin ve sitotoksin üretimi	Sulu diyare, kanlı diyare, çocuklarda uzun süreli ya da kalıcı diyare
<i>EHEC (STEC, VTEC)</i>	Kalın bağırsak	Kalın bağırsağa tutunma (çoğunlukla intimin aracılığıyla), Shiga toksin 1 ve 2 üretimi	1-3 gün içinde kanlı diyareye sebep olabilen sulu diyare, ağrılı dışkılama, abdominal hassaslık, ateşsiz olabilmekle birlikte ateş görülmekte
<i>DAEC</i>	İnce bağırsak	Epitel hücrelerine yaygın tutunma	Patojenitesi kesin olarak gösterilememiş olmakla

			birlikte sulu diyare ile ilişkili olduğu düşünülmektedir
<b>EIEC</b>	Kalın bağırsak	Mukozal invazyon ve kalın bağırsakta inflamasyon	Ateş, sulu diyare, dizanterik diyare, ateş

Bağırsak dışı enfeksiyonlar, neredeyse her yaş grubunda ve farklı birçok organda sıklıkla görülmektedir. Oluşturdukları enfeksiyonlar sıklıkla üriner sistemde, safra kesesi/safra yollarında, akciğerler ve peritonda, meninkslerde, prostatta, kemik yapılarında, yumuşak dokularda, kan dolaşımı gibi birçok dokuda ve organlarda görülmektedir. Kommensal olanlar fakültatif anaerobik intestinal floranın çoğunluğunu oluşturur ve genel olarak hastalığa neden olmazlar. Ancak yabancı cisim varlığında (üriner kateter), üriner veya safra yolu obstrüksiyonu gibi lokal anatomik veya fonksiyonel anormalliklerde konak savunmasının bozulması sonucunda veya normalde steril olan bölgelerin feçes veya yüksek konsantrasyonda mikst bakteri ile kontaminasyonu ile hastalığa yol açabilirler (29).

Sağlıklı kişilerin solunum yolu ve dışkılarında % 5-10 düzeyinde *K. pneumoniae* bulunabilmektedir. Nadiren sağlıklı kişilerin orofarinksinde %1-6 oranında taşıyıcı olarak bulunmaktadır. Ayrıca tabiatda da sıklıkla bulunmaktadır. *K. pneumoniae*'nin yapmış olduğu klinik tablo tipik lobar pnömonidir. Opurtunistik enfeksiyon ajanı olarak da ifade edilebilir. Çünkü *K. pneumoniae*, solunum yolu defans mekanizmalarında bozukluk olan diabetes mellitus (DM), alkolizm, kronik obstrüktif akciğer hastalığı (KOAH) gibi komorbid durumları olan kişilerde sıklıkla bulunmaktadır. Bazılarında bronşit ya da bronkopnömoni gibi klinik tablolar gelişmektedir.

Bu bakterinin etken olarak görüldüğü enfeksiyonlarda plörezi, abse, ampiyem yüksek ihtimalle gelişebilmekte ve mortalite yüksek oranda görülmektedir. Pnömoni gelişen olgularda K1, K3, K4 ve K5 antijenleri sıkça izole edilmektedirler. *K. pneumoniae* suşları üriner sistem enfeksiyonlarına, yara yeri enfeksiyonlarına ve bakteriyemi tablosuna yol açarlar (22, 26) (**Tablo 5**).



**Tablo 5:** Çeşitli Enterik Bakteri Türlerinin Sıklıkla Oluşturduğu Enfeksiyonlar

<i>Escherichia coli</i>	Üriner sistem enfeksiyonu, sepsis, menenjit, ishal
<i>Shigella</i>	Dizanteri, ishal
<i>Edwardsiella</i>	İshal, yara yeri enfeksiyonu, septisemi, tifo benzeri tablo, , menenjit
<i>Salmonella</i>	Tifo, septisemi, ishal
<i>Citrobacter</i>	Yara ve üriner sistem (fırsatçı/ hastane kökenli enfeksiyonlar )
<i>Klebsiella</i>	Üriner sistem enfeksiyonu, septisemi, pnömoni
<i>Enterobacter</i>	Yara yeri enfeksiyonu, septisemi, üriner sistem enfeksiyonu (fırsatçı/ hastane kökenli enfeksiyonlar )
<i>Serratia</i>	Yara yeri enfeksiyonu, septisemi, üriner sistem enfeksiyonu (fırsatçı/ hastane kökenli enfeksiyonlar)
<i>Proteus</i>	Yara yeri enfeksiyonu, septisemi, üriner sistem enfeksiyonu
<i>Providencia</i>	Yara yeri enfeksiyonu, septisemi, üriner sistem enfeksiyonu (fırsatçı/ hastane kökenli enfeksiyonlar)
<i>Morganella</i>	Fırsatçı/ hastane kökenli enfeksiyonlar
<i>Yersinia pestis</i>	Veba
<i>Y.pseudotuberculosis</i>	Mezenterik lenfadenit, ishal
<i>Y. enterocolitica</i>	Mezenterik lenfadenit, ishal
<i>Erwinia</i>	Yara yeri enfeksiyonu
<i>Pectobacterium</i>	Yara yeri enfeksiyonu

## 2.2. Bakterilerde Genel Direnç Mekanizmaları

Bakterilerde birçok farklı mekanizma ile direnç oluşabilmektedir. Bunların başlıcaları şöyledir:

**-Mikroorganizmanın aktif ilacı etkisiz hale getiren enzim üretmesi:**  
*Stafilokoklarda* penisilini parçalayan  $\beta$ --laktamaz üretimi, vb.

**-Mikroorganizmanın ilaca olan geçirgenliğini değiştirmesi:**  
Mikroorganizmanın yüzeyinde var olan elektriksel yükü veya porinlerdeki geçirgenliği değiştirerek direnç kazanması veya ilacı aktif pompa ile dışarı atması, *Stafilokoklarda*

doğal aminoglikozid direnci ve bazı Gram negatif bakterilerde tetrasiklin ve polimiksin direnci bu direnç mekanizmasına örnektir.

**-Mikroorganizmanın ilacı hedef alan molekülün yapısını değiştirmesi:** *Enterokoklar* ve *Streptokoklarda* penisilin bağlayıcı proteinin yapısal değişiklikleri, vb.

**-Mikroorganizmanın ilacı hedef aldığı metabolik yolakda değişiklik yapması:** Folik asit ve Paraaminobutirik asit kullanarak sulfonamid direncinin oluşması, vb.

**-Mikroorganizmanın hedef enzimin yapısında değişiklik yaparak ilaca daha az duyarlı hale gelmesi:** Trimetoprim direnci vb. Bunun dışında yavaş üreyen bakterilerde genetik olmayan ilaç direnci (*Mycobacterium* türleri), antibakteriyel ajanların kullanılması ile birlikte spontan oluşan dirençli suşların seçilmesi (rifampisin), plazmidler vasıtasıyla dirençli genlerin aktarılması ve antibakteriyel ilaçlar arasındaki çapraz reaksiyonlar (aminoglikozidler) diğer bilinen direnç mekanizmalarıdır.

Bakterilerin replikasyonu sırasında oluşan kromozomal genlerde mutasyon oluşması, direnç genlerinin plazmidler aracılığı ile diğer bakterilere geçmesi, dışardan alınan genlerde mutasyonlar oluşması tüm bu direnç mekanizmalarında görülen genetik değişikliklerdir. B-laktamazlar alfa sarmalı ve beta tabakasından oluşan globuler proteinlerdir. B-laktamazları kodlayan genler bakteri kromozomu üzerinde veya plazmid ve transpozon yapılarında olabilirler (30, 31, 32).

### **2.3. B-Laktam Antibiyotikler**

Beta ( $\beta$ ) -laktam grubu antibiyotikler, kimyasal yapılarında ortak olarak bulunan  $\beta$ -laktam halkası bulunduran ve hücre duvar sentez inhibisyonu yaparak antibakteriyel etkide bulunan geniş bir antibiyotik grubudur (33). Bakterilerin hücre duvarı yapısında bulunan peptidoglikan tabaka sayesinde bakterinin yapısı ve bütünlüğü sağlanmaktadır. Peptidoglikan yapının sağamlılığını çapraz bağlanmış olan kısa olan peptid yapıdaki zincirler sağlar. Çapraz bağlantılar D-alanin D-alanin molekül yapılarının transpeptidasyon işlemi sonucu birleşmeleriyle oluşmakta. Transpeptidaz işlemini katalize eden enzimlere penisilin bağlayan proteinler (PBP) denmektedir (34). B-laktam antibiyotiklerin asıl hedefi PBP'dir. B-laktam antibiyotiklerin bu enzimlere

bağlanmasıyla enzimin kendi substratına bağlanması engellenir, duvar sentez işlemi inhibe olur ve bakteri yıkıma uğrar (35).

B-laktam antibiyotikler yapılarında üç karbon bir azot içeren 4 üyeli  $\beta$ -laktam halka yapısı içermektedir. B-laktamlar 4 major gruba ayrılırlar. Gruplar birbirinden almış oldukları ek halka yapılarıyla birbirinden ayrılır (36).

B-laktam antibiyotikler; hem hastane içinde, hem de hastane dışında en fazla kullanılan antibiyotiklerin başındadır. Bu antibiyotikler temel olarak beş grupta yer alırlar:

- 1) Penisilinler,
- 2) Sefalosporinler,
- 3) Monobaktamlar
- 4) Karbapenemler
- 5) B-laktamaz inhibitörleri (37).

### **2.3.1. Penisilinler**

İlk olarak 1928 yılında Fleming, *Penicillium Notatum* isimli bir mantarın *Stafilokok* yıkımına yol açan antibakteriyel yapıda bir madde salgıladığını fark etmiş ve bunu penisilin olarak adlandırmıştır. Ardından 1940'lı yıllarda bu madde saflaştırılmış ve klinik kullanıma sunulmuştur. 6-aminopenisilanik asit (6-APA), bütün penisilin antibiyotiklerin temel yapıtaşını oluşturmaktadır. Bu çekirdek yapı  $\beta$ -laktam halkası ve bu halkaya bağlanmış beşli tiazolidin halkasından oluşmaktadır. Değişik yan zincirlerin bu yapıya eklenmesiyle farmakolojik özellikleri ve antibakteriyel etkileri farklı olan yeni penisilin türevleri elde edilmektedir. Penisilin antibiyotikleri beş gruba ayrılmaktadır.

### 2.3.1.1. Doğal penisilinler

Penisilin G ve penisilin V bu grubun üyeleridirler. Penisilin G midenin asidik yapısından etkilenip inaktive olabileceğinden sadece parenteral olarak kullanılabilir. Klinikte kullanılmakta olan 3 farklı formu mevcuttur.

- **Kristalize penisilin;** endokardit ve menenjit gibi hızlı etki ve serumda yüksek düzeyde olması istenen durumlarda sadece intravenöz olarak uygulanır. Yarılanma ömrü kısa olduğu için sık aralıklarla kullanılması gerekmektedir.

- **Prokain penisilin;** kan düzeyinin yüksek olması gerekmemekle beraber etki süresinin uzun olması istenen (penisiline sensitif pnömokok ilişkili pnömoni) klinik tablolarda tercih edilir. Sadece intramusküler (IM) olarak kullanılabilir.

- **Depo penisilin (benzatin penisilin);** 3-4 hafta arayla IM şeklinde yapılır. Sifiliz hastalığının tedavisi ve akut romatizmal ateş profilaksisi depo penisilin başlıca endikasyonları arasında yer almaktadır.

Doğal penisilinlerin ön planda etkili olduğu grup Gram pozitif bakterilerdir. Penisilin direnci, A grubu  $\beta$ -hemolitik *Streptokok* bakterilerinde şu ana kadar bildirilmemiştir. Diğer *Streptokok* türlerinde karşı da etkinliği fazladır. Fakat, *Pnömokok* bakterilerinde penisilin direnci gitgide artmaktadır. *Stafilokok* bakterilerinin %90' ından fazlasında salgılanan penisilinaz enzimi penisilin antibiyotiklerini inaktivasyona uğratmaktadır (38).

### 2.3.1.2. Aminopenisilinler

Penisilin etki ettiği bakterilere ilave olarak *P. mirabilis*, *E. coli*, *Shigella* türleri ve *Salmonella* gibi bazı Gram negatifleri de etkilemektedir. *Enterokok* türlerine doğal penisilinlerden daha fazla etki göstermektedirler. *Pseudomonas aeruginosa*'ya ve  $\beta$ -laktamaz salgılayan bütün bakterilere etki göstermezler. Amoksisilin, bakampisilin ve ampisilin bu grubun üyeleridir. Ampisilin parenteral ve oral preparatları mevcut iken diğerlerinin sadece oral preparatları vardır.

### 2.3.1.3. Karboksipenisilinler

Bu grup içerisinde karbenisilin ve tikarsilin bulunmaktadır. Aminopenisilinlerin etki spektrumuna ek olarak *Serratia*, *P. aeruginosa* ve *Enterobacter* türlerine de etkinlikleri vardır. Tikarsilin ülkemizde bulunmamaktadır. Karbenisilinde yüksek oranda direnç görülmesi ve yüksek oranda tuz içermesinden dolayı kullanımını yoktur.

### 2.3.1.4. Üreidopenisilinler

Geniş spektrumlu penisilinler ya da antipseudomonal penisilinler olarak da bilinmektedirler. Azlosilin, piperasilin ve mezlosilin bu grupta bulunur. Primer olarak Gram negatif bakterilere ve *Pseudomonas aeruginosa*'ya etki ederler. Sadece parenteral olarak kullanılırlar. Genel olarak Gram negatif bakterilerle oluşan orta-ciddi şiddetli enfeksiyonlarda ve *P. aeruginosa* enfeksiyonlarında kullanım alanı bulmuştur. *P. aeruginosa* enfeksiyonlarında bir aminoglikozidle kombine olarak kullanılması önerilmektedir (39, 40).

### 2.3.1.4. Penisilinaza dirençli penisilinler (Antistafilokoksik penisilinler)

*Stafilokokların* hemen tamamının salgıladığı penisilinaz enzimine dayanıklı olan tek penisilin grubudur. Ayrıca *Streptokoklara* da etki göstermektedir; fakat gösterdiği etki doğal penisilinden daha iyi değildir. Metisiline rezistans *Stafilokok* enfeksiyonlarına karşı diğer bütün  $\beta$ -laktam antibiyotikler gibi bu grubun da etkisinin olmadığı akıldan çıkarılmamalıdır. Bu grup içerisinde yer alan metisilin, oksasilin, nafsilin, dikloksasilin, kloksasilin ve flukloksasilinden sadece nafsilin ülkemizde bulunmaktadır ve parenteral yolla kullanılmaktadır. Metisiline sensitif *Stafilokok* enfeksiyonlarında ilk seçenektir (40, 41).

### 2.3.2. Sefalosporinler

Tedaviye girdikten sonra hastanelerde kullanılan en yaygın antibiyotik ilaç gruplarından biri olan sefalosporinlerin ilk kaynağı, 1948 yılında Brotzu tarafından izole edilen *Cephalosporium acremonium*'dur. İlk sefalosporin olan Sefalosporin C, dihidrotiazine  $\beta$ -laktam halka sistemiyle (7- aminosefalosporinik asit) yoğunlaştırılmış D- $\alpha$ -aminodipik asitten türetilmiştir. 7-aminosefalosporinik asit içeren bileşikler yan zincirleri bulunmasına ve penisilinaza afinite göstermelerine rağmen seyreltik asit içinde

stabildirler ve penisilinaza karşı dirençlidirler. Sefalosporin C asit ortamında 7-aminosefalosporinik asite hidroliz olmaktadır. Bu maddeye farklı yan zincirler eklenerek farklı sefalosporin grubu moleküller oluşturulabilmektedir (42). Sefalosporinlerin penisilinlere üstünlükleri hem oral hem de parenteral kullanılabilen formlarının olmasıdır. Penisilinde ise yalnızca penisilin-V (fenoksimetil penisilin) oral kullanıma uygundur (43). Sefalosporin grubu ilaçların sayısı fazla olmasından dolayı, bu ilaçları sınıflandırma ihtiyacı duyulmuştur. Sefalosporinler kimyasal yapılarına, klinik farmakolojilerine, antimikrobiyel spektrumlarına veya  $\beta$ -laktamaza olan dirençlerine göre sınıflandırılabilirler (42).

### **2.3.2.1. Birinci kuşak sefalosporinler**

Bu grupta bulunan ilaçlar *Pnömonokok*, *Streptokok* ve *Stafilakok* gibi Gram pozitif koklara karşı etkinlik gösterir. Sefalosporinler metisiline rezistans *Stafilakok* türlerine karşı etkin değildir. Sefazolin, cerrahi profilakside tercih edilen ilaçlardan biridir (44). Sefazolin diğer birinci kuşak sefalosporinlerden farklı olarak bazı *Enterobacter* türlerine karşı etkinlik göstermektedir. Sefaleksine ise oral uygulaması bulunan bir 1. kuşak sefalosporinlerden biridir. Ancak penisilinaz üreten *Stafilokoklara* karşı daha az etkindir. Bu ilaç metabolize edilmeden %70-%100 gibi bir oranda idrar yoluyla atılmaktadır (42).

### **2.3.2.2. İkinci kuşak sefalosporinler**

Genellikle birinci kuşaktaki ilaçların etki gösterdiği mikroorganizmalara karşı etkindirler. Ancak bunların dışında Gram negatiflere karşı da etkinlik gösterirler. Oral ve parenteral yolla kullanımları bulunmaktadır (44). İkinci kuşak sefalosporinlerden sefaklor oral kullanılmaktadır. *H. influenzae* ve *Moraxella catarrhalis*'e karşı etkindir. Lokarbef oral kullanılan ve aktivitesi sefaklor benzeyen bir ilaçtır (45). Sefuroksim bazı *Citrobacter* ve *Enterobacter* türlerine karşı Gram negatif aktivitesi yönünden lokarbef benzemektedir. Sefoksitin, sefmetazol ve sefotetanın aksine sefuroksim *B. fragilis*'e karşı etkinliği yoktur (46).

### **2.3.2.3. Üçüncü kuşak sefalosporinler**

Sefotaksim başta olmak üzere seftriakson, seftazidim, sefiksim, sefdinir bu grupta yer almaktadır. Bu grup içinde gerek dünyada gerekse ülkemizde en sık kullanılan

seftriaksondur (47). Bu gruptaki ilaçlar 2. kuşak sefalosporinlerle kıyaslandığında Gram negatif etkinlik daha fazla göstermektedirler. Bunlardan bazıları kan-beyin engelini de geçebilir. Bunun yanında *Citrobacter*, *S. Marcescens* ve *Providencia* 'ya karşı etkindirler. Seftazidim ve sefaperazon *P. aeruginosa* 'ya karşı da kullanılabilen ilaçlardır. Geniş bir spektrumları bulunmaktadır. Bu nedenle bu grupta yer alan ilaçlar diğer ilaçlara direnç geliştiren mikroorganizmaların neden olduğu çeşitli enfeksiyonlarda kullanılabilirler (44). Üçüncü kuşak sefalosporinlerden sefotaksim ve seftizoksim benzer in-vitro aktivite göstermektedirler. Sefotaksim, *H. influenzae*, ve *N. meningitides* ve penisiline duyarlı *S. pneumoniae* neden olduğu menenjitte etkin bir şekilde kullanılabilir (48). Seftriaksonun da in-vitro aktivitesi seftizoksim ve sefotaksime benzemektedir. Yarılanma ömrü 8 saattir. İlacın günde 1 veya 2 doz uygulanması menenjitli hastalarda etkili bulunmuştur (49). BOS'a, eklem sıvılarına, seröz boşluklara geçişi yeterlidir. Bu bölgelerde antibakteriyel minimum inhibisyon konsantrasyonu (MİK) değerlerine bakterisidal etkinlikte ulaşır. Olası yan etkileri arasında en sık görüleni makülopapüler döküntülerdir. Hepatotoksisite, safra koyulaşması ve safra çamuruna neden olabilir. Bu durum bir süre içinde kendiliğinden düzelmektedir. Anafilaksi riski vardır (50).

#### **2.3.2.4. Dördüncü kuşak sefalosporinler**

Bu kuşaktaki örnek sefepim'dir. *Neisseria* 'ya ve *Haemophilus* ' a karşı yüksek etkinlik göstermektedir. Serebrospinal sıvıya iyi penetre olmakta ve böbrekler yoluyla atılmaktadır. Farmakokinetik özellikleri seftazidim gibidir. Bununla birlikte seftazidimden farklı olarak penisiline dirençli *Streptokoklara* karşı iyi etkinlik göstermektedir. Ayrıca klinik rolleri açısından daha çok 3.kuşak sefalosporinlere benzemektedir (44).

#### **2.3.2.5. Beşinci kuşak sefalosporinler**

Bu kuşak içinde ceftaroline, ceftobiprole yer alır. Bu grubun diğerlerinden farkı Metisilin Rezistans *Staphylococ aureus* (MRSA) enfeksiyonlarında, Extended-spectrum  $\beta$ -lactamases (ESBL) pozitif Gram negatif bakteriyel enfeksiyonlarda, *Pseudomonas* enfeksiyonlarında, nozokomiyal enfeksiyonlarda, anaerob enfeksiyonların tedavisinde etkin olmalarıdır (51).

### 2.3.3.Monobaktamlar

$\beta$ -laktamlardaki antibakteriyel aktivite ve  $\beta$ -laktamazlara karşı olan dayanıklılıkta, penisilin ve sefalosporinlerdeki çift halkalı çekirdeğin şart olmadığı, ilk monosiklik  $\beta$ -laktamın bulunmasıyla anlaşılmıştır (52). 1981’de Squibb grubundan Sykes ve Takeda grubundan da Imada ve arkadaşları bakteriyel orjinli ilk monobaktamı bulduklarını bildirmişlerdir(52,53).Toprak bakterilerinden *Acinetobacter*, *Agrobacterium*, *Chromobacterium*, *Flexibacter* ve *Glucobacter*’in zayıf aktivite gösteren monosiklik  $\beta$ -laktamlar sentez edebildiği gösterilmiştir (53, 54). Aztreonam ise tamamen sentetik olup, düşük konsantrasyonlarda yüksek antibakteriyel özelliğe sahiptir. Aztreonam dışında çalışmaları devam eden monosiklik  $\beta$ -laktamlar şunlardır;

- Carumonam (monobaktam)
- SQ- 26.324 (monobaktam)
- SQ- 83.360 (monokarbam)
- Tigemonam (monosulfaktam)

Aztreonam aerobik Gram negatif bakterilere karşı etkili, sadece parenteral kullanılabilen ve klinik kullanıma sunulan ilk monosiklik  $\beta$ -laktamdır(52,54). Diğer  $\beta$ -laktam antibiyotikler gibi bakterisidal etkiye sahiptirler ve bu etkiyi bakterinin hücre duvar sentezini bozarak göstermektedir (54). Selektif olarak Gram negatif bakterilerdeki penisilin bağlayıcı protein (PBP) 3’e yüksek afinite göstererek bağlanır (52). Buna karşın Gram pozitif ve anaerob bakterilerin PBP’lerine afinitesi son derece düşüktür ve bu nedenle bu gruptaki bakterilere karşı aztreonamın etkisi hiç yoktur. Aztreonam aerobik Gram negatif mikroorganizmaların neden olduğu enfeksiyonlarda kullanılan bir antibiyotiktir. Kullanım dozu 8-12 saatte bir 1-2 gr ile çoğu *Enterobacteriaceae*’nın neden olduğu enfeksiyonları tedavi edebilmektedir. Sistemik *Pseudomonas* enfeksiyonlarında 8 saatte bir 2 gr önerilmektedir. Kullanıldığı klinik tablolar ise şunlardır;

- Üriner sistem enfeksiyonları
- Sepsis
- Alt solunum yolu enfeksiyonları



- Deri ve yumuşak doku enfeksiyonları (postoperatif yara, yanık, ülser)
- İntraabdominal enfeksiyonlar (peritonit gibi)
- Jinekolojik enfeksiyonlardır (pelvik selülit, endometrit) (53).

#### **2.3.4. B-laktamaz inhibitörleri**

B-laktam antibiyotiklere yönelik bakterilerin kullanmış oldukları en yaygın direnç mekanizması,  $\beta$ -laktam halkasını parçalayan  $\beta$ -laktamaz enzimlerini üretmektir. Farklı bakterilerce plazmid aracılığıyla veya kromozom kontrolünde sentezi yapılan çok sayıda ve farklı yapıları olan  $\beta$ -laktamazlar vardır (55, 56). B-laktamaz enzimi bulunduran *K. pneumoniae*, *E. coli*, *E. faecalis*, *S. aureus*, *P. aeruginosa* gibi bakteriler ciddi sorunlara sebebiyet vermektedirler (57). B-laktamaz enzimi monobaktam, penisilin, sefalosporin veya karbapenemleri yıkıma uğratmaktadır (58). Bu yıkımı engellemek amacıyla  $\beta$ -laktam,  $\beta$ -laktamaz inhibitör kombinasyonları kullanılmaktadır (55). B-laktamaz inhibitörleri,  $\beta$ -laktam halkası bulunduran, tek başlarına kullanıldıklarında zayıf etkili ya da antibakteriyel etkisi olmayan kimyasal maddelerdir.  $\beta$ -laktamaz enziminin aktif bölgesine bağlanmak suretiyle etkilerini gösterirler ve enzimi inaktive ederler (59). Klavulanik asit, sulbaktam ve tazobaktam klinikte kullanılan  $\beta$ -laktamaz inhibitörleridir (58). Amoksisilin-klavulanik asit, tikarsilin-klavulanik asit, ampisilin-sulbaktam, piperasilin-tazobaktam gibi bazı  $\beta$ -laktam/  $\beta$ -laktamaz inhibitör kombinasyonları mevcuttur (60). B-laktamaz inhibitörleri arasından en geniş spektrumlu olanı piperasilin-tazobaktamdır (55). Ampisilin-sulbaktam ve amoksisilin-klavulanik asit; akut otitis media, pnömoni, akut sinüzit, KOAH, deri ve yumuşak doku enfeksiyonları, diyabetik ayak enfeksiyonları, üriner sistem enfeksiyonlarının tedavisinde kullanılırlar (56). Ampisilin-sulbaktam, oral, intravenöz (İV) ve intramusküler (İM) olarak uygulanabilir

(60). Tikarsilin-klavulanik asit ve piperasilin-tazobaktam kateter kullanım ilişkili üriner sistem enfeksiyonları, hastane kökenli; bakteriyemi, pnömoni, intrapelvik ve intraabdominal enfeksiyonlar, osteomyelit, sepsis, yoğun bakım enfeksiyonlarının tedavisinde kullanılmaktadır (56).

### **2.3.5. Karbapenemler**

#### **2.3.5.1. Tarihçe ve genel özellikler**

Karbapenemler antibiyotikler içerisinde önemli bir konuma sahiptir. Karbapenemler, yüzlerce farklı  $\beta$ -laktamlar içerisinde Gram pozitif ve Gram negatif bakterilere en geniş spektrum ve etkinliğe sahip antibiyotik grubudur. Bu antibiyotik grubu, ağır enfeksiyonların ya da dirençli mikroorganizmaların neden olduğu tabloların tedavisi için “son basamak antibiyotik”, olarak bilinmektedir (3).

İlk olarak *Streptomyces cattleya*'dan tienamisin izole edilmiştir (61). Tienamisin bütün karbapenemlerin atası ve model bileşeni olarak bilinmektedir (3). Bu bileşikler kimyasal olarak stabil olmadıklarından klinikte kullanılmadılar. Yıllar sonra daha stabil bir tienamisin türevi olan ve imipenem (orijinal adıyla MK0787) olarak bilinen N-formimidoil tienamisin sentezlendi ve 1984'te kullanımını onaylandı. Bu bileşik daha stabil olduğundan terapötik olarak faydalıydı. Ancak böbrek fırçamsı kenarında yer alan dehidropeptidaz-I (DHP-I) enzimine karşı stabil olmaması, idrar imipenem düzeylerinin azalmasına ve potansiyel nefrotoksik bir metabolitin oluşumuna yol açtı. İmipenem ile 1:1 oranında birlikte uygulanan ilave bir bileşik olan silastatinin geliştirilmesi DHP-I ile hidrolizi önledi ve nefrotoksiteyi azalttı. Meropenem 1- $\beta$ -metil grubu ve 2-tiopirolidinil parçası bulunan ve böylece DHP-I'e karşı stabil hale gelen ilk karbapenem grubu üyesidir. Ardından panipenem, biapenem, lenapenem, ertapenem, S-4661, E-1010 ve BMS-181139 gibi parenteral kullanılabilen karbapenem ajanlar geliştirildi. Sanfetrinem, DZ-2640, CS-834 ve GV-129606 oral yolla alınan karbapenemlerdir (62).

#### **2.3.5.2. Karbapenemlerin aktivitelerine göre sınıflandırılması**

**Grup 1:** Ertapenem, panipenem (non-fermentatif etkinlikleri sınırlı),

**Grup 2:** İmipenem, meropenem, biapenem, doripenem,

### **Grup 3: CS-023.**

Birinci grup karbapenemler olan panipenem ve ertapenem özellikle toplum kökenli ciddi enfeksiyonların tedavisinde, ikinci grupta yer alan karbapenem ajanlar ise güçlü nonfermentatif etkiye sahip olmalarından dolayı hastane kökenli enfeksiyonların tedavisinde kullanılmaktadır. Üçüncü grupta yer alan CS-023, ikinci grubun etki spektrumuna ek olarak *MRSA*'ya karşı da aktivitesi vardır (7).

#### **2.3.5.3. Karbapenemlerin yapısal özellikleri**

Karbapenem grubunda yer alan antibiyotiklerin temel yapısı, penisilinin  $\beta$ -laktam halkasına benzemekle beraber farklı olarak 1. pozisyonda yer alan sülfürün yerine karbon vardır. Beş üyeli halkada yer alan 2. ve 3. karbon atomları arasında doymamış bağ bulunmaktadır. Karbapenemleri birçok  $\beta$ -laktamaz enzimine karşı dayanıklı kılan, hidroksietil yan zincirinin farklı transkonfigurasyon yapısında olmasıdır (3).

#### **2.3.5.3. Karbapenemlerin etki mekanizmaları**

Karbapenemler Gram negatif bakterilere porin olarak da bilinen dış membran proteinlerinden (OMP) girerler (63). Periplazmik boşluğa geçtikten sonra bakteri hücre duvarındaki peptidoglikan oluşumunu katalizleyen PBP enzimlerini kalıcı biçimde açile ederler. Karbapenemlerin etkinliğinde anahtar bir faktör, çok sayıda farklı PBP'ye bağlanabilme yetenekleridir. Bakterideki farklı PBP'lere yüksek affinite gösterirler (62). İmipenem, başlıca Gram negatif bakterilerdeki PBP1 ve PBP2'ye bağlanırken, meropenem bu mikroorganizmalardaki PBP2 ve PBP3'e seçici olarak bağlanmaktadır (64). Meropenem, *E.coli*'nin önce PBP-2 sonra PBP-3'üne bağlanır, aynı zamanda PBP-1a ve -1b'ye de iyi afinite göstermektedir. İmipenem esas olarak PBP-2, sonra -1a ve -1b'ye bağlanırken, PBP-3'e afinitesi zayıftır (65). Meropenem, *E. coli*'nin primer PBP hedeflerini, imipeneme göre daha düşük konsantrasyonlarda doyurmakta olup bu durum MİK değerlerinin daha düşük çıkmasını açıklamaktadır (66).

#### **2.3.5.4. Karbapenemlerin Mikrobiyolojik Aktiviteleri**

Karbapenemler var olan penisilin, sefalosporin ve  $\beta$ -laktam/  $\beta$ -laktamaz inhibitörü kombinasyonlarının tümünden daha geniş antimikrobiyal spektrum gösterirler (67). *Enterobacteriaceae* ailesi üyeleri ve ertapenem hariç *Burkholderia cepacia*, *P.*

*aeruginosa* ve *Acinetobacter spp.* gibi non-fermentatif Gram negatif bakterilere karşı aktiftirler. Ayrıca *Streptokoklar*, metisilin sensitif *Stafilokoklar*, *Neisseria spp.* ve *Haemophilus spp.*'ye karşı da aktivite gösterirler. Diğer geniş spektrumlu antibiyotiklerin çoğundan farklı olarak çoğu Gram pozitif ve Gram negatif anaerob bakteriye (*Bacteroides fragilis*, *Bacteroides thetaiotaomicron*, *Prevotella bivia*, *Fusobacterium mortiferum*, *Fusobacterium nucleatum*, *Peptostreptococcus asaccharolyticus*, *Clostridium perfringens*) karşı da aktiftirler. Karbapenem dirençli bakteriler; ampisilin dirençli *Enterococcus faecium*, metisilin dirençli *Stafilokoklar*, *Stenotrophomonas maltophilia* ve bazı *Clostridium difficile* izolatlarıdır (62). Genel olarak imipenem, doripenem ve panipenem Gram pozitif bakterilere karşı etkilidir. Meropenem, biapenem, doripenem ve ertapenem Gram negatif organizmalara karşı biraz daha etkilidir. Ertapenem, biraz daha kısıtlı bir spektruma sahiptir, *P. aeruginosa*'ya karşı imipenem veya meropenem kadar aktif değildir. Meropenem *A. baumannii*'ye karşı imipenem veya doripenem kadar etkili değildir (3). Doripenem *P. aeruginosa* ve *A. baumannii*'ye karşı imipenem ve meropeneme göre daha düşük MİK değerlerine sahiptir (68). Ayrıca doripenem karbapenemazlar tarafından hidrolize en az duyarlı olan karbapenemdir, imipeneme göre hidrolizi 2-150 kat daha yavaştır (69). Meropenem, klavulanat ile kombine kullanıldığı zaman normalde kromozomal  $\beta$ -laktamazına bağlı olarak  $\beta$ -laktamlara dirençli olan çoklu ilaç dirençli *M. tuberculosis*'i öldürebilir (70) (Tablo 6).

**Tablo 6 :** Karbapenem grupları ve aktivite spektrumları (62).

Aktivite spektrumu	İmipenem	Meropenem	Ertapenem	Doripenem
<b>Gram pozitif aerop</b>				
<i>Corynebacteria</i>	Duyarlı	Duyarlı	Duyarlı	Duyarlı
<i>Enterococcus faecalis</i>	Duyarlı (vankomisin dirençli suşlar hariç)	Duyarlı (vankomisin dirençli suşlar hariç)	Dirençli	Duyarlı (vankomisin dirençli suşlar hariç)
<i>Enterococcus faecium</i>	Dirençli	Dirençli	Dirençli	Rapor edilmemiş

<i>Rhodococcus equi</i>	Duyarlı	Dirençli	Rapor edilmemiş	Rapor edilmemiş
<i>Staphylococcus aureus</i>	Duyarlı (vankomisin dirençli suşlar hariç)	Duyarlı (vankomisin dirençli suşlar hariç)	Duyarlı (vankomisin dirençli suşlar hariç)	Duyarlı (vankomisin dirençli suşlar hariç)
<i>Streptococcus pneumoniae</i>	Duyarlı	Duyarlı	Duyarlı(penisilin dirençli suşlar hariç)	Duyarlı
<i>Streptococcus pyogenes</i>	Duyarlı	Duyarlı	Duyarlı	Duyarlı
<i>Viridans group streptococci</i>	Duyarlı	Duyarlı	Duyarlı	Duyarlı
<b>Gram negatif aerop</b>				
<i>Acinetobacter</i>	Duyarlı	Duyarlı	Dirençli	Duyarlı
<i>Burkholderia cepacia</i>	Dirençli(çoğunlukla)	Duyarlı	Dirençli	Duyarlı
<i>Citrobacter</i>	Duyarlı	Duyarlı	Duyarlı	Duyarlı
<i>Enterobacter</i>	Duyarlı	Duyarlı	Duyarlı	Duyarlı
<i>Escherichia coli</i>	Duyarlı	Duyarlı	Duyarlı	Duyarlı
<i>Klebsiella</i>	Duyarlı	Duyarlı	Duyarlı	Duyarlı
<i>Flavobacterium</i>	Dirençli	Dirençli	Rapor edilmemiş	Rapor edilmemiş
<i>Gardnerella vaginalis</i>	Duyarlı	Duyarlı	Rapor edilmemiş	Rapor edilmemiş
<i>Haemophilus</i>	Duyarlı	Duyarlı	Duyarlı	Duyarlı
<i>Moraxella</i>	Duyarlı	Duyarlı	Duyarlı	Duyarlı
<i>Morganella morganii</i>	Duyarlı	Duyarlı	Duyarlı	Duyarlı
<i>Neisseria</i>	Duyarlı	Duyarlı	Duyarlı	Rapor edilmemiş
<i>Proteus mirabilis</i>	Duyarlı	Duyarlı	Duyarlı	Duyarlı

<i>Proteus vulgaris</i>	Duyarlı	Duyarlı	Duyarlı	Duyarlı
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Duyarlı(çoğunlukla)	Duyarlı	Dirençli	Duyarlı
<i>Serratia</i>	Duyarlı	Duyarlı	Duyarlı	Duyarlı
<i>Stenotrophomonas maltophilia</i>	Dirençli	Dirençli	Dirençli	Dirençli
<b>Anaeroplara</b>				
<i>Bacteroides</i>	Duyarlı	Duyarlı	Duyarlı	Duyarlı
<i>Clostridium difficile</i>	Duyarlı	Duyarlı	Duyarlı	Duyarlı
<i>Eubacterium</i>	Duyarlı	Duyarlı	Duyarlı	Rapor edilmemiş
<i>Fusobacterium</i>	Duyarlı	Duyarlı	Duyarlı	Duyarlı
<i>Peptococcus</i>	Duyarlı	Duyarlı	Rapor edilmemiş	Rapor edilmemiş
<i>Peptostreptococcus</i>	Duyarlı	Duyarlı	Duyarlı	Duyarlı
<i>Propionibacterium</i>	Duyarlı	Duyarlı	Rapor edilmemiş	Duyarlı

### 2.3.5.5. Karbapenem grubunda yer alan ajanlar ve özellikleri

#### İmipenem

Gram pozitif, Gram negatif, aerob ve anaerob mikroorganizmaları içine alacak şekilde çok geniş etki spektrumu bulunmaktadır. Farklı antibiyotik kombinasyonlarıyla kıyas edildiğinde, çeşitli ciddi enfeksiyonların tedavisinde son derece etkin bir monoterapötik ajandır ve in vitro olarak imipenem, klinik olarak önem taşıyan bakterilerin çoğuna etkilidir. Bu nedenle kritik hastalığı bulunan kişilerde özellikle dirençli Gram negatif etkenler veya polimikrobiyal enfeksiyon düşünüldüğünde, kültür ve antibiyogram sonuçlarını beklemeden ampirik olarak başlanabilir (71). İmipenem kullanımı sırasında en sık enjeksiyon yapılan bölgede ağrı, tromboflebit gibi yan etkiler görülmektedir. Bulantı, kusma, oral mukoza değişiklikleri, ishal ve psödomembranöz enterokolit gibi gastrointestinal yan etkileri vardır. Ciddi yan etkiler ise nadiren görülür. İmipeneme kullanımında alerjik reaksiyonlar görülebilmektedir. Santral sinir sistemi

toksisitesi görülebilmektedir. Konvülziyon gelişimi açısından asıl risk faktörleri ilacın yüksek dozda kullanımını ve hastada renal yetmezlik tablosunun olmasıdır (72).

### **Meropenem**

Meropenem, imipenemden farklı olarak insan böbrek dehidropeptidaz-I (DHP-1) enzimine karşı çok yüksek kararlılık gösterir. Klinik önemi olan hemen hemen tüm aerobik ve anaerobik bakterilere karşı son derece etkili bir ajandır. İmipenem ve meropenemin başlıca hedefi PBP-2 dir. Fakat meropenem, *E. coli* ve *Pseudomonas aeruginosa*'nın PBP-2 ve PBP-3 yapılarına daha büyük bir afinite gösterir. Meropenem, *Stafilokok* enzimleri ve Gram negatif bakteri karbapenemazları haricindeki diğer tüm  $\beta$ -laktamazların hidrolitik aktivitelerine dayanıklı yapıdadır. İmipenem Gram pozitiflere karşı daha fazla etkili iken, meropenem Gram negatiflere bilhassa *P. aeruginosa*'ya karşı daha fazla etki göstermektedir (73, 74).

Meropenem genellikle 3.kuşak sefalosporinlerden daha güçlü bir indükleyici olmasına rağmen, *Enterobacter* ve *P. aeruginosa* izolatlarında yer alan grup 1  $\beta$ -laktamazlar üzerinde indükleyici etkileri imipeneme göre daha zayıftır (75, 76). İmipeneme göre direnç gelişimi daha düşük olmakla birlikte daha az yan etkisi bulunmaktadır. Bulantıya neden olmamasından dolayı IV bolus olarak verilebilir. Kullanımı sırasında konvülziyon gelişme ihtimali çok düşük olduğundan renal yetmezliği ve santral sinir sistemi hasarı olan hastalarda kullanılabilir (77).

### **Ertapenem**

2001'de geliştirilen, imipeneme göre DHP-I ile inaktivasyona daha dirençli bu yüzden silastatin veya betamipron gibi bir DHP-I inhibitörü ilavesi gerektirmeyen bir 1- $\beta$ -metil karbapenemdir (62). İmipenem ve meropeneme kıyas edildiğinde daha dar spektrumludur. *Enterobacteriaceae*'ya ve anaeroblara etkilidir, ancak *P.aeruginosa*, *Acinetobacter*, *Enterokoklar* ve penisilin dirençli *Pnömokoklara* etkili değildir. Uzun yarı ömrü ve yüksek oranda proteine bağlanma gibi farmakokinetik özelliklerinden dolayı günde bir kez uygulamaya olanak vermektedir. İntravenöz veya anestetik madde ilavesi ile intramusküler uygulanabilir (78). Genişlemiş spektrumlu beta-laktamaz (GSBL) üreten patojenlerin sebep olduğu enfeksiyonlarda etkili olmasına karşın, GSBL üreten bakterilere karşı diğer karbapenemlere göre in-vitro olarak azalmış aktivite

göstermektedir. *Enterobacteriaceae* ailesi üyelerinde ertapenem direncinin en yaygın formu porin kaybı ve AmpC üretimidir. Bu tip direnç, tedavi sırasında GSBL üreten bir *K. pneumoniae* suşunda da raporlanmıştır. Beyin-omurilik sıvısına geçebilmesine rağmen ertapenem bakteriyel menenjit tedavisi için uygun bir seçenek değildir (62). Çocuklarda ve erişkinlerde aerob ve anaerobların sebep olduğu üriner sistem enfeksiyonu, toplum kökenli pnömoni ve toplum kökenli miks enfeksiyonların tedavisinde önemli bir seçenektir. En sık görülen yan etkileri ishal, flebit, tromboflebit ve karaciğer enzim yükseklidir (79).

### **Doripenem**

Hastane kökenli pnömoni (ventilator ilişkili dahil), komplike karın içi enfeksiyon ve komplike idrar yolu enfeksiyonu tedavisinde kullanılmış bir parenteral 1- $\beta$ - metil karbapenemdir. İnsan DHP-I'ine karşı stabildir ve geniş etki spektrumuna sahip bir ilaçtır. İmipenemin Gram pozitif, meropenemin Gram negatif patojenlere olan in-vitro aktivitesini birleştirir. AmpC ve GSBL üreten *Enterobacteriaceae* ailesi üyelerine karşı da aktivitesini korur. *P. aeruginosa* için doripenem MİK'leri diğer antipsödomonal ajanlara göre daha düşüktür ve karbapenem dirençli *P. aeruginosa* suşlarının büyük kısmını inhibe edebilir (62). Komplike üriner sistem enfeksiyonu, intraabdominal enfeksiyon ve nozokomiyal pnömonide kullanılmaktadır (68). Baş ağrısı, enjeksiyon bölgesinde eritem, ishal, bulantı ve karaciğer enzimlerinde artış en sık görülen yan etkilerdir (79).

### **Panipenem (rs-533)**

Japonya'da 1993'de klinik kullanıma giren, ikinci onaylanan karbapenemdir. DHP-I ile hidrolize duyarlıdır, bu yüzden bu enzimi inhibe eden betamipron ile birlikte uygulanması gerekir. Japonya, Çin ve Güney Kore'de onaylanmıştır (62).

## **2.4. Antibiyotiklere direnç mekanizmaları**

Günümüzde antibiyotiklerin düzensiz kullanımının artması, yoğun bakım ünitelerinde yatan ve immun sistemi bozulmuş hasta sayısının artması, gıda endüstrisinde çeşitli antibiyotiklerin kullanımı gibi faktörlerle mikroorganizmalardaki antibiyotik direnci giderek artmaktadır. Direnç sorununun daha yoğun olarak yaşandığı yerler antibiyotik kullanımının daha yoğun olması nedeni ile hastanelerdir. Ülkemizde



hastanelerde en sık direnç sorunu yaşanan mikroorganizmalar; *P. aeruginosa*, *Acinetobacter spp.*, *K. pneumoniae*, *S. Aureus*, *E.coli* ve *Enterokoklardır* (80, 81).

#### **2.4.1. İntrinsik direnç (doğal direnç)**

Bir mikroorganizmanın genetik yapısından dolayı bazı antibiyotiklere karşı bulunan doğal direncini tanımlamaktadır. Antibiyotik kullanılması ile direnç gelişim hızı arasında ilişki yoktur. Örneğin vankomisin molekülü dış membran porlarından geçmek ve peptidoglikan tabakaya ulaşmak için fazla büyük olduğundan Gram negatif bakterilere etkisizdir.

#### **2.4.2. Kazanılmış direnç**

Bakteri genetik yapısındaki değişikliklerden kaynaklanan; kromozom, transpozon, plazmid DNA'sında yer alan mutasyonlarla ya da direnç geni barındıran DNA dizilerinin başka bakterilerden transformasyon, konjugasyon ya da transdüksiyon vasıtasıyla alınmasıyla görülen dirençtir.

#### **2.4.3. Çevre ve koşullara bağlı direnç**

Antibiyotiklerin in-vivo veya in-vitro etkinliklerinde farklılık oluşmasına sebep olan dirençtir. Doku pH değişiklikleri, oksijen basıncı değişiklikleri, antibiyotiğin enfeksiyon bölgesine ulaşamaması gibi nedenlerden dolayı in-vitro testlerde etkili olarak değerlendirilen antibiyotik in-vivo şartlarda etki göstermeyebilir (82).

### **2.5. Genişlemiş Spekturumlu Beta-Laktamazlar (GSBL)**

#### **2.5.1.Tarihçesi**

Antibiyotiklere karşı gelişen direncin, antibiyotiklerin kullanılmaya başlamasından daha eskiye dayandığı bilinmektedir. İlk direnç 1940 yılında Abraham ve Chain tarafından bir *E. coli* suşunda penisilini parçalayabilen bir penisilinazın bulunmasıyla tanımlanmıştır. 1944 yılında Kirby, *Staphylococcus aureus* suşlarında plazmid aracılı benzer başka bir enzimi tanımlamıştır. Penisilinlerin yaygın kullanılmamasına karşı hem Gram pozitif bakterilerde hem de Gram negatif bakterilerin antibiyotiklere karşı direnç geliştirdikleri görülmektedir (83-85). Penisilin kullanılmaya başlamasını izleyen 20-25 yıl boyunca direnç gelişimi kısıtlı kalmıştır. İlerleyen yıllarda

penisilinlere direnç kazanmış *Stafilokoklar* tüm dünyaya yayılmıştır. 1959 yılında Japonya’da *Shigella dysenteriae* suşunun çoklu ilaca dirençli olduğu gösterilmiş ve *E. coli*’ye direnç genleri aktarılabilmıştır. 1960’lardan sonra birinci kuşak sefalosporinler ve yarı sentetik penisilinler keşfedilmiştir. 1980’li yıllarda birçok yeni  $\beta$ -laktam antibiyotik kullanıma girmiş ve yaygın kullanılmaya başlanmıştır. Diğer yandan  $\beta$ -laktamazların etki spektrumlarının genişlemesine ve sayısında hızlı artmaya sebep olmuştur. Bu enzimler geniş spektrumlu  $\beta$ -laktam ajanları inaktive edebilmelerinden dolayı GSBL olarak adlandırılmıştır (83, 84). Gram negatif bakterilerdeki ilk plazmid aracılı  $\beta$ -laktamaz olan TEM-1, 1960’lı yılların başında tanımlanmıştır. Bu enzim ilk olarak Yunanistan’da Temoniera adlı bir hastanın kan kültüründen izole edilen *E.coli*’ de bulunmuştur. Transpozon ve plazmid aracılı olması bu enzimin diğer bakteri türlerine yayılımını kolaylaştırmıştır ve bu enzimin bulunuşundan sonraki on yıl içinde pek çok *Enterobacteriaceae* üyesinde dünya genelinde yayılım göstermiştir. TEM-1 benzeri bir enzim olan TEM-2 enzimi ilk olarak 1969 yılında *Pseudomonas aeruginosa*’ da saptanmıştır. Günümüzde bu enzimler *Enterobacteriaceae* ailesinin pek çok üyesinde, *Haemophilus influenzae*, *P. aeruginosa* ve *Neisseria gonorrhoeae* bakterilerinde bulunmaktadır. Diğer bir plazmid aracılı enzim olan SHV-1 enzimi 1979 yılında *E. coli* ve *K. pneumoniae* bakterilerinde bulunmuştur. Bu enzimin *K. pneumoniae* izolatlarında kromozom aracılı ve *E. coli* izolatlarında plazmid aracılı olduğu gözlenmiştir. 20 yılı aşkın süredir  $\beta$ -laktamazların hidrolitik etkilerine dirençli pek çok antibiyotik geliştirilmiştir. Ancak bu antibiyotiklerin yaygın biçimde kullanımı mutasyona uğramış  $\beta$ -laktamaz enzimine sahip dirençli bakterilerin oluşmasına neden olmuştur (4). GSBL enzimlerinin büyük çoğunluğu TEM-1, TEM-2 ve SHV-1 enzimlerinden köken alan mutant enzimlerdir (86).

### **2.5.2. B-Laktam Antibiyotiklere Direnç Mekanizmaları**

Antibakteriyel ilaçların kullanım sıklığının artması bakterilerde çeşitli direnç mekanizmalarının gelişmesine neden olmuştur. Bu direnç doğal veya kazanılmış olmak üzere ikiye ayrılmaktadır. Direnç gelişiminde enzim üretimi, başlama noktalarında meydana gelen değişiklikler, membran geçirgenliğinin azalması ve membran pompası gibi çeşitli mekanizmalar rol oynamaktadır. Bakterilerde  $\beta$ -laktam antibiyotiklere karşı oluşan direnç 4 yolla gelişebilmektedir (33, 87).

## 1.) İlacın hedef bölgesindeki değişiklikler:

B-laktam antibiyotiklerin hedef bölgesi olan PBP'lerdeki değişiklikler; kromozomal mutasyonlar sonucu PBP'nin  $\beta$ -laktam antibiyotiğe afinitesinin azalması,  $\beta$ -laktam antibiyotik ajanlara karşı düşük afiniteli yeni PBP'lerin sentezlenmesi veya PBP sayısında azalma olması sonucu oluşabilmektedir. *Neisseria meningitidis*, *Neisseria gonorrhoeae*, *Haemophilus influenzae* ve *Streptococcus pneumoniae*'da görülen penisilin direnci ve metisiline rezistans *S.aureus*'da görülen direnç PBP'lerde meydana gelen değişiklikler ile oluşmaktadır (87). Bakterilerde iki grup PBP belirlenmiştir. Birinci grup, düşük molekül ağırlıklı PBP (DD-karboksi-peptidazlar), ikincisi ise yüksek molekül ağırlıklı PBP'dir (transpeptidaz ve transglikolizaz) (88). Yüksek molekül ağırlıklı PBP'deki değişime bağlı oluşan penisilin direnci Gram pozitiflerde Gram negatiflere oranla daha fazladır (89).

## 2.) Dış membran geçirgenliğinin bozulması:

Hücre zarı membran geçirgenliğinde azalma görülmesi bilhassa Gram negatiflerde önem taşımaktadır. B-laktam antibiyotikler, Gram negatif bakterilerin dış membranında yer alan 'outer membrane protein' (OMP) adı verilen porlar yolu ile hücre içine girmektedir. B-laktam antibiyotikler dış membrandan porin C ve porin F adı verilen başlıca 2 kanal aracılığı ile geçerler. İmipenem dış membrandan ayrıca D2 proteini adı verilen özel bir porini kullanarak da geçer. Bundan dolayı bir Gram negatif bakteri, porin F ve porin C proteinlerini mutasyona uğratarak tüm  $\beta$ -laktamlara direnç geliştirebilirken, imipeneme duyarlı kalabilmektedir. Bununla birlikte, özellikle *P. aeruginosa* ve *Enterobacter* suşlarında dış membrandan D2 proteinin kaybolması bakteriyi imipeneme dirençli hale getirebilmektedir (4, 87). Ancak bu tipte direnç geliştiren bakteri, diğer  $\beta$ -laktam antibiyotiklere karşı çapraz direnç geliştiremez (90). Porinlerin özellikleri ve sayıları ile antibiyotiğin özellikleri (çözünürlük, yük, büyüklük) hücre içine giriş hızını belirleyen faktörlerdir (87). Çoğu sefalosporin ve geniş spektrumlu penisilinler moleküler yapılarında yer alan uzun yan zincirler nedeniyle porinlerden nispeten yavaş geçerler. İmipenem, diğer  $\beta$ -laktam antibiyotiklere kıyasla daha düşük moleküler ağırlıkta olduğundan porinlerden daha hızlı bir geçiş göstermektedir. Antibiyotiğin bakteriyel etkinliği açısından periplazmik boşlukta kısa sürede yüksek konsantrasyonlara ulaşabilme özellikleri önem taşımaktadır (91). *E. coli* için  $\beta$ -laktam antibiyotiklerin

minimal inhibisyon konsantrasyon (MİK) değerleri önce Porin C sonra da Porin F'nin kaybı sonucu gelişmektedir. Porin F, büyük porları olması sebebiyle en büyük etkiye sahiptir (92). Gram pozitif bakterilerde ise dış zar olmadığından bu mekanizma ile direnç gelişmesi söz konusu değildir. Çoğu zaman ise bir bakteride birden fazla mekanizma dirençten sorumlu olabilmektedir (90).

### **3.) Efluks pompası:**

Antimikrobiyal ajanın hücre dışına atılmasını sağlayan aktif pompa sistemlerinin varlığı 20 yıl kadar önce tetrasiklinler için belirlenmiştir (82). Günümüzde ise aktif pompa sistemi mekanizmasının  $\beta$ -laktamların da aralarında bulunduğu birçok antibiyotik sınıfına karşı doğal veya kazanılmış dirençte önemli olduğu anlaşılmıştır. Hatta Gram negatif bakterilerin çeşitli antibiyotiklere doğal direncindeki temel rolü eskiden sanıldığı gibi dış membran değil, aktif pompa sistemlerinin oynadığı belirlenmiştir (93, 94). Bu direnç mekanizması, Gram pozitif hücre duvarının tek tabakalı peptidoglikan içermesine karşın Gram negatif bakteri hücre duvarının iç ve dış plazma membran ve periplazmik aralıktan oluşan yapısı sebebiyle Gram negatif bakterilerin  $\beta$ -laktam direncinde önem kazanmıştır (95).

### **4.) B-laktamaz enzimleri ile ilacın inaktive edilmesi:**

B-laktam antibiyotiklere karşı en çok gözlenen direnç mekanizması, bakterilerin bu antibiyotikleri inaktive eden  $\beta$ -laktamaz enzimlerini sentezlemesi ile oluşmaktadır. B-laktamazlar, penisilinler, sefalosporinler ve benzeri  $\beta$ -laktam antibiyotiklerini hidrolize ederek bu antibiyotikleri etkisiz hale getirip direnç gelişimine neden olmaktadır. Bu enzimler  $\beta$ -laktam halkasında yer alan karbonil grubu ile bir ester köprüsü kurup siklik amid bağını parçalayarak bir açıl-enzim türevi oluştururlar. Daha sonra enzim açıl molekülünden ayrılarak rejenere olur. Bakteride  $\beta$ -laktamaz enzimi yapısal veya indüklenebilir olabilir. Gram pozitif bakterilerde enzim genellikle indüklenebilir iken, Gram negatif bakterilerde  $\beta$ -laktamazların bir kısmı indüklenebilir, bir kısmı ise yapısal özelliktedir. B-laktamaz genleri bakteri plazmidi, kromozomu, transpozon veya integron gibi taşınabilir genetik elemanlar üzerinde bulunabilir (4). B-laktamazlar, hem Gram pozitif hem de Gram negatif aerobik ve anaerobik bakterilerce sentezlenmektedir. *Stafilokoklar*; Gram pozitif bakteriler içerisinde  $\beta$ -laktamaz üreten en önemli

patojenlerdir. Anaerobik bakterilerden *Clostridium* ve *Fusobacterium*'ların  $\beta$ -laktamazları esasen penisilini parçalarken *Bacteriodes*'ler tarafından üretilen  $\beta$ -laktamazlar ise sıklıkla sefalosporinlere etki etmektedirler. B-laktamaz üretimi; Gram negatif bakterilerdeki  $\beta$ -laktam direncindeki en önemli mekanizmadır. Gram negatif bakterilerde yer alan bu  $\beta$ -laktamazlar, dış membran ile sitoplazmik membran arasındaki periplazmik aralıkta bulunurken, Gram pozitif bakterilerde doğrudan hücre dışına salınmaktadır. Bu nedenle Gram negatif bakteri türlerinde  $\beta$ -laktamazlara bağlı dirençte sıklıkla antibiyotik geçirgenliği ile ilgili mekanizmalar da rol oynamaktadır (96). Günümüzde 1000'in üzerinde farklı  $\beta$ -laktamaz enzimi tanımlanmıştır (97). İlk  $\beta$ -laktamaz, 1940 yılında *E. coli* bakterisinden izole edilmiştir. Gram negatif bakterilerin çoğu diğer bakteriler ile rekabet halinde olup, kendilerine yer edinebilmek için doğal olarak kromozomal kodlanan  $\beta$ -laktamaz üretmektedirler (98). Genişlemiş spektrumlu sefalosporinleri hidrolize edebilen plazmid aracılı ilk  $\beta$ -laktamaz ise 1983 yılında rapor edilmiştir (99).

### **2.5.3.B-laktamazların sınıflandırılması**

Günümüzde 1000'in üzerinde farklı  $\beta$ -laktamaz enzimi tanımlanmıştır (97). Yeni kullanılmaya başlanan  $\beta$ -laktam antibiyotiklerle eş zamanlı olarak  $\beta$ -laktamazların sayısı ve çeşidindeki ani artıştan dolayı bu enzimlerin sınıflandırılması gerekli görülmüş ve farklı zamanlarda farklı birçok sınıflandırma şemaları önerilmiştir. Buna bağlı olarak  $\beta$ -laktamazlar, hidrolitik etki spektrumlarına, aminoasit ve nükleotid dizilimlerine, inhibitörlere karşı duyarlılıklarına, plazmid ya da kromozom aracılı kodlanma durumlarına, biyokimyasal özelliklerine ve izoelektrik noktalarına göre sınıflandırılmışlardır. 1940 yılında Abraham ve Chain'in bildirdikleri penisilinaz ile birlikte  $\beta$ -laktamazların ilk sınıflandırması yapılmıştır. Daha sonra yapılan ve kabul gören ilk sınıflandırma ise, Sawai ve arkadaşlarının yaptığı sınıflandırma olmuştur. Sawai, 1968 yılında enzimleri penisilinaz ve sefalosporinaz olarak ayırmış, buna ek olarak antiserum ile reaksiyonu da buna eklemiştir (100). Richmond ve Sykes ise 1973 yılında yapmış oldukları sınıflandırmada o güne değin bilinen tüm Gram negatif bakteri  $\beta$ -laktamazlarını substrat profillerine göre 5 grupta toplamışlardır (101, 102). Daha sonra Matthew özgül  $\beta$ -laktamazların "isoelectric focusing" (IEF) ile tanımlanacağını gösterdikten sonra 1976'da bu şema Sykes ve Matthew tarafından revize edilmiştir (100, 103). 1981'de

Mitsuhashi ve Inoue'nun yaptığı sınıflamada "sefuroksimi hidroliz eden  $\beta$ -laktamazlar" kategorisi de sınıflandırmaya eklenmiştir. 1989'da Bush tarafından önerilen grupta ise tüm bakterilerin  $\beta$ -laktamazları yer almış ve ilk kez substrat ve inhibitör özellikleri moleküler yapı ile ilişkilendirilmiştir (104, 105).

Moleküler yapı ile ilgili sınıflandırma ilk kez 1980 yılında Ambler tarafından yapılmış, Class C sefalosporinazlar 1981 yılında Jaurin ve Grundstrom tarafından tanımlanmıştır. Oksasilini hidroliz eden Class D enzimler ise 1980'lerin sonunda diğer serin enzimlerinden ayrılmıştır (104). Günümüzde en yaygın olarak kullanılan sınıflandırma disiplinleri ise Ambler ve Bush-Jacoby Medeiros sınıflandırmalarıdır (106).

Ambler,  $\beta$ -laktamazları moleküler yapılarındaki aminoasit ve nükleotid dizilerindeki benzerliklerini dikkate alarak A, B, C ve D olmak üzere dört grupta toplamıştır. A, C ve D grubu  $\beta$ -laktamazlar serin  $\beta$ -laktamaz, B grubu  $\beta$ -laktamazlar ise metallo  $\beta$ -laktamazlardır (107).

**Sınıf A:** Öncelikle penisilinleri hidroliz eden ve aktif bölgelerinde serin aminoasit taşıyan  $\beta$ -laktamazlardır. Gram negatif bakterilerde bulunan TEM-1 enzimi bu gruba iyi bir örnektir.

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

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

**Sınıf D:** Oksasilini hidroliz eden serin  $\beta$ -laktamazlardır.

Bush-Jacoby-Medeiros'un fonksiyonel gruplandırmasında ise bu enzimler substrat profillerine ve biyokimyasal özelliklerine göre dört temel grup ve alt gruplara ayrılmıştır (100).

#### **Grup 1 (sefalosporinazlar):**

Bu grubun üyelerinin birçoğu kromozomal enzimlerdir ve indüklenebilme özelliğine sahiptirler. Moleküler sınıflamada sınıf C'de yer alırlar. Kromozomal AmpC

enzimleri dışında plazmid kontrolündeki FOX-1, MIR-1, LAT-1, BIL-1  $\beta$ -laktamazları da bu grupta yer almaktadır. Sefaloridin ve sefalotini penisilinden daha hızlı hidroliz ederler. Klavulanik asit ve sulbaktamdan etkilenmezler. Aztreonam ve kloksasilin tarafından inhibe edilirler. Karbapenem karşı ise duyarlıdırlar. *Salmonella* dışındaki hemen tüm Gram negatif bakterilerde kromozomal grup 1  $\beta$ -laktamazlar bulunur. *E.coli* izolatlarının %2'sinde AmpC enzimlerinin aşırı miktarda sentezi sonucunda yüksek düzeyde direnç oluşabilmektedir (108). Bu grupta yer alan enzimler büyük miktarlarda üretildikleri zaman, özellikle  $\beta$ -laktam girişinin azalmış olduğu bakterilerde karbapenem (özellikle de ertapenem) direncine sebebiyet verebilirler (109).

### **Grup 2 Serin B-Laktamazlar**

Fonksiyonel grubu 2 olan bu  $\beta$ -laktamazlar, moleküler sınıf A ve D içerisinde yer alırlar ve  $\beta$ -laktamazların en büyük grubunu oluşturmaktadırlar (110). Substrat profillerindeki farklılık nedeniyle bu grup bir kaç alt gruba ayrılmıştır.

**-Grup 2a:** Bu alt grupta klavulanik asite duyarlı olan ve penisilini hidroliz eden enzimler bulunmaktadır. *Staphylococcus aureus*'un enzimleri bu grup içerisinde yer almaktadır. Ayrıca *Bacillus cereus*'un kromozomal  $\beta$ -laktamazları, *Eikenella corrodens*, *Citrobacter amalonaticus* ve *Fusobacterium nucleatum*'da tanımlanan enzimler de bu gruptadır (100).

**-Grup 2b:** Bu gruptaki enzimler, penisilinler, sefaloridin ve sefalotin gibi birinci kuşak sefalosporinleri hidroliz ederler. Tazobaktam ve klavulanik asit tarafından inhibe edilirler. 1970 ile 1980'lerin başında plazmid aracılı  $\beta$ -laktamazlar olarak tanımlanmışlardır. TEM-1, TEM-2 ve SHV-1 enzimleri bu gruba dahildir (110).

**-Grup 2be:** Bu subgrup GSBL enzimlerini içermektedir. Bu geniş spektrumlu enzimler 2b sub grubundaki enzimlerin penisilin ve sefalosporinlere gösterdiği dirence ek olarak bir veya daha fazla oxiiimino-sefalosporin (seftazidim, sefotaksim ve aztreonam gibi) grubu antibiyotiği de hidrolize edebilmektedir. Subgrup 2be'de ilk ve en büyük oluşum TEM-1, TEM-2 ve SHV-1'de görülen aminoasit değişimleri ile spektrumun genişlemesi ve benzilpenisilinlerle sefaloridinlere karşı hidrolitik aktivitenin azalması şeklinde gerçekleşmiştir. Böylece TEM ve SHV enzimleri birleşerek *Kluvyera* türlerinde

doğal olarak görülen CTX-M tipi enzimleri oluşturmuşlardır (111, 112). Özellikle *Klebsiella* ve *E.coli* suşlarında yaygın olarak bulunmaktadır (100).

**-Grup 2br:** Klavulanik asitten etkilenmeyen, GSBL'ler bu gruba alınmıştır. TRC-1 enzimi ve TEM-30 dan TEM-36'ya kadar olan TEM enzimleri bu gruptadır.

**-Grup 2c:** Grup 2c içinde karbenisilini hidroliz eden, klavulanik asite duyarlı enzimler yer almaktadır. PSE-1, PSE-3, PSE-4  $\beta$ -laktamazları, *Aeromonas hydrophila*'nın AER-1 enzimi, *Moraxella catarrhalis*'in BRO-1 ve BRO-2 enzimleri, *Vibrio cholerae*'nin SAR-1 enzimi de bu gruptadır.

**-Grup 2d:** Bu grup, kloksasilini penisilinden daha hızlı hidroliz eden  $\beta$ -laktamazları içermektedir. OXA enzimleri (OXA-14'den OXA-12'ye kadar) bu gruptadır (113). Bu enzimlerin önemi, klavulanik asit ve sulbaktama dirençli olmalarıdır (100).

**-Grup 2de:** Yeni bir alt gruptur. Kloksasilin, oksasilin ve karbapenemleri hidrolize ederler. Bu grupta yer alan enzimler OXA-10 enziminin aminoasitlerindeki değişim sonrasında meydana gelmektedir. Özellikle Türkiye ve Fransa'da *P. aeruginosa*'dan izole edilmiştir

**-Grup 2df:** Karbapenemi hidrolize eden OXA enzimlerdir. Kromozal olarak *Acinetobacter baumannii* den tespit edilmiş olmasına karşın plazmid kaynaklı OXA-23 ve OXA-48 direnç genleri *Enterobacteriaceae* ailesinde gözlenmektedir (110).

**-Grup 2e:** Bu grupta bulunan  $\beta$ -laktamazlar da sefalosporinaz olmalarına karşın, grup 1'dekilerden farklı olarak klavulanik asit ile inhibe olmaktadırlar. *Bacteroides fragilis*'in CepA enzimi, *Bacteroides uniformis* ve *B. vulgatus*'un kromozomal CblA ve CfxA enzimleri bu gruptadır. *E. coli*'den izole edilen FEC-1 ile *Stenotrophomonas maltophilia*'nın L2 ve *Yersinia enterocolitica*'dan izole edilen Blal enzimleri bu grupta yer alan diğer enzimlerdir (100, 105).

**-Grup 2f:** Bu enzim grubu içerisinde serin içeren karbapenemazlar yer almaktadır. Bu grup enzimler klavulanik asit ile inhibe olmaktadır (108). Kromozom, plazmid veya integron kaynaklı olabilmektedir. Bu enzim grubunun örnekleri arasında *S.marcescens*'in SME-1 ve SME-2 enzimleri, *K. pneumoniae*'nin KPC-1, 2, 3 enzimleri, *E.cloacae*'nin NMC-A ve IMI-1 enzimleri ve *P. aeruginosa*'nın GES-2 enzimleri



bulunmaktadır. SME-1, IMI-1 ve NMC-A kromozomal karbapenemazlardır. Plazmid aracılıklı serin karbapenemazların arasında ise KPC  $\beta$ -laktamazlar bulunmaktadır (32, 100).

**Grup 3:** Aktif bölgelerinde çinko ( $Zn^{2+}$ ) içeren metallo- $\beta$ -laktamaz enzimlerdir(MBL). Monobaktamlar hariç tüm  $\beta$ -laktamları ve karbapenemleri hidrolize edebilmektedirler. Klavulanik asit veya sülfonlar ile inhibe olmazlar; fakat EDTA gibi şelatör ajanlar ile inhibe olmaktadır. MBL kodlayan bla genleri kromozom, plazmid, integron gibi değişik genetik elementlerde bulunmaktadır. Bu enzim grubunda *B. fragilis*'in kromozomal CcrA  $\beta$ -laktamızı, *A. hydrophila* ve *B. cereus*'un kromozomal enzimleri, *P. aeruginosa*'nın VIM-1  $\beta$ -laktamızı, *Legionella gormannii*'nin indüklenebilir  $\beta$ -laktamızı, *S. marcescens*'in kromozomal IMP-1  $\beta$ -laktamızı ve *S. maltophilia*'nın indüklenebilir L-1  $\beta$ -laktamızı gibi enzimler bulunmaktadır. İmipenem dirençli *P. aeruginosa* suşlarının yaklaşık %20'si MBL enzimine sahiptir (32, 100, 108).

**Grup 4:** Ambler moleküler sınıflandırmasına göre tanımlanmayan grup enzimlerdir. Bu grupta yer alan enzimler klavulanik asit ile çok iyi inhibe olmayan küçük bir penisilinaz grubundan oluşmaktadır (100). (**Tablo 7**)

**Tablo 7:**  $\beta$ -laktamaz grupları ve genel özellikleri (114).

Bush-Jacoby-Medeiros grubu (1995)	Bush-Jacoby (2009)	Moleküler sınıflama	Tercih edilen substrat	İnhibitörleri		Örnek enzim
				KA veya TZB	EDTA	
1	1	C	Sefalosporinler	Hayır	Hayır	<i>E. coli</i> AmpC, P99, ACT-1, CMY-2, FOX1, MIR-1
Dahil değil	1e	C	Sefalosporinler	Hayır	Hayır	GC1, CMY-37
2a	2a	A	Penisilinler	Evet	Hayır	PC1

2b	2b	A	Penisilinler, erken sefalosporinler	Evet	Hayır	TEM-1,TEM-2, SHV-1
2be	2be	A	Geniş spektrumlu sefalosporinler, monobaktamları	Evet	Hayır	TEM-3, SHV-2, CTX-M-15, PER-1, VEB-1
2br	2br	A	Penisilinler	Hayır	Hayır	TEM-30, SHV- 10
Dahil değil	2ber	A	Geniş spektrumlu sefalosporinler, monobaktamları	Hayır	Hayır	TEM-50
2c	2c	A	Karbesilinler	Evet	Hayır	PSE-1, CARB-3
Dahil değil	2ce	A	Karbesilinler, sefepim	Evet	Hayır	RTG-4
2d	2d	D	Kloksasin	Değişken	Hayır	OXA-1, OXA- 10
Dahil değil	2de	D	Genişletilmiş spektrumlu sefalosporinler	Değişken	Hayır	OXA-11, OXA- 15
<b>Bush- Jacoby- Medeiros grubu (1995)</b>	<b>Bush- Jacoby (2009)</b>	<b>Moleküler sınıflama</b>	<b>Tercih edilen substrat</b>	<b>İnhibitörleri</b>		<b>Örnek enzim</b>
				<b>KA veya TZB</b>	<b>EDTA</b>	
Dahil değil	2df	D	Karbapenemler	Değişken	Hayır	OXA-23, OXA- 48
2e	2e	A	Genişletilmiş spektrumlu sefalosporinler	Evet	Hayır	CepA
2f	2f	A	Karbapenemler	Değişken	Hayır	KPC-2, IMI-1, SME-1
3	3a	B (B1)	Karbapenemler	Hayır	Evet	IMP-1, VIM-1, CcrA, IND-1

		B (B3)				L1, CAU-1, GOB-1, FEZ-1
3	3b	B (B2)	Karbapenemler	Hayır	Evet	CphA, Sfh-1
4	Dahil değil	Bilinmeyen				
<b>KA; Klavulanik asit, TZB; Tazobaktam</b>						

#### 2.5.4. Karbapenemlere Direnç Mekanizmaları

Karbapenemler geniş antibakteriyel etki spektrumlarına sahip olmaları, bakteriyel membranlardan hızla geçebilmeleri, AmpC ve GSBL enzimlerine karşı dayanıklı olma özellikleri nedeniyle özellikle çoklu dirençli Gram negatif bakterilerin etken olduğu enfeksiyonlarda ilk tedavi seçenekleri arasında yer almaktadırlar. Fakat, karbapenemlerin özellikle ampirik tedavide yaygın olarak kullanılması, karbapenemlere direnç gelişmesine neden olmuştur. Karbapenemlere karşı bilinen 3 etki mekanizması ile direnç gelişebilmektedir.

##### 1.)İlacın hücre içinde etkin konsantrasyona ulaşmaması

**1a) Porin değişimleri:** Özellikle *P. aeruginosa* suşlarında görülen temel direnç mekanizmasıdır. Bu suşlarda OprD'nin kaybı direnç gelişimine yol açmaktadır. Özellikle imipenem tedavisi sırasında OprD kaybı gelişir ve uygulanan 1 haftalık tedavi sonrası suşların yarısının OprD geninde mutasyon gözlenmiştir (115). *K. pneumoniae*'de gelişen karbapenem direnci ise plazmid aracılığı ile AmpC  $\beta$ -laktamazın varlığı ve porin kaybına bağlı olarak gelişir (116).

**1b) Aktif pompalama sistemlerinin indüklenmesi:** Gram negatif bakterilerin dış membranında bulunan enerji bağımlı kanallarla periplazmik alana giren antibiyotığın dışarı pompalanmasıdır. *E. coli*'de AcrA-AcrB-TolC, *P. aeruginosa*'da MexAB-OprM, MexCD-OprJ, ve *K. pneumoniae*'da Ram A mekanizmaları aktif pompalama ve karbapenem direncinin gelişimine örnektir (117).

## 2.)Hedef PBP değişimleri

PBP proteinlerinde görülen mutasyonlar ve/veya PBP transkripsiyonundaki azalmalar da karbapenem dirençli fenotiplerin ortaya çıkması ile sonuçlanmaktadır. *A. baumannii*, *P. aeruginosa*, *P. mirabilis* ve *Rhodococcus equi*'de PBP ekspresyonunun azalması, karbapenem direnci ile sonuçlanmaktadır. Buna ek olarak PBP'leri oluşturan aminoasitlerdeki yer değişiklikleri ya da yeni bir PBP kazanılması *Haemophilus influenzae*, *Bacillus fragilis*, *P. mirabilis*, *E. coli*, *Listeria monocytogenes*, *Staphylococcus aureus*, *Enterococcus faecium*, *Streptococcus pneumoniae* ve *P. aeruginosa*'da karbapenem direncine yol açmaktadır (3).

## 3.)Karbapenemleri hidroliz eden enzimlerin varlığı (karbapenemazlar)

### 2.5.4.1. Karbapenemazlar

KDE, CDC tarafından ilk olarak  $\geq 1$  karbapeneme duyarlı olmayan ve 3.kuşak sefalosporinlere dirençli olan enterik bakteriler olarak tanımlanmıştır. CDC'nin 2015 yılındaki güncellemesinde bu tanım revize edilmiştir. KDE, enterik bakterilerden herhangi birinin karbapenem antimikrobiyal ajanlardan herhangi birisine dirençli olması (orta düzey dirençliler hariç) veya karbapenemaz üretiminin dökümente edilmesi olarak tanımlanmıştır. Ayrıca, *Proteus mirabilis* gibi imipeneme karşı intrensek azalmış duyarlılığı olan enterik bakterilerin, imipenem dışındaki karbapenemlerden birine dirençli olması gerekmektedir (118).

Karbapenemazlar ilk olarak Gram pozitif basillerde tanımlandı. 1990'ların başına kadar tüm karbapenemazlar türe spesifik kromozomal olarak kodlanan  $\beta$ -laktamazlar olarak tanımlandılar (119). *Enterobacteriaceae* ailesi içerisinde tanımlanan ilk karbapenemaz ise 1993'te bir *E. cloacae* klinik izolatında bulunan kromozomal NmcA'dır (120). Daha sonra karbapenem dirençli *Enterobacteriaceae* ailesi üyeleri plazmitçe kodlanan karbapenemaz genlerinin kazanılmasının sonucu olarak dünya genelinde raporlanmıştır (119).

Karbapenemleri hidrolize eden karbapenemazlar, karbapenem kullanımındaki artışa paralel olarak son yıllarda artan oranlarda bildirilmektedir. Karbapenemazlar kazanılmış (ekstrinsik) veya kromozomal kaynaklı (intrinsik) olarak bulunabilmektedirler (121). **(Tablo 8).**

**Tablo 8:** Karbapenemazların moleküler ve fonksiyonel sınıflandırılması

		Hidroliz profilleri <sup>a</sup>					Inhibisyon profilleri <sup>b</sup>			
Moleküler sınıf	Fonksiyonel grup	Enzim	Penisilinler	Dar spek. SS	Geniş Spek. SS	Aztreonam	Karbapenemler	EDTA	Klavulanik asit	
A	f	NMC	+	+	+	+	+	-	+	
		IMI	+	+	+	+	+	-	+	
		SME	+	+	±	+	+	-	+	
		KPC	+	+	+	+	+	-	+	
		GES	+	+	+	-	±	-	+	
B	3	IPM	+	+	+	-	+	+	-	
		VIM	+	+	+	-	+	+	-	
		GIM	+	+	+	-	+	+	-	
		SPM	+	+	+	-	+	+	-	
D	d	OXA	+	+	±	-	±	-	±	
<sup>a</sup> sembolleri:		+; kuvvetli hidroliz,			±; zayıf hidroliz,		-; hidroliz yok			
<sup>b</sup> sembolleri:		+; inhibisyon mevcut,			±; değişken inhibisyon,		-; inhibisyon yok			

### Kromozomal (doğal) karbapenemazlar

*Stenotrophomonas maltophilia*, *Aeromonas hydrophila*, *Aeromonas salmonicida*, *Aeromonas sobria*, *Myroides (Flavobacterium) odoratum*, *Chryseobacterium (Flavobacterium) meningosepticum*, *Legionella gormanii*, *Chryseobacterium indologenes* ve *Bacillus cereus* gibi bakterilerin kromozomları tarafından kodlanırlar. Moleküler sınıflandırmada Ambler Sınıf B'ye ait olan karbapenemazlar bu grup içinde yer almaktadırlar. Doğal karbapenemazların tümünde çinko iyonlarına bağlı bir katalitik aktivite vardır ve EDTA ile birleştiklerinde bu etkilerini kaybetmektedirler (122).

### Kazanılmış karbapenemazlar

Karbapenemlerin dışında diğer  $\beta$ -laktam grubu antibiyotikleri de hidroliz edebilme özelliklerine sahiptirler. Ambler sınıf A, B ve D  $\beta$ -laktamaz üyesidirler (123).

## **Sınıf A karbapenamazlar:**

Fonksiyonel sınıflandırmada Grup 2f'de yer alan Sınıf A serin karbapenamazların en sık rastlanan üyesi KPC (*Klebsiella pneumoniae* carbapenemase) olup SME (*Serratia marcescens* enzyme), IMI (İmipenemhydrolyzing  $\beta$ -laktamase), NMC (Not metallo-enzyme carbapenemase) gibi başka üyeleri de mevcuttur. İlk olarak 1980'li yıllarda tanımlanan bu enzimlerin tamamı, geniş bir spektrumda  $\beta$ -laktam hidrolizi yapabilmekte olup spektrumlarının içine karbapenemlerin yanı sıra sefalosporinler, penisilinler ve aztreonam da girmektedir ve klavulanat ile tazobaktam tarafından inhibe olmaktadır (119, 124).

### **Sınıf A - Plazmidle kodlanan enzimler**

#### **1.) KPC enzimi**

Sınıf A karbapenamazlar 1980'li yıllardan beri sporadik olarak klinik izolatlardan tanımlanmakta olup çoğu kromozomal enzimler olarak bilinmekteydi. İlk defa 1996 yılında Kuzey Karolina'da izole edilen bir izolatta plazmit üzerinde taşınan KPC-1 geni tanımlanmıştır (125). Her ne kadar ilk defa izole edildiği mikroorganizmaya atfen KPC ismi verilmiş olsa da bu enzim, farklı bazı *Enterobacteriaceae* üyelerinde de görülebilmektedir (126). KPC-1'in tanımlanması ile başlayan bu karbapenamaz tipinin KPC-24'e kadar farklı varyantları bildirilmiş olup (Lahey Clinic web sayfası, erişim tarihi: 14/07/2015), ülkeler ve kıtalar arası yayılım göstermiştir (127). *Klebsiella pneumoniae* carbapenemase" KPC 'yi diğer alt grup 2f enzimlerinden ayıran iki önemli özellik mevcuttur. Bunlar substrat hidroliz spektrumlarının sefotaksim gibi aminothiazoloksim sefalosporinleri içermeleri ve KPC enzimlerinin plazmidlerle taşınmalarıdır. KPC  $\beta$ -laktamazlar özellikle *K. pneumoniae*'da sıklıkla görülmekle birlikte *Enterobacter cloaca*, *Citrobacter freundii*, *E. coli* ve *Salmonella spp.*'de bildirilmiştir (126, 128). KPC enzimi aktarılabılır plazmidlerin üzerinde bulunur ve tüm  $\beta$ -laktamlara direnç oluşmasını sağlar (125).

KPC suşundaki karbapenamazların birkaç sebepten ötürü tespiti zordur. Bu sebeplerden birincisi, imipenemin minimum inhibitör konsantrasyonunun (MİK) inokulum yoğunluğundan önemli derecede etkilenmesi, düşük inokulumun KPC üreten organizmalarda imipenem için duyarlı MİK değerlerine neden olurken, yüksek

inokulumun imipenem ve meropenemin MIK düzeylerinde yükselmeye neden olması, ikincisi, GSBL ve AmpC  $\beta$ -laktamazlar ile birlikte porin değişiklikleri veya kaybından dolayı membran geçirgenliğinin azalması, üçüncüsü ise KPC sonuçlarının otomatize sistemler, mikro-broth dilüsyon ve E-test metodları arasında tutarsız sonuçlar vermesidir. Bu nedenlerden dolayı rutin laboratuvar testlerinde KPC taşıyan suşlar her zaman dirençli olarak saptanmayabilmektedir (119). Sınıf A karbapenemazların tesbit edilebilmesi açısından boronik asit (3 aminophenyl boronic acid) fenotipik testi, birçok çalışmada önerilmiştir (129). Bu testin KPC pozitif suşların belirlenmesinde oldukça başarılı olduğu belirlenmiştir; fakat ticari olarak hazır bir şekilde elde edilebilir olmaması ve sonuçların değerlendirilmesi için bir güne daha ihtiyaç duyulması sebebiyle rutin olarak kullanımda tercih edilmemektedir (130).

KPC enzimi üreten bakteriler sadece birkaç antibiyotiğe duyarlı olup bu tip organizmaların etken olduğu kan dolaşımı enfeksiyonları yüksek mortalite göstermektedir. Tedavide kullanılabilecek seçenekler genel olarak kolistin, tigesiklin ya da aminoglikozitlerle sınırlı olmaktadır (127). Yeni araştırmalarda elde edilen bulgular kolistin, tigesiklin ve meropenemi içeren kombine terapilerin bakteriyemik hastalarda hayatta kalma oranlarını artırabileceğini göstermektedir (131).

## **2.) Guiana extended-spectrum (GES) enzimi**

Daha önce Fransız Guyanası'nda (Güney Amerika) hastanede yatış hikayesi bulunan bir yenidoğanda, 1998 yılında başka bir hastanede yatışı sırasında *K. pneumoniae* türü bir suş izole edilmiştir ve GES enzimi bu suшта tanımlanmıştır. Bu enzime, köken aldığı yere atfen GES-1 (Guiana extended-spectrum) adı verilmiştir (132). Enzimlerin GES ailesini kodlayan genler plazmidler üzerinde yer alan integronlarda lokalizedir. Penisilin ve genişlemiş spektrumlu sefalosporinler dahil geniş bir hidroliz spektrumuna sahiptirler (133). Hidroliz spektrumları 2001 yılında bir klinik *P. aeruginosa* izolatında tanımlanmış olan GES-2'nin bildiri mi ile imipenemi de içerecek şekilde genişletilmiştir. Düşük fakat ölçülebilir düzeyde imipenem hidrolize eden varyantlarının tespitinden sonra GES  $\beta$ -laktamazlar, Sınıf A karbapenemazlar grubu içerisine alınmıştır (134).

### **Sınıf A - Kromozomla kodlanan enzimler: SME, NMC VE IMI**

SME-1 (*Serratia marcescens* enzyme), ilk olarak 1982 yılında İngiltere’de toplanan örneklerden izole edilen iki tane *S. marcescens* izolatında saptanmıştır. Bunu, Amerika’da sporadik olarak bulunan ve SME-1 ile neredeyse aynı yapıya sahip olan SME-2 ve SME-3 enzimleri takip etmiştir. SME üreten *S. marcescens* suşlarının neden olduğu enfeksiyonlar, tekli izolatlar ya da en fazla 19 izolatlık küçük kümeler halinde bildirilmiştir (119).

IMI/ NMC-A enzimleri (imipenem-hydrolysing  $\beta$ -laktamase/ not metalloenzyme carbapenemase-A), IMI ve NMC-A olmak üzere iki subgruba ayrılmaktadır. NMC-A enzimi, iki IMI enzimi varyantından, sekiz aminoasitin yer değiştirmesi ile ayrılmaktadır (126). NMC “not metalloenzyme carbapenemase” ve IMI “imipenem-hydrolyzing  $\beta$ -lactamase” enzimleri ABD, Fransa ve Arjantin’de *E.cloaca* izolatlarında nadir olarak tespit edilmişlerdir (135). NMC-A ve IMI 1’in amino asit benzerliği % 97 iken, SME 1 ile benzerlikleri yaklaşık %70 bulunmuştur (136).

Saflaştırılmış SME, NMC ve IMI enzimlerinin biyokimyasal değerlendirilmelerinde; bunların penisilinleri, erken kuşak sefalosporinleri, karbapenemleri, aztreonamı da içine alan geniş bir hidroliz spektrumuna sahip oldukları gösterilmiştir. Bu kromozomal  $\beta$ -laktamazlar, imipenem ve sefoksitine cevap olarak indüklenebilmektedirler (119).

### **Sınıf B karbapenemazlar (Metallo- $\beta$ -Laktamazlar)**

Bu grupta yer alan  $\beta$  -Laktamazlar ayrıca MBL şeklinde bilinmektedirler.  $\beta$ -laktam halkada yer alan amid yapıdaki bağları serin  $\beta$ -laktamaz enzimlerinden farklı bir şekilde hidrolize uğratmaktadır. Çinko iyonları enzimin sabit aktif bölgesinde bulunarak aktivitesini düzenlemektedir. Bundan dolayı metal şelatör görevi gören EDTA tarafından inhibe edilmektedir. Aktif bölgesinde yer alan oluklar, geniş spektrumda bir  $\beta$ -laktamaz aktivite elde etmesini sağlar. Fakat yine de MBL enzimlerince hidrolize uğramayan aztreonam, tedavi amaçlı kullanılabilme özelliği göstermektedir (137). Bu enzimlerin önemli özelliği, monobaktamlar haricinde, karbapenemler dahil olmak üzere bütün  $\beta$ -laktam antibiyotikleri hidroliz edebilmeleridir. Bu enzim ilk olarak 1960 yılında *Bacillus cereus*’ta, 1980’li yılların başında ise *Stenotrophomonas maltophilia*’da gösterilmiştir.



Daha sonra imipenemi hidrolize eden MBL enzimi *Aeromonas hydrophilia* ve *Bacillus fragilis*'te tanımlanmıştır (119, 123).

*Enterobacteriaceae* suşlarında bildirilmiş olan sporadik ve epidemik enfeksiyon vakaları önemli bir sağlık sorunu olmaya başlamıştır. *Enterobacteriaceae* suşlarındaki sıklıkla üretilen MBL'ler; New Delhi MBL-1 (NDM-1), Verona integronencoded MBL (VIM), Imipenemase (IMP) tip  $\beta$ -laktamazlardır(119). Metallo- $\beta$ -laktamazların hem doğal hem de kazanılmış çeşitleri mevcuttur. Doğal metallo- $\beta$ -laktamazlar kromozomlar tarafından kodlanır ve *Aeromonas hydrophilia*, *Stenotrophomonas maltophilia*, *Chryseobacterium spp.te* tanımlanmıştır (138). Kazanılmış MBL ise, türler ve cinsler arasında transfer olabilen büyük plazmidler üzerinde yer alan integronlar tarafından kodlanır (139). Bu metallo- $\beta$ -laktamaz ailesinin en sık görülen tipleri VIM, IMP, GIM ve SIM enzimleri olup gen kasetlerine dahil olan değişik integron yapıları olarak karşımıza çıkmaktadır. Bu integronlar, plazmid ya da transpozonlarla ilişkilendiğinde, bakteriler arasında kolayca transfer edilebilmektedir (119).

**IMP-1**, ilk tanımlanan MBL olup 1991 yılında Japonya'da bir *S. marcescens* izolatında tespit edilmiştir (140). IMP-1, diğer pek çok MBL gibi genişlemiş spektrumlu sefalosporinleri (sefotaksim, seftazidim, sefepim) ve karbapenemleri de içine alacak şekilde geniş bir substrat profiline sahiptir. Sadece monobaktamları hidrolize edememektedir. IMP-1 geni, *Enterobacteriaceae* dışında pek çok Gram negatif türünde de saptanmıştır. IMP genleri sıklıkla büyük boyutta olan plazmitler üzerinde yerleşmektedir (141). İlk tanımlandığı günden zamanımıza kadar 50'nin üzerinde varyantı bildirilen IMP genleri yüksek prevalansta olmasa bile dünya genelinde yayılım göstermiştir (142).

**VIM**, ilk olarak 1997 yılında Verona'da (İtalya) bir *P. aeruginosa* suşunda tanımlanmıştır (143). Daha sonra *Enterobacteriaceae*'ye, özellikle de *K. pneumoniae* türüne yayılım göstermiştir. VIM karbapenemaz üreticisi *K. pneumoniae* izolatları, *KPC* üreticileri kadar olmasa da dünya genelinde giderek artan sayıda raporlanmaktadır (142).

**NDM (New Delhi B-Laktamaz) enzimleri**, günümüzde metallo  $\beta$ -laktamaz enzimler arasında dünyada en çok ilgi gören, en son keşfedilen olan enzimlerdir. NDM enzimleri adını İsveç'te daha önce Hindistan'ın New Delhi kentinde hospitalize edilerek

takip edilen bir hastadan 1998 yılında keşfedildiği için alır (144). NDM-1 plazmidi bakteriler arasında doğal olarak taşınabilen ve karbapenemlerin de dahil olduğu tüm antibiyotiklere direnç kazandıran bununla birlikte sadece fosfomisin, tigesiklin ve kolistine sınırlı duyarlılık özelliği olan bir plazmidtir. NDM-1 üreten izolatlar sıklıkla *K. pneumoniae* izolatlarında saptanmasına rağmen son yıllarda toplum kökenli *E. coli* izolatlarında sıklıkla tespit edilmektedir. En sık izole edildiği enfeksiyonlar üriner sistem enfeksiyonlarıdır (145, 146).

### **Sınıf D karbapenemazlar (Oxa B-Laktamazlar)**

Öncelikli olarak penisilinden daha çok oksasilini hidrolize etmelerinden ötürü OXA-tipi enzimler olarak anılırlar. Bu gruptaki enzimler sulbaktam, klavunat veya tazobaktam gibi  $\beta$ -laktamaz inhibitörlerinden etkilenmektedirler. OXA karbapenemazları, *Acinetobacter baumannii* ve *Enterobacteriaceae* üyelerinde (özellikle *E. coli*, *K. pneumoniae*, ve *E. cloacae*) tanımlanmıştır (136). Bu karbapenemazlar Bush ve Jacoby'nin 2010 yılında yaptıkları sınıflandırmada 2df grubunda yer alıp karbapenemaz aktivitesi bulunan OXA (okzasiliniz) enzimleri olarak tanımlanmışlardır (110). Bu aile içerisinde yer alan en önemli enzimler: OXA-23, 24, 27, 25, 26, 40, 48, 51, 58, 66, 69 ve 143'tür. Bu enzimlerin inhibitörü NaCl'dir. Genel olarak kromozomda kodlanan ve *A. baumannii* izolatlarında görülen bu genlerden OXA-23 ve OXA-48'in aynı zamanda plazmidlerle de taşınabildiğini gösteren çalışmalar mevcuttur (110, 121, 136). OXA-48` ler ilk olarak Poirel ve arkadaşları (ark.) tarafından ülkemizden izole edilen bir suşta tanımlanmıştır (147). İlk karbapenemaz aktivitesi gösteren OXA  $\beta$ -laktamaz 1993'te Paton ve ark. tarafından tanımlanmıştır. Bu enzim İskoçya'da 1985 yılında bir hastadan izole edilen çoklu dirençli *A. baumannii*'den elde edilmiştir. Biyokimyasal karakteri EDTA ve klavulanik asitle zayıf inhibe olan  $\beta$ -laktamazlardır. İmipenem hidrolizi spektrofotometrik olarak ölçülemez fakat mikrobiyolojik yöntemlerle kolayca belirlenmiştir. Bu enzim ARI-1 (imipeneme dirençli *Acinetobacter*) olarak tayin edilmiş, büyük bir plazmid üzerinde olduğu gösterilmiş ve daha sonra OXA-23 olarak adlandırılmıştır (148).

OXA  $\beta$ -laktamazların aminoasit sekanslarında geniş bir oranda varyasyonlar bulunmaktadır. Karbapenemi hidroliz etme aktivitesi gösteren gruplar arasında % 40- 70 arası aminoasit benzerlikleri bulunduğu gözlenmiştir. Karbapenem hidroliz etme

aktivitesi göstermeyen OXA  $\beta$ -laktamazlarda ise aminoasit benzerliklerinin %18'e kadar azaldığı görülmüştür (149).

Bu grubun en önemli enzimi OXA-48 ve varyantlarıdır. İlk izole edildiğinde yayılımı ülkemizle sınırlı kalacağı düşünülen bu enzim artık tüm dünyada da sıklıkla bildirilmektedir. OXA-162, 163, 181, 204 ve 232 OXA-48'in tanımlanmış olan varyantlarıdır. Avrupa'daki yayılımdan tek başına 62kb'lık bir konjugatif plazmit olan IncL/M plazmidi sorumludur (150).

Yapılan çalışmalarda OXA-48  $\beta$ -laktamazın dar bir hidroliz profili olduğu, bununda penisilinleri, imipenem, sefalotin ve daha düşük bir oranda da sefotaksim, seftazidim, sefepim ve sefpiromu içerdiği gösterilmiştir (120, 151). OXA-48'in imipenem için olan katalitik aktivitesinin OXA-40'tan 10 kat, KPC-1'den üç kat daha fazla olduğu raporlanmıştır. Meropenem hidrolizinin ise diğer OXA (OXA-24, OXA-25, OXA-26 gibi)  $\beta$ -laktamazlarda olduğu gibi çok düşük bir seviyede olduğu tespit edilmiştir (121, 152).

OXA-48  $\beta$ -laktamazının diğer karbapenem hidrolize eden oksasilinazlardan çok daha yüksek bir ölçüde, neredeyse KPC-1 enzimine yakın bir düzeyde karbapenemleri hidrolize ettiği saptanmıştır (121).

Çoğu OXA-48 benzeri karbapenemaz üreticilerinin geniş spektrumlu sefalosporinlere direnç göstermemesi ve karbapenemlere de sadece azalmış duyarlılık göstermesi nedeniyle fark edilmeleri ve saptanmaları zor olmaktadır. Yayılımlarını kontrol etmek ve önlemek için uygun tarama ve saptama yöntemlerine ihtiyaç olduğu gözükmektedir (153).

#### **2.5.4.2. Dünyada ve ülkemizde karbapenemaz epidemiyolojisi**

Günümüzde  $\beta$ -laktamazlara karşı var olan ilgi özellikle *Enterobacteriaceae*'de karbapenemazlara yöneldi. GSBL, Avrupa (Almanya) ve Güney Amerika (Arjantin)'da aynı zamanda ortaya çıkarken karbapenemazlar genel olarak Asya (Japonya ve Hindistan) ve Kuzey Amerika (ABD)'de görülmeye başlandı. *Enterobacteriaceae* ailesinde, sınıf A karbapenemazlar (KPC enzimleri), 1996'da Kuzey Carolina (ABD)'da ortaya çıktı ve sonra Avrupa'ya yayıldı. Sınıf B karbapenemazlar, *E. coli*'de VIM-1 olarak Yunanistan'da ortaya çıktı, hızla *K. pneumoniae*'lar arasında yayıldı ve diğer Avrupa

ülkeleri yanı sıra bu ülkede de endemik hale geldi. Sınıf D'de yer alan OXA-48 Türkiye'de *K. pneumoniae*'da görüldü ve diğer Akdeniz ülkelerine de yayıldı. Günümüzde *Enterobacteriaceae* ailesindeki karbapenemazlar başlıca *K. pneumoniae*'da ve daha az olarak *E. coli* ve diğer enterik bakteri türlerde, Güney Avrupa ve Asya'da yüksek bir prevalansla bulunur (154).

Ülkemizin karbapenemlere dirençli izolatlarla ilk tanışması 2001 yılında İstanbul Çapa Hastanesinde izole edilen *K. pneumoniae* 11978 suşu ile idi (121). Bu izolat tüm dünyada rapor edilen karbapeneme dirençli okzasilinaz üreten ikinci *Enterobacteriaceae* suşuydu. 2003 yılında ise Elazığ'dan rapor edilen bir yenidoğan olgusunda karbapenemaz üreten *P. aeruginosa* suşu bildirilmiştir (155).

Bir diğer metallo- $\beta$ -laktamaz enzimi olan IMP ise ülkemizde ilk olarak Aktaş ve ark. tarafından 2006 yılında nöroblastomalı, 1 yaşındaki bir çocuktan İstanbulda bir *K. pneumoniae* suşunda gösterilmiş, yapılan tiplendirme çalışmasında enzimin IMP-1 subtipine ait olduğu belirlenmiştir (156).

Klinik açıdan okzasilinazlara ve metallo  $\beta$ -laktamazlara oranla daha az tehlikeli olduğu kabul edilen A sınıfı karbapenemazlara baktığımızda ise en önemli tip olan KPC enzimi 2014 yılına kadar ülkemizden rapor edilmemiştir. Ancak tüm dünyada *K. pneumoniae* izolatlarında çok sık tespit edilen bu enzimin ülkemizde de var olabileceğini tahmin etmek güç değildir nitekim 2014 yılında Labarca ve ark. tarafından KPC-2 sentezleyebilen bir *K. pneumoniae* suşu bildirilmiştir (157). Ülkemizde en yaygın görülen enzim karbapenemaz OXA-48 olmakla birlikte farklı karbapenemazlar da bildirilmektedir. Bunlar arasında VIM-5, IMP-1, NDM-1 ve en son olarak da KPC-2 sayılabilir. Karbapenemazlar, tüm  $\beta$ -laktamlara dirence yol açmalarından dolayı endişeye neden olmaktadır. Karbapenemaz üreten suşlar genel olarak başka direnç mekanizmalarına sahip olduklarından dolayı çoğul dirençliliğe sahiptirler ve karbapenemaz üreten *Enterobacteriaceae* infeksiyonları artan mortalite oranlarıyla ilişkili olarak değerlendirilmektedir (158).

#### 2.5.4.3. Karbapenemaz üreten *Enterobacteriaceae* saptama yöntemleri

Karbapenemlerden herhangi birisine karşı azalmış duyarlılık (orta duyarlı/dirençli) varlığında ya da bir suş bir veya birden fazla üçüncü kuşak sefalosporine (sefotaksim, sefoperazon, seftazidim, seftriakson gibi) dirençli ise karbapenemaz varlığının araştırılması gerekmektedir. Ertapenem (10 µg) veya meropenem (10 µg) diskleriyle alınan zon çapları  $\leq 22$  mm ise karbapenemaz varlığından şüphe edilir (159).

Karbapenemaz saptama stratejisi, öncelikle karbapenemaz taraması aşamasını, bunu takiben de fenotipik ve genotipik doğrulama adımlarını içermektedir (160).

MBL aktivitesinin EDTA, tiyol bileşikleri (2-merkaptopropionik asit, sodyum merkptoasetik asit) ve dipikolinik asit gibi metal şelatörler ile inhibe olma özelliklerinden yararlanılarak bu enzimleri erken tanıyabilecek tarama amaçlı bazı basit fenotipik yöntemler geliştirilmiştir. Bunlar imipenemli veya seftazidimli EDTA veya 2-merkaptopropionik asit (MPA) disklerini kullanan çift-disk sinerji testi, MBL E-test, seftazidim veya imipenemli EDTA kombine disk testi ve imipenemli EDTA kullanan mikrodilüsyon testleridir (161).

Karbapenemaz üreticilerinde karbapenem MİK değerleri, geniş bir aralıkta dağılım göstermektedir ve bazı suşlar, güncel CLSI (Clinical and Laboratory Standards Institute) ve EUCAST (The European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing) klinik sınır değerlerine göre duyarlı olarak saptanabilmektedir (**Tablo 9-10** ). Karbapenemaz saptanması için spesifik testler uygulanacak klinik izolatları belirleyebilmek için, karbapenemaz üreticilerinin MİK dağılım aralıklarını dikkate almak gereklidir (160) .

**Tablo 9 :** EUCAST 2018'e Göre *Enterobacteriaceae* İçin Güncel Karbapenem Duyarlılık Sınır Değerleri

Mikroorganizma	Karbapenem	MİK sınır değeri (mg/L)		Zon çapı sınır değeri (mm) 10 µg disk ile	
		S ≤	R >	S ≥	R <
<i>Enterobacteriaceae</i>	Doripenem	1	2	24	21
	Ertapenem	0.5	1	25	22
	İmipenem	2	8	22	16
	Meropenem	2	8	22	16

**MİK:** minimum inhibitör konsantrasyon; **S:** duyarlı; **R:** dirençli

**Tablo 10:** CLSI 2018'e göre *Enterobacteriaceae* için güncel karbapenem duyarlılık sınır değerleri

Mikroorganizma	Karbapenem	MİK sınır değeri (µg/L)		Zon çapı sınır değeri (mm) 10 µg disk ile	
		S ≤	R ≥	S ≥	R ≤
<i>Enterobacteriaceae</i>	Doripenem	1	4	23	19
	Ertapenem	0.5	2	22	18
	İmipenem	1	4	23	19
	Meropenem	1	4	23	19

**MİK,** minimum inhibitör konsantrasyon; **S:** duyarlı; **R:** dirençli

EUCAST (2015) önerilerine göre *Enterobacteriaceae*'de imipenem ve meropenem için MİK değerleri 8 mg/L'nin üzerinde iken dirençli kabul edilirken ertapenem için bu değer 1 mg/L'nin üzeri olarak belirlenmiştir. Halbuki CLSI (2015) kılavuzunda bu değerler imipenem ve meropenem için 4 µg/mL'ye eşit veya üzeri ve ertapenem için 2 µg/mL'ye eşit veya üzeri olarak bildirilmiştir. İki kılavuz arasında

bulunan farklılıklar sınır değerini belirlemek amacıyla kullanılan değişik farmakodinamik/ farmakokinetik yaklaşımlardan kaynaklanmaktadır (162).

EUCAST, karbapenemaz taramak amacıyla duyarlılık ve özgüllük arasındaki denge en iyi olan meropenem kullanımını önermektedir (5). Kılavuzda OXA-48 üreticisi bazı suşlarda meropenem için inhibisyon zon çaplarının 26 mm'ye kadar çıkabildiği ifade edilmiştir. Dolayısıyla ülkemiz gibi OXA-48 üreticilerinin endemik olduğu yerlerde meropenem tarama sınır değerinin <27 mm olarak kullanımı uygun olacaktır (119).

### **Modifiye hodge testi (MHT)**

MHT yoruma açık, zaman bağımlı bir test olmasına rağmen ulaşılabilir ve laboratuvara fazla maliyet getirmeyen bir test olmasından ötürü sıkça kullanılan bir testtir. Testin duyarlılığı ve özgüllüğü bakterinin ürettiği karbapenemaz türüne göre farklılık göstermektedir. Enzim genotipini belirlemek için ileri çalışmalar gerekmektedir (163). MHT CLSI kılavuzuna göre %95-100 oranında duyarlıdır. Fakat kişiselleşebilecek bir yöntem olması, testi yorumlama sırasında güçlükler sebeple olabilir. Ayrıca KPC, OXA, MBL enzimlerinin ayırımını ortaya koyamamasından dolayı epidemiyolojik olarak kullanışlı bir test değildir ve özgüllüğü düşüktür. GSBL ya da AmpC üreten suşlarla azalmış ya da kaybolmuş porin salınımı yalancı pozitif sonuçlara sebebiyet verebilir (129).

### **Kombine disk difüzyon metodu**

Kombine disk metodu fazla maliyetli olmayan, ulaşılabilir, mekanizmasından ötürü teste tabi tutulan bakterinin genotipi hakkında da bilgi verebilen bir testtir. Kombine disk sinerji yöntemi, yüksek duyarlılık ve özgüllüğe sahip olması, düşük maliyetli olması, ulaşılabilir laboratuvar pratiğine sahip olması ve enzim sınıflandırılmasını sağlayan bir yöntem olmasından dolayı yaygın olarak kullanılma potansiyeli göstermektedir (163).

### **Çift disk sinerji testleri (ÇDST)**

Amaç imipenem inhibisyon zonunun EDTA varlığında genişleyip genişlemediğini tesbit ederek MBL pozitif bakteri izolatlarını tanımlamaktır (164).

### **Karbapenem inaktivasyon metodu**

Standardizasyona ihtiyaç gösteren yeni fenotipik bir yöntemdir. Karbapenemaz üretimi test edilecek suşla birlikte inkübasyona bırakılan karbapenem diskinin, bakterinin enzimiyle inaktivasyonunun fenotipik olarak gösterilmesini baz alan, maliyeti düşük ve temel laboratuvar pratiğinde ulaşılabilir olan bir testtir. Suda hazırlanan şüpheli bakteri süspansiyonuna meropenem diski atılıp iki saat inkübasyona bırakılır. İki saatin sonunda süspansiyon içindeki disk alınır ve karbapenem duyarlı standart suşun (*E. coli* ATCC 25922) yayıldığı MHA agar plağına konur. Altı saatlik bir inkübasyon döneminden sonra normalde *E. coli* suşunun etrafında inhibisyon zonu oluşması beklenirken, test edilen bakteride karbapenemaz varlığında inaktive olan meropenem diski *E.coli* suşunda inhibisyon zonu oluşturamaz. Böylece test edilen bakteride, karbapenemaz üretiminden bahsedilir (163).

### **Matriks ile desteklenmiş lazer desorpsiyon/iyonizasyon uçuş zamanı kütle spektrometresi (MALDI-TOF MS)**

Bu yöntem, bakteri ve fungusların identifikasyonunda kullanılan, araştırma laboratuvarlarında ve rutin diagnostik pratiğinde yaygınlaşmaya başlamış olan analitik bir yöntemdir. Lazer ile küçük kütlelere ayrılmış olup iyonize olan moleküllerin uçuş paterninin analizine dayanmakta olan bu yöntem ile bakteride karbapenemaz varlığı söz konusu ise karbapenem kullanılarak hidrolitik ürünlerin analizi sayesinde kısa sürede karbapenemaz üretimini saptayabilme özelliğine sahiptir (165, 166). Ghebremedhin ve arkadaşlarının yaptıkları çalışmada dirençli bakteriler katı besiyerindeki koloniden direkt olarak ve kan kültürü şişelerine ekim yapıp bu şişelerden örnek alarak çalışılmış ve katı kültürden alınan örneklerde karbapenem hidrolizini saptama oranı *Enterobacteriaceae* suşları için % 100 olarak bulunmuştur. Ayrıca kan kültürü şişelerinden alınan örneklerde ise duyarlılık % 96 olarak belirtilmiştir. Testlerin 1-4 saat gibi bir sürede sonuçlandığı belirtilmiştir. Yüksek duyarlılık ve özgüllüğe sahip olması, test süresinin kısa olması, dolaşım sistemi infeksiyonları gibi hayati infeksiyonlarda kan kültürü şişesinden kısa sürede direnç analizi yapabilme potansiyeli gibi birçok avantajı testi kullanışlı kılan özelliklerdir (166).



## **Gradient testleri ve E-test (Epsilometer test)**

Gradyent testi, dilüsyon testleri ve disk difüzyon testlerinin bazı özelliklerini barındıran duyarlılık testidir. Ülkemizde E-test (Bio-Merieux), M.I.C.E.( Minimum İnhibitory Concentration Evaluator) testleri (Oxoid) ve MİK test strip (Liofilchem) olmak üzere farklı ürünler bulunmaktadır. Bu testlerin en önemli avantajı, 150 mm'lik bir agar plağı üzerinde beş farklı antimikrobik ajan için MİK değerlerini belirleyebilme özelliği olmasıdır. Çalışılacak izolat için EUCAST ve CLSI standartlarında önerilen besiyerleri, inkubasyon koşulları, test edilecek olan antibiyotikler ve kalite kontrol ATCC (American Type Culture Collection) izolatları belirlenir.

### **E- test nasıl yapılır ve nasıl değerlendirilir?**

#### **1-)Test plaklarının inokülasyonu**

İnokulum süspansiyonu hazırlandıktan sonra 15 dakika içinde MHA'ya (Mueller Hinton Agar) inoküle edilmelidir. Agara ekim yapılmadan önce besiyeri yüzeyinin tamamen kuru olduğundan emin olunmalıdır. Steril pamuklu eküvyon inokulum süspansiyonuna batırılıp fazla sıvının bırakılmasından sonra inokülasyon işlemine geçilir. Tüm agar yüzeyine yaklaşık 60 derecelik açılarla 3 kez yayma yapıldıktan sonra eküvyon son olarak plağın çevresinde gezdirilir. Bundan sonra ise şeritler 15 dakika içinde yerleştirilmelidir. Nemin absorbe olması için şeritler yerleştirilmeden önce 3-5 dakika beklenmelidir.

#### **2-)Gradyent Test Şeritlerinin Plaklara Yerleştirilmesi**

Derin dondurucudan çıkarılan şeritler oda ısısına geldikten sonra, daha önceden belirlenmiş olan listeye göre, agar yüzeyine yerleştirilir. Paketi açılıp kullanılmamış olan şeritler nemden korunacak şekilde kapağı sıkı kapanabilen tüplere konularak saklanmalıdır.

♣ Agar yüzeyinin tamamen kuru olmasına dikkat edilmeli ve şeritler aplikatörle veya bir ince uçlu pensetle uç tarafından tutularak alınmalı ve inokulumla kaplı agar yüzeyine yerleştirilmelidir. Yerleştirme sırasında en düşük konsantrasyonun bulunduğu uçtan başlayarak bırakılmalıdır. Şeritin agar yüzeyine tam olarak temas etmesi sağlanmalıdır.

♣ Hava kabarcığı oluşması halinde düşük konsantrasyondan yükseğe doğru pensetle hafifçe bastırarak kabarcığın çıkartılması sağlanmalıdır.

♣ 100 mm'lik plak kullanılması halinde 1-2 adet, 150 mm'lik plate kullanılması halinde ise en çok 6 şerit yerleştirilebilir.

♣ Şeritlerin birbirinden eşit uzaklıkta olacak şekilde ve merkezden dışa doğru ışımsal bir dizilim göstermesi sağlanmalıdır. Şerit agara temas eder etmez antimikrobik salınımı başlar, bu nedenle bir kez yerleştirildikten sonra asla yerinden kaldırılmamalı, başka bir yere konulmamalıdır

### **3-) İnkübasyon:**

Gradyent test şeritleri yerleştirilmesi işleminden sonra en fazla 15 dakika içinde plaklar kapakları alta gelecek şekilde  $35\pm 2$  °C inkübatöre kaldırılır (Güç üreyen bakteriler için %5 CO<sub>2</sub> ortamı gereklidir, bunlar CO<sub>2</sub> 'li inkübatörde veya mikroaerofilik kavanoz içerisinde inkübe edilir). Plaklar 16-18 saat inkübe edilir.

### **4-)Plakların okunması ve sonuçların yorumlanması:**

Plaklar uygun inkübasyonu takiben koyu renk bir zeminin üzerinde, aydınlık bir ortamda göz ile değerlendirilerek tam inhibisyon zonunun gradiyent test şeridine temas ettiği konsantrasyon belirlenir. Besiyerine kan eklenmişse (*Streptokoklarda* olduğu gibi), petri plağının kapağı açık olarak ve yansıyan ışık altında agar yüzeyinden ölçüm yapılır.

♣ Eğer zon şeridin altına kadar iniyorsa MİK değeri en düşük konsantrasyonun da altındadır.

♣ İnhibisyon zonunun iki değer arasında kalması durumunda yüksek olan değer MİK olarak kabul edilir.

♣ Kanlı besiyeri kullanıldığında hemoliz zonu değil, üremenin inhibe olduğu zon değerlendirmeye tabi tutulur.

♣ Eğer inhibisyon zonunun şeride temas ettiği noktalar iki tarafta farklı ise ve bu fark iki kat dilüsyonun yarısını aşmıyorsa yüksek olan sonuç değerlendirmeye alınmalıdır. Fark iki kat dilüsyonu aşarsa testin tekrarı gerekmektedir.

♣ İnokulum yoğun ise çift zon oluşabilir veya inhibisyon zonunun şeride temas ettiği yer çok belirgin olmayabilir. Bu sonuçlar geçersiz olup test tekrarlanmalıdır.

♣ İnhibisyon zonunun içinde üreyen iri koloniler dirençli varyantları veya karışık kültürü gösterir. Bu durumda test ilk plaktan inokulum alınarak tekrarlanmalıdır. Test sonucunun aynı çıkması durumunda zon içinde üreyen koloniler pasajlanıp tanımlanmalı ve test tekrarlanmalıdır. Bu tekrardan sonra da aynı sonucun alınması halinde sonuç dirençli olarak rapor edilmelidir.

♣ *Proteus spp.* test edildiğinde oluşan yayılma gözardı edilmeli, üreyen kolonilerin inhibisyon zonu dikkate alınmalıdır.

♣ B-laktam antibiyotikler test edildiğinde inhibisyon zonunun şeritle temas ettiği kısımda oluşabilecek iri koloniler direnci gösterebilir.

Sonuçların değerlendirilmesinde ölçülen MİK değeri, kullanılan standartta (CLSI/ EUCAST) yer alan sınır değer tablolarındaki MİK sınır değerleri dikkate alınarak duyarlı, orta derecede duyarlı ve dirençli olarak belirtilir (167, 168).

### **Boronatlara dayalı KPC tayini**

KPC üretiminin fenotipik tayini, KPC'lerin boronik asit ve türevlerine, örneğin fenilboronik asit (PBA) ve APBA duyarlılığına dayanmaktadır. Yapısal olarak  $\beta$ -laktamlara benzeyen boronat türevleri,  $\beta$ -laktamazların fonksiyonunun (özellikle sınıf C enzimler için) araştırılmasında uzun zamandan beridir kullanılmaktadır. 2008'de Pasteran ve arkadaşları boronatların tercihen KPC tipi  $\beta$ -laktamazları inhibe ettiğini gözlemledi. Bunu, çoğunluğu kombine disk testi formatındaki, bir karbapenemle kombine boronik asitlerin kullanıldığı tayin tekniklerini öneren çalışmalar takip etti (169).

### **Enzim ekstraksiyonu uygulaması**

Karbapenemaz aktivitesini belirlemede kullanılabilen bir diğer fenotipik yöntem ise enzim ekstraksiyonu uygulamasıdır. Sonikasyon yöntemiyle bakteriden elde edilen enzim karbapenem diski üzerine eklenerek enzim içeren kombine diskler oluşturulur. 0.5 McFarland standardına uygun hazırlanan *E. coli* ATCC 25922 süspansiyonları hazırlanan MHA agar plağına üzerine enzim içeren kombine karbapenem diski ve kombine olmayan

karbapenem diski yerleştirilir. 35° C'de 24 saat inkübe edildikten sonra enzim içeren diskin inhibisyon zon çapında içermeyen diskin inhibisyon zon çapına göre 2 mm ve daha fazla azalma olması karbapenemaz üretimi açısından anlamlı kabul edilir (5).

### **CarbaNP (Karbapenemase Nordmann-Poirel) Testi**

İzole edilmiş olan bakteri kolonilerine uygulanabilecek bu biyokimyasal test, imipenemin in vitro hidrolizine dayanır. İmipenem hidrolizi indikatörün pH değerindeki değişikliklerle (kırmızıdan sarıya/turuncuya) saptanır. Bu testin özgüllüğü ve duyarlılığı moleküler tekniklere benzer olarak %100'dür. Moleküler tekniklerin aksine, *Enterobacteriaceae* ailesi üyelerinde (Ambler A, B ve D sınıflarına ait) bilinen tüm karbapenemazların yanında yeni ortaya çıkmış olan karbapenemazları da tanımlayabilmektedir. Bu hızlı sonuç veren (<2 saat) pahalı olmayan ve kolay uygulanan teknik dünya çapında her laboratuvarında uygulanabilir. Ayrıca özel bir ekipman gerektirmez. KDE identifikasyonu için klinikte duyulan hızlı ve maliyet etkin yöntem ihtiyacını karşılayabilen bu yöntemin yakın zamanda referans teknik olabileceği düşünülmektedir (170).

### **Moleküler yöntemler**

Karbapenemazların tesbit edilmesinde genotipik yöntemler de kullanılmaktadır. Genotipik yöntemlerin fenotipik yöntemlere göre duyarlılığı daha yüksektir. Bakterinin karbapenemaz genini taşıyıp taşımadığını, enzimi ve tipini polimeraz zincir reaksiyonu (PZR) yöntemi ile saptamak mümkündür. DNA problemlerinin kullanılmasıyla da bu direnç genleri tesbit edilebilmektedir. Moleküler yöntemlerin altın standardı ise dizi analizi, klonlama yöntemleri ve protein analizidir (130).

### **2.6.Karbapenemaz Üreten Enterik Bakterilerde Risk Faktörleri**

Karbapenemaz üreten enterik bakterilerin bulaşı ve enfeksiyon gelişimi hususunda risk faktörlerini değerlendiren çalışmalarda, sağlık hizmeti alımı ve antimikrobiyal ajan kullanımını en önemli risk faktörleri arasında yer almaktadır (6). Patel ve arkadaşları Karbapenemaz dirençli *K.pneumoniae*'ya bağlı invaziv enfeksiyon gelişen kişiler -ön planda olası KPC üreticilerinde- karbapenem duyarlı *K.pneumoniae* üreten kişiler ile mukayese edildiğinde son zamanlarda yapılan organ veya kemik iliği transplantasyonu, mekanik ventilasyon kullanımı, antimikrobiyal maruziyeti, uzun süreli hastanede kalış

süresi bağımsız risk faktörleri olarak değerlendirilmiştir (171). KPC kazanımı ile ilişkili diğer risk faktörleri ise zayıf fonksiyonel durum ve yoğun bakım ünitesinde kalmak olarak değerlendirilir (172). Ayrıca karbapenem, florokinolon, sefalosporin grubu içeren antimikrobiyal ajanların kullanımını KPC taşıyıcılığı veya enfeksiyonu ile ilişkili olarak hatırlanmalıdır (6). Karbapenemaz dirençli *K.pneumoniae* üreten hastaların sonuçları karbapenem duyarlı *K.pneumoniae* üreten hastalar ile mukayese edildiğinde, karbapenem direnci bağımsız olarak mortalite artışı ile ilişkili bulunmuştur (6, 172, 173). Karbapenemaz dirençli *K.pneumoniae* enfeksiyonu olan kişilerde yaş, mekanik ventilasyon varlığı, malignensi, kardiyak hastalık varlığı ve yoğun bakımda kalma gibi durumların varlığı mortalite artışı ile ilişkili bulunmuş (6, 172, 173), buna karşılık enfeksiyon odağının kaldırılması (kateterin çıkarılması, debritleme veya drenaj yapılması) ise bağımsız faktör olarak sağ kalım ile ilişkili bulunmuştur (6).

### 3.MATERYAL-METOD

Van Yüzüncü Yıl Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesinde Ağustos 2016-Ağustos 2017 tarihleri arasında yatırılarak takip edilen 18 yaşından büyük hastalar çalışmaya dahil edildi. Çalışmamız için 2016 tarihinde B.30.2.YYU.0.01.00.00 sayılı etik kurul izni alındı. Van Yüzüncü Yıl Üniversitesi Tıp Fakültesi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı laboratuvarında Ağustos 2016-Ağustos 2017 tarihleri arasında çeşitli klinik örneklerden elde edilen, kültürde üreyen ve Phoenix BD (Becton Dickinson Microbiology System) otomatize sistemi ile *Enterobacteriaceae* ailesi üyesi olduğu saptanan 70 suş otomatize sistem sonuçlarına göre imipenem, ertapenem ve meropenem antibiyotiklerinden en az birine karşı EUCAST kriterlerine göre MİK artışı (ertapenem için  $>1 \mu\text{g/ml}$  imipenem ve meropenem için  $>8 \mu\text{g/ml}$ ) saptandı ve bunlar karbapenemaz üreten enterik bakteri olarak çalışmaya dahil edildi. Daha sonra alınan bu enterik bakteri izolatları bir gecelik taze pasajda tek düşmüş kolonilerden doğrudan koloni süspansiyonu yöntemiyle 0,5 McFarland bulanıklığa eşdeğer bakteri süspansiyonu hazırlandı. Önceden kurutulmuş, 4 mm kalınlığındaki Müller Hinton agar plağının yüzeyine sürülerek bakterinin tüm agar yüzeyine inokülasyonu sağlandı. Bakteri süspansiyonunun absorbe olması için kapak aralık olarak birkaç dakika beklendikten sonra  $+8$  ile  $-20^\circ\text{C}$  arasında saklanan E-test şeritleri agar yüzeyine yerleştirildi. *E. coli* ATCC 25922 standart suşu kalite kontrol suşu olarak kullanıldı. Kapakları altta olacak şekilde  $35^\circ\text{C}$ 'lik etüve kaldırıldı ve 16-20 saat inkübasyonun ardından değerlendirildi. MİK değerleri saptanarak EUCAST standartlarına göre duyarlı, orta derecede duyarlı ve dirençli olarak değerlendirildi. E-test ile MİK değerleri saptanan ve karbapenemaz üreten enterik bakteri olduğu doğrulanan suşu taşıyan hasta klinik olarak değerlendirildi. Bunlardan hastane kökenli enfeksiyon tanısı alan hastaların risk faktörlerini değerlendirmek amacıyla daha önceden hazırlanmış olan standart forma demografik veriler kaydedildi.

Üzerinde durulan özelliklerden sürekli değişkenler için tanımlayıcı istatistikler; Ortalama, Standart Sapma, Minimum ve Maksimum değerler olarak ifade edilirken, Kategorik değişkenler için sayı ve yüzde olarak ifade edildi. Kategorik değişkenler arasındaki ilişkiyi belirlemede Ki-kare testi yapıldı. Hesaplamalarda istatistik anlamlılık düzeyi %5 olarak alındı ve hesaplamalar için SPSS istatistik paket programı kullanıldı.

## 4.BULGULAR-SONUÇLAR

Çalışma sonucunda, 70 hastanın 50'inde (%71.4) üremiş olan bakteri hastane kökenli enfeksiyon etkeni olarak kabul edilirken, 20 hastada ise (%28.6) üremiş olan bakteri kolonize olmuş olarak kabul edildi.

Hastaların 26'sı kadın (%37,1) 44'ü ise (%62,9) erkek cinsiyetti. Hastane kökenli enfeksiyon varlığı saptanan 50 hastanın ise 31'i (%62) erkek, 19'u (%38) kadın cinsiyetti. Tüm hastaların yaş ortalaması 56.2 iken kadın hastaların yaş ortalaması 55.3, erkek hastaların yaş ortalaması 56.7 idi. Hastane kökenli enfeksiyon tanısı alan hastaların yaş ortalaması 55.4 iken kadın yaş ortalaması 56.6, erkek yaş ortalaması 54,7 idi. Hastane kökenli enfeksiyon tanısı alanlarda erkek cinsiyet istatistiksel olarak anlamlı bulundu ( $p<0,001$ ) (Tablo 11).

**Tablo 11:** Yaş-cinsiyet tablosu

Cinsiyet	Hastane enfeksiyon tanısı alanlar		Kolonizasyon olarak kabul edilenler			Tüm hastalar			P değeri
	Sayı / Total grubun yüzdesi	Yaş ortalaması	Sayı / Total grubun yüzdesi	Yaş ortalaması	Sayı / Total grubun yüzdesi	Yaş ortalaması			
<b>Kadın</b>	19 (%38)	56.6	7 (%35)	58.1	26 %37,1	55.3			,007
<b>Erkek</b>	31 (%62)	54.7	13 (%65)	61.5	44 %62,9	56.7			,001
<b>Toplam</b>	50 (%71.4)	55.4	20 (%28.6)	51.7	70 %100	56.2			,001

Poliklinik başvurusu yapmış olup kültür sonucunda üreme olan 4 hasta haricindeki tüm hastaların yatış günü ile etken bakterinin ürediği gün arasındaki süre

ortalama 28.8 gündü. Hastane kökenli enfeksiyon tanısı alan 50 hastanın yatış günü ile etkenin bakterinin ürediği gün arasındaki süre ortalama 33.4 gündü.

Mikrobiyoloji laboratuvarına gelen izolatların kliniklere göre dağılımına bakıldığında 28'i (%40) Anestezi yoğun bakım ünitesinden (YBÜ) gelen örneklerdi. Bunu sırasıyla Nöroloji YBÜ 12 (%17.1), Dahiliye YBÜ 7 (%10), Genel Cerrahi YBÜ'den gelen 5 (%7.1) örnek izlemekteydi. Hastane kökenli enfeksiyon tanısı alan hastaların izolatları ise en sık olarak Anestezi YBÜ'de 24 klinik örnek (%34.3), ikinci sıklıkta ise Nöroloji YBÜ'den gelen 9 klinik (%12.9) örnek izlemekteydi. Hastane kökenli enfeksiyon tanısı alan hastalarda Dahiliye YBÜ'de bulunmak istatistiksel olarak anlamlı bulundu ( $p<0,001$ ) (**Tablo 12**).

Tüm izole edilen bakterilerin dağılımına bakılacak olursa 56'sı (%80) *K. Pneumoniae*, 10'u (%14.3) *E.coli*, 2'si *Enterobacter* (%2.9) ve birer (%1.4) *Pantoea* ile *Proteus* suşları üredi. Hastane kökenli enfeksiyon tanısı alan hastaların numunelerinden izole edilen 50 suşun ise 45'i (%64,3) *K. Pneumoniae* iken 5'i (%7.1) *E.coli* idi. Hastane kökenli enfeksiyon tanısı alan hastalarda kültürde *K.pneumonia* üremiş olması istatistiksel olarak anlamlı bulundu ( $p<0,001$ ) (**Tablo 13**).

Laboratuvara gönderilen örneklerin dağılımında ise en yüksek oranda idrar kültürü örneğinde %31.4 (22 izolat) üreme görülmüş iken, bunu sırasıyla trakeal aspirat kültürü örneği %25.7 (18 izolat), kan kültürü örneği %18.6 (13 izolat) takip etmekteydi. Hastane kökenli enfeksiyon tanısı alan hastaların laboratuvara gönderilen örneklerinin dağılımında ise trakeal aspirat kültürü örneği %21.4 (15 izolat), idrar kültür örneği % 18.6 (13 izolat), kan kültür örneği % 14.3 (10 izolat) oranında tesbit edilmiştir. Hastane kökenli enfeksiyon tanısı alan hastalardan alınan trakeal aspirat kültürü örneği, kolonizasyon olarak kabul edilen hastalardan alınan örneğe göre istatistiksel olarak daha anlamlı bulunmuştur( $p<0,001$ ) (**Tablo 14**).



**Tablo 12:** Klinik izolatların servis/polikliniklere göre dağılımı

Klinik izolatların gönderildiği servis	Hasta. köken. tanı etkeni		Kolonizasyon		Tüm izolatlar		P değeri
	Sayı/ Total grubun yüzdesi		Sayı/ Total grubun yüzdesi		Sayı/ Total grubun yüzdesi		
Anestezi YBÜ	24	%34.3	4	%5.7	28	%40	1,00
Nöroloji YBÜ	9	%12.9	3	%4.3	12	%17.1	,039
Dahiliye YBÜ	7	%10	0	%0	7	%10	,001
Genel Cerrahi YBÜ	2	%2.9	1	%1.4	3	%4.3	,386
Genel Cerrahi servis	2	%2.9	3	%4.3	5	%7.1	,519
Göğüs hastalıkları servis	0	%0	2	%2.9	2	%2.9	,333
Üroloji servis	1	%1.4	1	%1.4	2	%2.9	1,00
Üroloji poliklinik	0	%0	4	%5.7	4	%5.7	,029
Koroner YBÜ	1	%1.4	0	%0	1	%1.4	1,00
Ortopedi servis	2	%2.9	1	%1.4	3	%4.3	,386
Enfeksiyon hastalıkları servis	2	%2.9	0	%0	2	%2.9	,333
Onkoloji servis	0	%0	1	%1.4	1	%1.4	1,00

**Tablo 13:** Kùltürde üretilen karbapenemaz dirençli enterik bakterilerin dağılımı

Etken mikroorganizma	Hastane kökenli enfeksiyon etkeni		Kolonizasyon etkeni		Toplam		P değeri
	Sayı/ Total grubun yüzdesi	Sayı/ Total grubun yüzdesi	Sayı/ Total grubun yüzdesi	Sayı/ Total grubun yüzdesi	Sayı/ Total grubun yüzdesi	Sayı/ Total grubun yüzdesi	
<i>K.pneumonia</i>	45	%64,3	11	%15.7	56	%80	,001
<i>E.coli</i>	5	%7.1	5	%7.1	10	%14.3	1,00
<i>Proteus mirabilis</i>	0	%0	1	%1.4	1	%1.4	1,00
<i>Enterobacter cloacae</i>	0	%0	2	%2.9	2	%2.9	,333
<i>Pantoea agglomerans</i>	0	%0	1	%1.4	1	%1.4	1,00

**Tablo 14:** Kùltürde ùreme olan klinik materyal t¼r¼

Alınan materyal t¼r¼ (kùlt¼r)	Hastane k¼kenli enfeksiyon tanılı olanlar		Kolonizasyon kabul edilenler		Toplam		P değeri
	Sayı/ Total grubun y¼zdesi		Sayı/ Total grubun y¼zdesi		Sayı/ Total grubun y¼zdesi		
<b>İdrar</b>	13	%18.6	9	%12.9	22	%31.4	,220
<b>Trakeal aspirat</b>	15	%21.4	3	%4.3	18	%25.7	,001
<b>Kan</b>	10	%14.3	3	%4.3	13	%18.6	,017
<b>Balgam</b>	2	%2.9	2	%2.9	4	%5.7	1,00
<b>Kateter</b>	4	%5.7	0	%0	4	%5.7	,029
<b>Apse</b>	1	%1.4	0	%0	1	%1.4	1,00
<b>Yara</b>	5	%7.1	3	%4.3	8	%11.4	,619

Çalışmaya dahil edilen izolatların Phoenix otomatize sistemi ile imipenem (IMP), meropenem (MER), ertapenem (ERT) ve kolistin için MİK değerleri belirlendi. Bu izolatların imipenem, meropenem, ertapenem ve kolistin duyarlılık sonuçları E-test yöntemi kullanılarak doğrulandı. Otomatize sistem ile çalışılan 70 izolatta, karbapenemler içinde en yüksek direnç gör¼len karbapenem ertapenem (69 izolat, %98.6 oranında) olmuştur. Direnç düzeyi meropenem (35 izolatta, %50 oranında) ve imipenem (26 izolatta, %37.1 oranında) olarak izlenmiştir. Ayrıca kolistin(Polimiksin E) çalışılmış 61 izolattan 8'inde (%13.1) direnç gör¼ld¼. E-test yönteminde total hastaların direnç durumu ertapenem (58 izolat, %83), imipenem(25 izolat, %36), meropenem(32 izolat, %46), kolistin(Polimiksin E) (9 izolat, %13) oranında bulunmuştur. Hasta bazında otomatize sistemin E-test ile mukayesesinde; otomatize sistemde dirençli olarak raporlanan imipenem dirençli 25 izolattan 17'si, meropenem dirençli 32 izolattan 27'si,

ertapenem dirençli 69 izolattan 58'i, kolistin dirençli 8 izolattan ise 7'si E-test sonucunda dirençli olarak sonuçlandı. Buna göre otomatize sisteme göre imipenem dirençli suşların %68'i, meropenem dirençli suşların %84.3'ü, ertapenem dirençli suşların %84.1'i, kolistin dirençli suşların %87.5'i E-test ile dirençli suşları saptama hususunda korelasyon göstermiştir. Otomatize sistemde karbapenem direnci saptanan 70 suştan 9'unda E-test sonucunda karbapenem direnci görülmemiştir. Ayrıca otomotize sistem sonucunda imipenem duyarlı olarak sonuçlanmış 2 izolat, meropenem duyarlı olarak sonuçlanmış 4 , kolistin duyarlı olarak sonuçlanmış 1 izolat E-test sonucunda dirençli olarak sonuçlandı(yalancı negatiflik). Hastane kökenli enfeksiyon ve kolonizasyon olarak değerlendirilen örneklerin antibiyogram değerlendirmeleri sonucunda istatistiksel olarak anlamlı bir fark görülmemiştir (Tablo 15,16).

**Tablo 15:** Antibiyogram sonucuna göre direnç durumları

Hastalar	İmipenem			Meropenem			Ertapenem			P değeri
	Sayı/ Total grubun yüzdesi			Sayı/ Total grubun yüzdesi			Sayı/ Total grubun yüzdesi			
	S	I	R	S	I	R	S	I	R	
Enfeksiyon	7 %10	24 %34.3	19 %27.1	21 %30	3 %4.3	26 %37.1	0 %0	0 %0	50 %71.4	,155
Kolonizasyon	8 %11.4	5 %7.1	7 %10	8 %11.4	3 %4.3	9 %12.9	1 %1.4	0 %0	19 %27.1	,509
Toplam	15 %21.4	29 %41.4	26 %37.1	29 %41.4	6 %8.6	35 %50	1 %1.4	0 %0	69 %98.6	,120
P değeri	,714	,001	,001	,001	1,00	,001	1,00	-	,001	

Duyarlı: S, Orta duyarlı: I, Dirençli: R

**Tablo 16:** Hasta bazlı otomatize sistem ile E-test sonuç mukayesesi

Hastalar	İmipenem	Meropenem	Ertapenem	Kolistin
	Dirençli İzolat Sayısı/ Yüzde	Dirençli İzolat Sayısı/ Yüzde	Dirençli İzolat Sayısı/ Yüzde	Dirençli İzolat Sayısı/ Yüzde
Otomatize sistem	25	32	69	8
E-test	17	27	58	7
E-test direnç korelasyon yüzdesi	%68	%84.3	%84.1	%87.5

Hastane kökenli enfeksiyon tanısını alan hastalara uygulanan invaziv işlemlerin değerlendirilmesinde; idrar sondası 42 (%84), santral venöz kateter 33 (%66), endotrakeal entübasyon ve mekanik ventilasyon 31'er hastada (%62), nazogastrik sonda 29 (%58), periferik venöz kateter 26 (%52), trakeostomi 18 (%36), tüp torakostomi (tüm yatış dönemindeki uygulama) 12 (%24), hemodiyaliz 9 (%18), cerrahi dren 8 (%16), gastrostomi 5 (%10) hastada mevcuttu (**Tablo 17**).

**Tablo 17:** KDE ilişkili hastane kökenli enfeksiyon tanımlı hastaların invaziv girişimler ile ilişkisi

<b>İnvaziv girişim türü</b>	<b>Hasta sayısı</b>	<b>Yüzde</b>	<b>İnvaziv girişim türü</b>	<b>Hasta sayısı</b>	<b>Yüzde</b>
Endotrakeal entübasyon	31	%62	Cerrahi dren	8	%16
Mekanik ventilasyon	31	%62	Ercp (son 3 ayda)	3	%6
Trakeostomi	18	%36	Gastrostomi	5	%10
Santral venöz kateter	33	%66	Tüp torakostomi yapılan(son 3 ayda)	12	%24
Periferik venöz kateter	26	%52	Kolonoskopi	1	%2
Kolostomi	2	%4	İdrar sondası	42	%84
Hemodiyaliz	9	%18	Nefrostomi	4	%8
Lomber ponksiyon (son 3 ayda )	2	%4	Parasentez(son 3 ayda )	2	%4
Ng sonda uygulanması	29	%58	Torasentez(son 3ayda )	4	%8
Perif. arteriyel kateter	2	%4			

Hastane kökenli enfeksiyon tanısı alan hastalarda uygulanan invaziv işlemlerin ilk uygulandığı gün ile etken bakterinin ürediği gün arasındaki ortalama sürelerinin değerlendirilmesinde; endotrakeal entübasyon ve mekanik ventilasyon 28.3, santral venöz kateter 17.1, trakeostomi için ise 32.7 gün olarak belirlendi.

Yatış esnasında beslenme biçimi olarak total parenteral nutrisyon (TPN) 15 hastaya (%30), enteral beslenme ise 35 (%70) hastaya verildi.

Daha önce başka hastanede veya kendi hastanemizde farklı kliniklerde yatış durumlarının değerlendirilmesinde ise; daha önce yoğun bakım ünitesinde yatış öyküsü 16 (%32), cerrahi serviste yatış öyküsü 7 (%14), dahili serviste yatış öyküsü 11 (%22) hastada mevcuttu.

Hastane kökenli enfeksiyon tanısı alan hastaların yatış kliniği dışındaki komorbid durumlarının değerlendirilmesinde; HT 17 (%34), nörolojik hastalık durumu 16 (%32), KOAH 12 (%24), DM 10 (%20), KKY 10 (%20), kronik böbrek hastalığı 9 (%18), malignite 8 hastada (%16), yabancı cisim varlığı 8 (%16), koroner arter hastalığı 5 (%10) hastada mevcuttu. Nörolojik hastalık öyküsü olan 16 hastanın 11'inde SVO öyküsü mevcut iken birer hastada nörodejeneratif hastalık, miyastenia gravis, SSPE(subakut sklerozan panensefalit), Parkinson ve parapleji mevcutu (**Tablo 18**).

Hastane kökenli enfeksiyon tanısı alan hastalarda yatış günü ile üremenin görüldüğü gün arasında kullanmış oldukları antibiyotiklerin değerlendirilmesinde; siprofloksasin 20, piperasilin/tazobaktam 19, seftriakson 17, ampisilin/sulbaktam 15, meropenem 11, sefazolin 10, imipenem 8, vankomisin 6, kolistin 5, ertapenemin 3 hastada kullanımı mevcuttu( **Tablo 19**).

Çalışmamızda Karbapenem dirençli patojenin yapmış olduğu enfeksiyon türünde ise ventilatör ilişkili pnömoni 17 hastada (%34), üriner sistem enfeksiyonu 13 hastada (%26), primer kan dolaşım enfeksiyonu 9 hastada (%18), yara yeri enfeksiyonu 5 hastada (%10), kateter ilişkili kan dolaşım enfeksiyonu 4 hastada (%8), toplum kökenli pnömoni ve batn içi apse ise birer hastada (%2) mevcuttu.

**Tablo 18:** KDE ilişkili hastane kökenli enfeksiyon tanılı hastaların komorbid durumları

<b>Komorbid durumlar</b>	<b>Hasta sayısı</b>	<b>Yüzde</b>	<b>Komorbid durumlar</b>	<b>Hasta sayısı</b>	<b>Yüzde</b>
DM	10	%20	KAH	5	%10
HT	17	%34	Yoğun bakım ünitesinde	16	%32
KKY	10	%20	Cerrahi serviste yatış öyküsü	7	%14
KOAH	12	%24	Dahili serviste yatış öyküsü	11	%22
Nörolojik hastalık varlığı	16	%32	Dvt öyküsü	2	%4
KBY	9	%18	Dekübit ülseri	9	%18
Bilinç kapallığı (koma)	30	%60	Steroid kullanımı (son 3 ayda)	11	%22
Daha önce karbapenem kullanım öyküsü	22	%44	Hematolojik malignite	1	%2
PPI kullanımı	49	%98	Diğer maligniteler	7	%14
Travma öyküsü	10	%20			
Yabancı cisim varlığı	8	%16			

**DM:** Diyabetes mellitus, **KOAH:** Kronik obstrüktif akciğer hastalığı, **KKY:** Konjestif kalp yetmezliği, **HT:** Hipertansiyon, **KBY:** Kronik böbrek yetmezliği, **KAH:** Koroner arter hastalığı , **PPI:** Proteon pompa inhibitörü



Ayrıca çalışmamızda enfeksiyon tanı-tedavisi süresince gelişen enfeksiyöz nedenler veya altta yatan diğer tıbbi nedenlere bağlı mortalite %36 oranında (18 hasta) izlendi. Yoğun bakım süresince total mortalite %64 (32 hasta, sonraki dönemde gelişen enfeksiyon/ komorbid durumlara bağlı) oranında izlendi. İki hasta ise (%4) dış merkeze sevk edildi.

**Tablo 19:** KDE ilişkili hastane kökenli enfeksiyon tanılı hastaların antibiyotik kullanım durumu

Antibiyotik	Hasta sayısı	Yüzde	Antibiyotik	Hasta sayısı	Yüzde
Ampisilin/sulbaktam	15	%30	Amoksisilin/klavunat	1	%2
Sefazolin	10	%20	Gentamisin	3	%6
Sefepim	1	%2	Metronidazol	8	%16
Seftriakson	17	%34	Siprofloksasin	20	%40
Sefoperazon/sulbaktam	3	%6	Levofloksasin	5	%10
Piperasilin/tazobaktam	19	%38	İmipenem	8	%16
Vankomisin	6	%12	Meropenem	11	%22
Teikoplanin	1	%2	Ertapenem	3	%6
Sefiksim	1	%2	Kolistin	5	%10
Trimetoprim/sulfametaksazol	1	%2	Flukonazol	2	%4
Linezolid	2	%4	Kasofungin	1	%2
Fosfomisin	1	%2			

## 5.TARTIŞMA

Bakterilerde antibiyotiklere karşı direnç, son otuz-kırk yılda giderek artmış, sonunda kaygı verici boyutlara ulaşmıştır. Günümüzde çoğul dirençli bakteri enfeksiyonları, özellikle yoğun bakım birimlerinde, hekimler için çok önemli, hastaları içinse yaşamsal bir sorun durumundadır (174). Karbapenemaz üreten *Enterobacteriaceae* izolatlarının neden olduğu enfeksiyonlar tüm dünyada olduğu gibi ülkemizde de en güncel sağlık sorunlarından (5, 163). *Enterobacteriaceae* ailesinde plazmid kazanımlı karbapenemazlar ilk olarak 1990'larda Avrupa'da ortaya çıkmıştır ve şimdi endişe verici artan bir hızla tanımlanmaya devam etmektedirler (175). Karbapenem dirençli mikroorganizmalar ile gelişen enfeksiyonlarda, mortalite ve morbidite arttığı, hastanede yatış süresinin uzadığı ve tedavi maliyetlerinde artış olduğu görülmektedir. Bu enfeksiyonlar, tedavide kullanılacak etkin antibiyotiklerin seçeneklerinin tükenmesi ve direncin hızlı yayılması nedeniyle de önemlidirler (142). Yaşamı tehdit eden ciddi enfeksiyonlarda ve çoğul ilaç direnci gösteren Gram negatif bakteri enfeksiyonlarında karbapenem grubu antibiyotikler son seçenek ajan olmalarından dolayı karbapenem direncinin ayrı bir önemi vardır. Direnç oranları ve dirençten sorumlu olabilecek olası enzimler her ülke ve merkeze göre değişiklikler göstermekle birlikte her merkez için değişmeyen gerçek, oranların yıllar içinde artmakta olduğudur (175).

Nozokomiyal enfeksiyonlar içerisinde *Enterobacteriaceae* ailesinin görülme sıklığı ve dağılımları hastaneler arasında farklılık göstermektedir. Amerikan Ulusal Nozokomiyal Enfeksiyon Sürveyans Sistemi (National Nosocomial Infections Surveillance System, NNIS) verileri Gram negatif bakteriler ile gelişen hastane enfeksiyonu insidansında artış olduğuna dikkat çekmektedir. Buna göre, 1975 yılında görülen Gram negatif kaynaklı nozokomiyal enfeksiyonlarının oranı %67,8 iken 2003'te bu oran %73,6'ya çıkmıştır (12).

Yapılan bazı çalışmalarda izole edilen Gram negatif bakteriler ve izole edildiği örneklerin dağılımı çeşitli çalışmalara göre farklılık göstermektedir. Giani ve ark 2011 yılında İtalya'da 23 farklı şehirde bulunan 25 farklı mikrobiyoloji laboratuvarından izole edilen 1346 *Enterobacteriaceae* suşunu çalışma kapsamında değerlendirmiş ve toplanan

izolatların %48,6'sını idrar, %13,2'sini kan ve %16,2'sini alt solunum yolu örneklerinden izole etmişlerdir. Karbapenemaz direnci saptanmış olan 270 olgunun 234'ünde (%86.7) *K. pneumonia* üremiştir. Karbapenem dirençli *E.coli* oranı ise (%0.06) olarak saptanmıştır (176). İspanya'da yapılan bir çalışmada Karbapenem dirençli enterik bakterilerin neden olduğu üriner sistem enfeksiyonu tanısı %43.8, kan dolaşım enfeksiyonu %23.8, solunum yolu enfeksiyonu %17.3 ve yara yeri enfeksiyonu %8 oranındaki olguların izolatlarının %85'sinde *K.pneumonia*, %1.7'sinde *E.coli* saptanmıştır (177). Ülkemizde yapılan bir çalışmada klinik izolatların %70.5'i *K.pneumonia*, %13.4 *E.coli* saptanmıştır (178). Çalışmamızda diğer yapılan çalışmalara benzer şekilde laboratuvara gönderilen örneklerin dağılımında ise en yüksek oranda idrar kültürü örneğinde (%31.4) üreme görülmüş iken, bunu sırasıyla trakeal aspirat kültürü örneği (%25.7), kan kültürü örneği (%18.6) oranında takip etmekteydi. Ayrıca izole edilen bakterilerin dağılımında *K. Pneumoniae* (%80), *E.coli* (%14.3) oranında üredi. Yine hastane kökenli enfeksiyon tanısı alan hastaların numunelerinden izole edilen suşların %64,3'ü *K. Pneumoniae* iken %7.1'i *E.coli* idi. Daha önce yapılan bazı çalışmalara benzer şekilde *K. Pneumoniae*'nin daha sıklıkta izole edildiği görüldü.

*Klebsiella* ve *E.coli* türleri karbapenemaz dirençli enterik bakterilerin tanımlanmasında ön planda olsalar da diğer enterik bakteriler de (*Enterobakter* türleri gibi) özel öneme sahiplerdir (179). National Healthcare Safety Network'un 2008 yılı verilerine göre karbapenem direnci *E. coli* suşları için %0.9-4, *K. pneumoniae* suşları için %3.6-10.8, *Klebsiella oxytoca* için %0-5 arasında bildirilmiştir (180). EARS-NET (European Antimicrobial Resistance Surveillance Network) 2016 sürveys verilerine göre dirençli *K. Pneumoni* düzeyleri stabilize seyretmektedir. Ayrıca 2013-2016 yılları arasında EU/ EEA (European Union/ European Economic Area) popülasyonu içerisinde karbapenem direncinde önemli bir değişiklik kaydedilmedi (181). EARS-NET 2016 verilerine göre karbapenemaz dirençli *E. coli* oranları şu anda düşük düzeyde olsa bile

ilerleyen dönemlerde Avrupa'da yaygınlaşması öngörülmektedir (182). Birleşik Devletlerde karbapenem dirençli enterik bakterilerin etken olduğu sağlık bakımı ile ilişkili enfeksiyon oranı 2001 yılında %1.2 iken 2011 yılında %4.2 'ye yükselmiştir (183).

Ülkemizin karbapenemlere dirençli izolatlarla ilk tanışması 2001 yılında İstanbul Çapa Hastanesinde izole edilen *K. pneumoniae* 11978 suşu ile idi (121).

Ülkemizde 2000-2003 yılları arasında dokuz merkezin katıldığı MYSTIC çalışmasının sonuçlarına göre enterik Gram negatif bakterilerin genel olarak meropenem %99.3, imipenem %97.6 duyarlılık gösterdiği bildirilmiştir (184). Yine, 2007 yılında yapılan çok merkezli HİTİT-2 çalışmasının sonuçlarına göre *E. coli* suşlarında karbapenem direnci gözlenmezken, *K. pneumoniae* suşlarında imipenem direnci %3.2 olarak belirlenmiştir (12). Çalışkan ve ark 2013-2014 tarihleri arasında üreme olan 2803 idrar örneğinden izole ettikleri *Klebsiella* spp.'de imipenem %1 oranında direnç saptarken, *E. coli*'de direnç saptamamışlardır (185). Aytar ve ark 2010-2014 yılları arasında kan kültüründen izole ettikleri 199 örnekte *K. pneumoniae*'de %6 oranında karbapenem direnci saptarken, *E. coli*'de direnç görülmediğini bildirmişlerdir (186).

Yoğun bakım ünitelerinde (YBÜ) tedavi edilen hasta grubu, invazif girişimlerin sıklıkla uygulandığı, genel durum bozukluğu nedeni ile diğer hastalara göre hastanede kalış süreleri daha uzun olan ve sıklıkla geniş spektrumlu antibiyotik uygulanan hastalardır (187). Yoğun bakım üniteleri hastane yatak kapasitelerinin yalnızca %5-10'unu kapsamalarına rağmen, hastane enfeksiyonlarının %20-25'i bu birimlerde ortaya çıkmakta ve ayrıca mortalite oranları da diğer birimlerden 2-2.5 kat daha yüksek görülmektedir (188). Giani ve ark. İtalya'da yaptıkları bir çalışmada karbapenem dirençli *Klebsiella* üremesi olan olgularının %42.5'inin yoğun bakım ünitelerinde yatmakta olduğu izlendi (176). Nair ve ark. Mumbai de yapmış oldukları bir çalışmada karbapenem dirençli enterik bakterilerin %12'si yoğun bakım ünitelerindeki hastalardan izole edilmiştir (189). Ülkemizde yapılan bir çalışmada laboratuvara gönderilen izolatların %42.9 oranında yoğun bakım ünitelerinden, klinik olarak en çok %26 oranında Anestezi yoğun bakım ünitesinden (YBÜ) gönderildiği görülmüştür (190). Çalışmamızda, Mikrobiyoloji laboratuvarına gelen izolatların çoğunlukla, diğer çalışmalara benzer şekilde, yoğun bakım servislerinden (%72.8) geldiği görüldü. Kliniklere göre dağılımda ise izolatların en sık Anestezi yoğun bakım ünitesinden (YBÜ) (%40) geldiği görüldü.

*Enterobacteriaceae* spp. izolatlarında karbapenemaz üretiminin saptanması ve tanımlanması, karbapenem tedavisine yanıt alınamayan ciddi enfeksiyonların tedavisinde yol gösterici olabilmektedir. Yine bu suşlarla kolonize hastaların tespiti ve izolasyonu gibi önlemler, oluşabilecek hastane enfeksiyonlarının önüne geçilmesi açısından önemlidir. Enfeksiyon ve salgın analizleri için uygulanan moleküler yöntemler ise direnç yayılım mekanizmaları ve epidemiyolojisi hakkında önemli bilgiler sağlamaktadır. Karbapenemaz saptanmasında kullanılan başlıca yöntemler fenotipik ve genotipik yöntemler olarak başlıca iki gruba ayrılmaktadır (163). Moleküler teknikler karbapenemazların tanımlanmasında ve ayrıştırılmasında referans yöntem olmayı sürdürmektedir. Çoğunlukla PCR bazlıdır. Fakat yüksek maliyetli olmaları, uygun teknik altyapı gerektirmeleri ve yeni karbapenemaz genlerini tesbit etmedeki yetersizlikleri dezavantajlarıdır. Bir dizi moleküler olmayan testler karbapenemaz aktivitesini bulmak amacıyla önerilmekle beraber şu anda bunların hiçbirinin sensitivite ve spesifite %100 değildir (5). E-test MBL strip yöntemi MBL üreten izolatların saptanmasında kullanılan yöntemlerden birisidir (191). Minimum İnhibisyon Konsantrasyonu (MİK) saptayan yöntemlerden E-testi, agar dilüsyona göre daha kolay ve pratik olması nedeniyle daha çok tercih edilmektedir (192). Girlich ve ark. çalışmasında IP/ IPI sribinin duyarlılığı %81,5, özgüllüğü %100, MP/ MPI sribinin duyarlılığı %94,4, özgüllüğü %97, MP/ MPB sribinin ise duyarlılığı %91,7, özgüllüğü %100 bulunmuştur (193). İmipenem, meropenem, ertapenem için antibiyotik duyarlılıklarını belirlemek amacıyla disk difüzyon, broth mikrodilüsyon, E-test ve otomatize sistemlerin karşılaştırıldığı bir çalışmada E-test %58-90 oranında duyarlı olarak değerlendirilmiştir. Özellikle ertapenem kullanımında bu oran daha yüksek izlenmektedir (194). Çalışmamızda otomatize sisteme göre imipenem dirençli suşların %68'i, meropenem dirençli suşların %84.3'ü, ertapenem dirençli suşların %84.1'i, kolistin dirençli suşların %87.5'i E-test ile dirençli suşları saptama hususunda korelasyon göstermiştir. Otomatize sistemde karbapenem direnci saptanan 70 suştan 9'unda E-test sonucunda karbapenem direnci görülmemiştir.

Her ne kadar KPC enfeksiyonu gelişmesine neden olan risk faktörlerini tanımlamak için birçok değişken incelenmiş olmasına rağmen çok değişkenli modellerde bunlardan hiçbirisi bağımsız olarak değerlendirilmemiştir. Ayrıca birkaç hastanın yoğun bakım ünitesinde uzun süreli kalışları, bu hastaların etken patojeni diğer hastalara

yayması ve KPC rezervuarı olmaları olasıdır. KPC enfeksiyonları için genel risk faktörleri; yoğun bakım ünitesinde kalma, daha önce hastanede yatma, daha önce geniş spektrumlu antibiyotik kullanma ve uzun süreli bakım tesislerinde ikamet etmeyi içermektedir (195). Organ veya kök hücre nakli uygulanmış olması, mekanik ventilasyon uygulanması, cerrahi yapılmış olması, üniteler arası transfer yapılması KPC enfeksiyonu veya kolonizasyonu için artan risk içermektedir (196). KPC enfeksiyonu gelişmesine olanak sağlayan risk faktörlerinin belirlenmesi, ampirik veya terapötik karar verme sürecinde ve uygun enfeksiyon kontrol önlemlerinin erken alınmasına yardımcı olabilir (171).

Kontopidou ve arkadaşlarının yaptıkları çalışmada; ortalama yoğun bakım ünitesinde kalış süresi 27.3 gün (etken üremeden önceki kalış), entübasyon varlığı %94.5 (ortalama entübe kalınan süre 24 gün), ortalama santral venöz kateteriasyon süresi 9.2 gün olarak bulundu. Ayrıca komorbid olarak DM varlığı %24.4, kronik kalp yetmezliği %18.9, KOAH %22.8, KBY %13.4, immunsupresif durum %11 oranında izlendi. Daha önceden antibiyotik kullanımında ise; karbapenem %38.6,  $\beta$ -laktam inhibitörü %35.4, kolistin %25.2, kinolon %22.8, aminoglikozid %18.9 ve tigesiklin %15.4 oranında kullanıldığı izlendi (197).

Kofteridis ve arkadaşlarının yaptıkları vaka kontrol çalışmasında KPC enfeksiyon/ kolonizasyon olan hastalarda yoğun bakım ünitesinde ortalama kalış süresi 11 gün (etken üremeden önceki kalış), santral venöz kateter varlığı %6, foley kateter kullanımı %31, cerrahi yapılmış olma %11, mekanik ventilasyon uygulanması %7, steroid kullanımı %22, kemoterapi uygulanması %4, kan ürünü transfüzyonu %7 olarak bulundu. Komorbid durumlardan ise kardiyovasküler hastalık %69, nörolojik hastalık %37, DM ve renal hastalık öyküsü %24, akciğer hastalık öyküsü %17 olarak izlendi. Daha önceden antibiyotik kullanımında ise kinolon grubu ilaçlar % 22, anti-psödomal penisilin %11, karbapenem grubu ilaç kullanımı %7 ve diğer gruplarda yer alan antibiyotik kullanımı ise %22 olarak izlendi. Bu vaka-kontrol çalışmasında yoğun bakım ünitesine kabul, daha önceki cerrahi prosedür uygulanmış olması ve renal hastalık bağımsız risk faktörleri olarak değerlendirilmiştir. Çalışmada ayrıca daha önce kullanılan antibiyotik kullanımı ile KPC enfeksiyonu arasında bir ilişki saptanmamıştır. Bir başka

bulgu ise ileri yaş ve nörolojik hastalık varlığını gibi iki faktörün de KPC enfeksiyonu görülmesinde artan risk oluşturdukları düşünülmüştür (198).

Silva ve arkadaşlarının yaptıkları vaka kontrol çalışmasında KPC enfeksiyon/ kolonizasyon olan gruptaki hastalarda yoğun bakım ünitesinde ortalama kalış süresi 38 gün, santral venöz kateter varlığı %35, mekanik ventilasyon uygulanması %52.6, foley kateter kullanımı %28, cerrahi yapılmış olma %38.6, başka bir hastaneden kabul %63 olarak bulunmuştur. Komorbid durumlardan ise pulmoner hastalık öyküsü %43.8, DM varlığı %21.2, kronik kalp yetmezliği %21, hipertansiyon %19, kanser varlığı %14, KBY %1.7 oranında izlenmiştir. Bu vaka-kontrol çalışmasında karbapenemaz dirençli *Klebsiella* üreyen olgularda uzun süreli hospitalizasyon, mekanik ventilasyon varlığı, santral venöz kateterizasyon, üriner kateterizasyon ve daha önceden cerrahi geçirmiş olmak, enfeksiyon gelişimini arttıran risk faktörleri olarak değerlendirildi (199).

Falagas ve arkadaşlarının yapmış oldukları vaka-kontrol çalışmasında KPC enfeksiyon/ kolonizasyon olan hastalarda yoğun bakım ünitesinde ortalama kalış süresi 11 gün (etken üremeden önceki kalış) , santral venöz kateter varlığı %96, mekanik ventilasyon uygulanması %66, servise kabul sonrası cerrahi prosedür varlığı %50.9, foley kateter kullanımı %49, nazogastrik tüp kullanımı %41.5, trakeostomi %33.9, vücutta yabancı materyal %32, daha önce cerrahi geçirmiş olmak %30.1, kolostomi/ gastrostomi %3.7 oranında izlendi. Komorbid durumlardan ise KOAH %47.1, kronik kalp hastalığı %43.3, nörolojik hastalık %28.3, DM %24.5, malignensi %22.6 oranında izlenmekteydi. Daha önceden antibiyotik kullanımında ise kinolon %65.9, glikopeptid %61.3, anti-pseudomonal penisilin %56.8, karbapenem grubu ise %50 oranında kullanımı izlendi (200).

Çalışmamızda hastane kökenli enfeksiyon tanısını alan 50 hastaya uygulanan invaziv işlemlerin değerlendirilmesinde; idrar sondası %84, santral venöz kateter %66, endotrakeal entübasyon ve mekanik ventilasyon %62, nazogastrik sonda uygulaması %58, trakeostomi %36 oranında mevcuttu. Hastane kökenli enfeksiyon tanısı alan hastalarda uygulanan invaziv işlemlerin ilk uygulandığı gün ile etken bakterinin ürediği gün arasındaki ortalama sürelerinin değerlendirilmesinde; endotrakeal entübasyon ve mekanik ventilasyon 28.3, santral venöz kateter 17.1, trakeostomi için ise 32.7 gün olarak belirlendi. Ayrıca bu hastaların eşlik eden komorbid durumlarının değerlendirilmesinde;

HT %34, nörolojik hastalık durumu %32, KOAH %24, DM ve KKY %20, kronik böbrek hastalığı %18, malignite %16, yabancı cisim varlığı %16, koroner arter hastalığı %10 oranında izlendi.

Kontopidoi ve arkadaşlarının yapmış oldukları çalışmada karbapenemaz dirençli enterik bakterilerin neden olduğu enfeksiyonlar yüksek klinik başarısızlık ve yüksek mortalite ile ilişkili bulunmuştur. Bu çalışmada yoğun bakım ünitelerinde mortalite oranı %51.3 olarak izlenmiştir (197). Kofteridis ve arkadaşlarının yapmış oldukları vaka-kontrol çalışmasında karbapenem dirençli *Klebsiella pneumonia* üremesi olan olgularda mortalite oranı %27 olarak izlenmiştir (198). Silva ve arkadaşlarının yaptıkları çalışmada mortalite %78.7, Falagas ve arkadaşlarının yaptıkları çalışmada ise mortalite oranı %30.1 olarak izlenmiştir (199, 200). Çalışmamızda enfeksiyöz nedenler veya altta yatan diğer tıbbi nedenlere bağlı mortalite oranı % 36 olarak izlenmiştir.

Karbapenem dirençli patojenin yapmış olduğu enfeksiyon türünde ise; Kontopidoi ve ark. (197)) çalışmasında santral venöz katetere bağlı bakteriyemi (%30.7), ventilatör ilişkili pnömoni %27.6, primer bakteriyemi %23.6 ve üriner trakt enfeksiyonu %10.2 oranında görülmekteydi. Vardakas ve ark. (195) çalışmasında primer bakteriyemi %33.7, sekonder bakteriyemi %28.8, üriner trakt enfeksiyonu %26.9, pnömoni %14.4 oranında izlenmiştir. Çalışmamızda hastane kökenli enfeksiyon tanısı alan olguların tanısal değerlendirilmesinde; ventilatör ilişkili pnömoni %34, üriner sistem enfeksiyonu %26, primer kan dolaşım enfeksiyonu %18, yara yeri enfeksiyonu %10, kateter ilişkili kan dolaşım enfeksiyonu %8 oranında izlendi.



## 6.SONUÇ

Karbapenemaz dirençli enterik bakterilerin neden olduğu enfeksiyonlar ülkemizde de son yıllarda belirgin bir artış göstermiştir. En geniş spektrumlu antibakteriyel ajanlar olan karbapenemleri yıkan bu patojenlere karşı maalesef potent bir antibakteriyel bulunmamaktadır. Fakat bakterilerde görülen direnç esas olarak bize şunu göstermektedir ki, her yeni bulunan antibiyotiğe karşı direnç gelişimi insanoğlu-bakteri denkleminde neredeyse kaçınılmaz bir hal almaktadır. Biz hekimlerce hastalarımıza medikal çözümler üretirken insanoğlunun uzun vadede karşılaşılabileceği tedaviye cevap verememe durumlarından en önemlisi olan antibiyotik direncini gözardı etmememiz gerektiği önem arz etmektedir. Bazı temel politikalarla diğer antibakteriyel ajanlara karşı olduğu gibi karbapenem direncinin de yayılmasının azaltılabileceği bilinmektedir. Geniş spektrumlu ve gereksiz antibiyotik uygulamalarından kaçınılması, her sağlık kuruluşunun kendi antibiyotik duyarlılık sonuçlarına riayet ederek tedavileri düzenlemesi, özellikle yoğun bakım ünitelerinde gereksiz invaziv işlemlerden kaçınılması ve invaziv girişim endikasyonunun ortadan kalktığı anda invaziv girişimlerin sonlandırılması, el hijyenine uyulması ve diğer çoğul ilaca dirençli mikroorganizmalarda olduğu gibi karbapenemaz dirençli enterik bakterilere bağlı kolonizasyon/ enfeksiyon varlığında hastalara uygulanan izolasyon önlemlerine riayet edilmesi karbapenem direncinin azaltılmasında çok yardımcı olabilecek temel politikalarlardır.

## 7. KAYNAKLAR

- 1) Bilgehan H. Enterobacteriaceae, Klinik Mikrobiyolojik Tanı. 10. baskı, İzmir: Barış Yayınları Fakülteler Kitabevi. 2000:1-102.
- 2) Töreci K. “Enterobacteriaceae Genel Özellikleri” İçinde: Willke Topçu A, Söyletir G, Doğanay M (eds). İnfeksiyon Hastalıkları ve Mikrobiyolojisi. İstanbul: Nobel Tıp Kitabevleri; 2002: 1555.
- 3) Papp-Wallace KM, Endimiani A, Taracila MA., Bonomo RA (2011). Carbapenems: Past, Present, and Future. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* 55 (11): 4943–4960.
- 4) Bradford PA. Extended-spectrum beta-lactamases in the 21st century: characterization, epidemiology and detection of this important resistance threat. *Clin Microbiol Rev*, 2001; 14 (4): 933-951.
- 5) Nordmann P, Gniadkowski M, Giske CG, Poirel L, Woodford N, Miriagou V. Identification and screening of carbapenemase-producing Enterobacteriaceae. *Clin Microbiol Infect.* 2012;18(5):432-8.
- 6) Gupta N, Limbago BM, Patel JB, Kallen AJ. Carbapenem-resistant Enterobacteriaceae: Epidemiology and prevention. *Clin Infect Dis.* 2011;53(1):60-7.
- 7) Budak S, Aktas Z, Erdem H. Enterik Gram-Negatif Bakterilerde Laboratuvar dan Kliniğe Karbapenemazlar. *J Infect Microb Antimicrob.* 2012; 1:11.
- 8) Yıldırım A. Extended Spectrum Beta-lactamase (ESBL) Araştırma Yöntemlerinin Karşılaştırılması: E.coli ve Klebsiella spp. suşlarında

Sıklığının Saptanması. Uzmanlık tezi, Gülhane Askeri Tıp Akademisi, İstanbul, 1999.

- 9) Espinol-Ingroff A, Pfaller M, Erwin ME, et al. Interlaboratory Evaluation of E-test Method for Testing Antifungal Susceptibilities of Pathogenic Yeast to Five Antifungal Agents by Using Casitone Agar and Solidified RPMI 1640 Medium with %2 Glucose. *J. Clin. Microbiol.* 1996; 34(4): 848-852.
- 10) Wang Q, Zhang Y, Yao X, Xian H, Liu Y, Li H, Chen H, Wang X, Wang R, Zhao C, Cao B, Wang H. Risk factors and clinical outcomes for carbapenem-resistant Enterobacteriaceae nosocomial infections *Eur J Clin Microbiol Infect Dis.* 2016 Jul 11; 35(10):1679-89.
- 11) Nordmann P, Cuzon G, Naas T. The real threat of *Klebsiella pneumoniae* carbapenemase-producing bacteria. *Lancet Infect Dis.* 2009;9(4):228-36.
- 12) Gür D, Haşçelik G, Aydın N. Antimicrobial resistance in Gram-negative hospital isolates: results of the Turkish HITIT-2 Surveillance Study of 2007. *J Chemother.* 2009; 21(4):383-389.
- 13) Murray PR, Rosenthal KS, Pfaller MA. *Tıbbi Mikrobiyoloji.* 6. Baskı, Atlas Tıp Kitabevi. 2010:301-315.
- 14) Einstein BI, Zalesnik DF. 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.
- 15) Özkuyumcu, C. Dürdal, US. Sancak, B. ALP, A. Sarıbaş Z, Çakar, A. (2009). *Hacettepe Mikrobiyoloji Serisi-1, Klinik Bakteriyoloji El Kitabı.*

- Enterobacteriaceae. Editör: Özkuyumcu C. Güneş Kitabevi. Ankara, 103-121.
- 16) Topçu AW, Söyletir, G. Doğanay, M. (2002). İnfeksiyon Hastalıkları ve Mikrobiyolojisi, Cilt-2. Nobel Tıp Kitabevi. İstanbul, 1555-82.
- 17) Huber, T.W. (2000). Enterobacter. In Encyclopedia of Food Microbiology (RK Robinson, CA Batt, PD Patel eds) Academic Press, NY. 598-603.
- 18) Koneman EW, Allen SD, Janda WM, Schreckenberger PC, Winn WC. Color Atlas and Textbook of Diagnostic microbiology. 5. baskı. Philadelphia: Lippincott; 252. 1997. 171-172.
- 19) Baykan M. Yersinia, Klebsiella, Enterobacter ve Proteus, Cengiz T. Tıp ve diş hekimliğinde genel ve özel mikrobiyoloji. 1. baskı. Ankara: Güneş Kitabevi; 2004. 474-90.
- 20) Farmer JJ, Boatwright KD, Janda JM. “Enterobacteriaceae: Introduction and Identification” İçinde: Murray PR, Baron EJ, Jorgensen HJ Landry ML, Pfaller MA (eds). Manual of Clinical Microbiology. 9th ed. Washington DC: ASM Press; 2009: 649–669.
- 21) Donnenberg MS. “Enterobacteriaceae” İçinde: Mandell GL, Bannett JE, Dolin R (eds). Principles and Practice of Infectious Diseases, 6th ed. Philadelphia: Elsevier Churchill Livingstone; 2005: 2567-2587.
- 22) Winn Jr WC. The Enterobacteriaceae. In: Winn Jr WC, Allen SD, Janda WM, Koneman EW, Schreckenberger PC, Procop G, Woods GL eds. Koneman’s Color Atlas and Textbook of Diagnostic Microbiology. 6th. Baltimore: Lippincott Williams & Wilkins; 2007: 228-302.

- 23) Mahon CR, Lehman DC, Manuselis G. Textbook of diagnostic microbiology. 3rd ed. St. Louis: Saunders; 2007.
- 24) Erdem B. “Enterobacteriaceae” İçinde: Mutlu G, İmir T, Cengiz AT, Ustaçelebi Ş, Tümbay E, Mete Ö (eds). Temel ve Klinik Mikrobiyoloji. Ankara: Güneş Kitabevi; 1999: 471-515.
- 25) Bopp CA, Brenner FW, Fields PI, Wells JG, Strockbine NA. Escherichia, Shigella and Salmonella. In: Murray PR, Baron EJ, Jorgensen JH, Pfaller MA, Tenover FC, Tenover MC eds. Manual of clinical Microbiology. 8 th ed. Washington DC: ASM press; 2003; 654.
- 26) Ustaçelebi S. Enterobacteriaceae. Temel ve Klinik Mikrobiyoloji. 1. Baskı. Ankara: Güneş Kitabevi Ltd.Şti. 1999:471-517.
- 27) Kucheri R, Dasgupta P, Sacks SH, Khan MS, Sheerin NS. Urinary tract infections: new insights into a common problem. Postgrad Med J 2005; 81 (952): 83-86.
- 28) Murray PR, Baron EJ, Jorgensen JH, Landry ML, Pfaller MA. Bağcıstaoğlu A (Çeviri editörü). Klinik mikrobiyoloji. Manual of clinical microbiology. Çı: Farmer JJ, Tenover FC, Janda JM, editors. Aktepe O. Enterobacteriaceae: Giriş ve tanımlama. 9. Baskı. Washington DC: ASM Press. Ankara: Atlas Kitapçılık; 2009.s.649-669.
- 29) In Nataro JP, Bopp CA, Fields PI, Kaper JB, Strockbine NA eds. Escherichia, Shigella and Salmonella. Manuals of clinical microbiology, Volume 1. 10th ed. Washington DC: ASM Press; 2011.

- 30) 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.
- 31) The Enterobacteriaceae: An Overview, in Microbiology, R.W. Bauman, Editor 2004, Pearson Education: San Francisco. p. 571-576.
- 32) Babic, M., A.M. Hujer, and R.A. Bonomo, What's new in antibiotic resistance? Focus on beta-lactamases. Drug Resist Updat, 2006. 9(3): p. 142-56.
- 33) Gülay Z. Antibiyotiklere direnç mekanizmaları ve çözüm önerileri: Betalaktamlara ve karbapenemlere direnç. Hastane İnfeksiyonları Dergisi. 2001; 5:210-229.
- 34) Gür D. Bakterilerde antibiyotiklere karşı direnç. İçinde, Topçu AW, Söyletir G, Doğanay M, editörler. İnfeksiyon Hastalıkları ve Mikrobiyolojisi. İstanbul: Nobel tıp kitabevleri, 2002:182-193.
- 35) Gür D. Hastane infeksiyonlarında önem kazanan gram-negatif bakterilerde antibiyotiklere direnç mekanizmaları. Hastane İnfeksiyonları Dergisi 1997;1:38-45.
- 36) Kfoury JNS, Araj GF. Recent development in B-lactamases and extended spectrum B-lactamases. British Journal Medicine 2003; 327:1209-1213.
- 37) Essack SY. The development of beta-lactam antibiotics in response to the evolution of beta-lactamases. Pharmaceutical Research. 2001;18:1391-9.
- 38) Akalın E ed, Klinik Uygulamada Antibiyotikler ve Diğer Antimikrobiyal ilaçlar. 1.baskı. Ankara: Güneş Kitabevleri; 1994.

- 39) Gilbert DN. Aminoglycosides. In: Mandel GL, Bennett JE, Dolin R; Livingstone, eds. Principles and practice of infectious diseases 4th ed. New York: Churchill; 1995: 279-305.
- 40) Gorbach SL, Mensa J, Gatell SM, eds. Pocket Book of Antimicrobial Therapy & Prevention. 7nd ed. Baltimore: Williams & Wilkins; 1997.
- 41) Cunha BA. The antibiotic treatment of community-acquired, atypical and nosocomial pneumonias. Med Clin North Am. 1995; 79: 581-597.
- 42) Goodman L ve Gilman A. Goodman & Gilman's The Pharmacological Basis Of Therapeutics. 11th.Ed., McGraw Hill, 2006: 42. Bölüm, 46. Bölüm.
- 43) Baguley D, Lim E, Bevan A, Pallet A, Faust SN. Prescribing for children - taste and palatability affect adherence to antibiotics: a review. Arch Dis Child 2012; 97: 293-7.
- 44) Katzung BG. Basic And Clinical Pharmacology, 10th Ed., McGraw Hill, 2006: VIII. Bölüm.
- 45) Jorgensen JH, Doern GV, Maher LA, Howell AW, Redding JS. Antimicrobial resistance among respiratory isolates of Haemophilus influenzae, Moraxella catarrhalis and Streptococcus pneumoniae in the United States. Antimicrobial Agents and Chemotherapy 1990; 34: 2075-80.
- 46) Schaad UB, Suter S, Gianella-Borradori A. A comparison of ceftriaxone and cefuroxime for the treatment of bacterial meningitis in children. New Eng J Med 1990; 322:141-147.

- 47) Bush K. Improving known classes of antibiotics: an optimistic approach for the future. *Curr Opin Pharmacol*; 2012; 12: 527-34
- 48) Haas DW, Stratton CW, Griffin JP, Weeks L ve Alls SC. Diminished activity of ceftizoxime in comparison to cefotaxime and ceftriaxone against *Streptococcus pneumoniae*. *Clinical Infectious Diseases* 1995; 20: 671-676.
- 49) del Rio MA, Chrane D, Shelton S, McCracken G H Jr. ve Nelson JD. Ceftriaxone versus ampicillin and chloramphenicol for treatment of bacterial meningitis in children. *Lancet* 1983; 1:1241-1244.
- 50) Arslanköylü EA, Kuyucu S, Balcı S, Usta Y. İlk doz seftriakson sonrası anafilaksi. *Türk Pediatri Arşivi* 2011; 46:81-3.
- 51) IOM (Institute of Medicine). Antibiotic resistance: Implications for global health and novel intervention strategies. Washington DC: The National Academies Press, 2010
- 52) Baykal M, Akalın HE. Aztreonam. Editör: Akalın HE. *Antibiyotikler*, 1. baskı, Ankara: Özyurt matbaası, 1989: 73-8.
- 53) Nell HC. Aztreonam activity, pharmacology, and clinical uses. *Am J Med* 1990; 88:30-4.
- 54) Chambers HF, Neu HC. Other  $\beta$ -lactam antibiotics. In: Mandell GL, Bennett JE, Dolin R (eds). *Principles and Practice of Infectious Diseases*. Fourth edition, New York: Curhchill Livingstone, 1995:264-72.
- 55) Saran B., Karahan Z. C., Antimikrobiyal Ajanlara Genel Bakış, *Turk Urol Sem* 2010; 20-216, 1:



- 56) Ulusoy S. B-Laktam Antibiyotikler, Klinik Mikrobiyoloji ve Enfeksiyon Hastalıkları Anabilim Dalı, Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi Notları, İzmir
- 57) Tunalı Y, Karaca H, Öztürk Y, Korkmaz S. Yeni B-Laktamaz İnhibitörlerinin Araştırılması, Anadolu Üniversitesi Bilim ve Teknoloji Derg ; 2009; 10: 2: 565-575.
- 58) Gülay Z., Hücre Duvar Sentezini Etkileyen Antibakteriyeller, Ankem Derg 2003; 17: 3: 192-204.
- 59) Tülek N. B-laktamaz inhibitörleri. Febril Nötropeni 2. Mezuniyet Sonrası Eğitim Kursu, 25-27 şubat 2000 Ankara, Kurs Kitapçığı 2000: 26-28.
- 60) Öncül O., Antibiyotikler I, İ.Ü. Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Sürekli Tıp Eğitimi Etkinlikleri Akılcı Antibiyotik Kullanımı ve Erişkinde Toplumdan Edinilmiş Enfeksiyonlar Sempozyum Dizisi, Kasım; 2002 :31: 23-38.
- 61) Wise R. In vitro and pharmacokinetic properties of the carbapenems. Antimicrobial Agents and Chemotherapy 30 (3): 343–349.
- 62) Kattan JN, Villegas MV, Quinn JP. New developments in carbapenems. Clin Microbiol Infect. 2008; 14: 1102-1111.
- 63) Martinez-Martinez L. Extended-spectrum beta-lactamases and the permeability barrier. Clin Microbiol Infect. 2008;14 Suppl 1:82-9.
- 64) Mouton JW, Youw DJ, Horrevorts AM et al. Comparative pharmacokinetics of the carbapenems: clinical implications. Clin Pharmacokinet 2000; 39: 185-201.
- 65) 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.
- 66) Livermore DM, Sefton AM, Scott GM. Properties and potential of ertapenem. *J Antimicrob Chemother* 2003; 52: 331-344.
- 67) Bassetti M, Nicolini L, Esposito S, Righi E, Viscoli C. Current status of newer carbapenems. *Curr Med Chem.* 2009; 16(5):564-75.
- 68) Mandell L. Doripenem: a new carbapenem in the treatment of nosocomial infection. *Clin Infect Dis.* 2009;49 Suppl 1:S1-3.
- 69) Queenan AM, Shang W, Flamm R, Bush K. Hydrolysis and inhibition profiles of beta-lactamases from molecular classes A to D with doripenem, imipenem, and meropenem. *Antimicrob Agents Chemother.* 2010; 54(1):565-9.
- 70) Hugonnet JE, Tremblay LW, Boshoff HI, Barry CE, Blanchard JS. Meropenem-clavulanate is effective against extensively drug-resistant *Mycobacterium tuberculosis*. *Science.* 2009; 323(5918):1215-8.
- 71) 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.
- 72) Yoshimura F, Nikaido H. Diffusion of beta-lactam antibiotics through the porin channels of *Escherichia coli* K-12. *Antimicrobial agents and chemotherapy.* 1985; 27(1):84-92.
- 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 betalactamases. *J Antimicrob Chemother* 1989;24 Suppl A:207-217.
- 76) Gür D. Beta-laktamazlar. *Flora*; 1997: 283:3-16.
- 77) Akova M, Kayaalp SO. Beta-laktam Antibiyotikler, Sefalosporinler ve Diğerleri In: Kayaalp SO, editor. *Rasyonel Tedavi Yönünden Tıbbi Farmakoloji* 10. Baskı ed. Ankara: Hacettepe Taş Yayınları; 2002. p. 245-6.
- 78) Shah PM. Parenteral carbapenems. *Clin Microbiol Infect* 2008;14(Suppl 1): S17580.
- 79) Alhan E. Yeni Karbapenemler. *J Pediatr Inf*; 2011: 5: 90-4.
- 80) 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.
- 81) Usluer G. Çoklu dirençli patojenler: Epidemiyoloji ve kontrol. *Flora*; 2002: 7:135–141.
- 82) Gülay Z. Antimikrobiyal İlaçlara Direnç. In Ustaçelebi Ş. *Temel ve Klinik Mikrobiyoloji*. Güneş Kitabevi. 1999; 91-108.

- 83) Yurtman A, Limoncu M, Ermertcan Ş, Eraç B: Genişlemiş spektrumlu betalaktamazların saptanmasında fenotipik yöntemlerin karşılaştırılması. *İnfeksiyon dergisi*. 2009; 23 (1): 5-8.
- 84) Çelebi S, Yüce N, Çakır D, Hacımustafaoğlu M, Özkaya G: Çocuklarda genişlemiş spektrumlu  $\beta$ -laktamaz üreten *E. coli* enfeksiyonlarında risk faktörleri ve klinik sonuçları; beş yıllık çalışma. *J Pediatr Inf*. 2009; 3: 5-10.
- 85) Bush K. The evolution of beta lactamases. *Mikrobiyol Bült*. 2000; 34: 7-21.
- 86) Shah, A. A., Hasan, F., Ahmed, S., and Hameed: A. (2004). Characteristics, epidemiology and clinical importance of emerging strains of Gram negative bacilli producing extended-spectrum  $\beta$ -lactamases, *Research in Microbiology*, 155:409-421.
- 87) Livermore DM. Mechanisms of resistance to beta-lactam antibiotics. *Scand J Infect Dis* 1991;(Suppl 78):7-16.
- 88) Masova I, Mobasheny S. Kindship and diversification of bacterial penicillin binding proteins and  $\beta$ -lactamases. *Antimicrob Agents Chemother*, 1998; 1-17.
- 89) Quintiliani JR, Courvalin P. Mechanisms of resistance to antimicrobial agents. Murray PR, Baron EJ, Pfaller MA, Tenover FC, Tenover RH (eds): 6th Manual of Clinical Microbiology,ed.,American Society of Microbiology, Washington.1995; pp.1308-24.
- 90) Sanders CC. beta-Lactamases of gram-negative bacteria: new challenges for new drugs. *Clin Infect Dis*. 1992; 14:1089-1099.

- 91) Sanders CC, Sanders WE. Beta-lactam resistance in gram-negative bacteria: Global trends and clinical impact. *Clin Infect Dis* 1992; 15: 824-39.
- 92) Gür D. *Streptococcus pneumoniae*: İzolasyon, tanı ve antibiyotiklere direnç. *ANKEM Dergisi*, 1995; 9(3): 243-51.
- 93) Nikaido H. Antibiotic resistance caused by gram-negative multidrug efflux pumps. *Clin Infect Dis* 1998;27(Suppl 1):32-41.
- 94) Bambeke FV, Balzi E, Tulkens PM. Antibiotic efflux pumps. *Biochem Pharmacol* 2000; 60: 45-70.
- 95) Forbes A, Sahm F, Weissfeld S (2002). *Bailey & Scott's Diagnostic Microbiology* 11th edition, 214-220.
- 96) Cornaglia G, Mazzariol A, Fontana R. The astonishing complexity of antibiotics resistance. *Clin Microbial Infect* 2000;6(Suppl 3):93-4.
- 97) Bush K, Fisher JF (2011). Epidemiological expansion, structural studies, and clinical challenges of new  $\beta$ -lactamases from gram-negative bacteria. *Annual Review of Microbiology* 65: 455-478.
- 98) Turner PJ (2005). Extended-Spectrum Beta-Lactamases. *Clinical Infectious Diseases* 41(4): 273-5.
- 99) Brun-Buisson C, Philippon A, Ansquer M, Legrand P, Montravers F, Duval J (1987). Transferable Enzymatic Resistance to Third-Generation Cephalosporins During Nosocomial Outbreak of Multiresistant *Klebsiella pneumoniae*. *Lancet* 2(8554):302-6.

- 100) Bush K, Jacoby GA, Medeiros AA. A functional classification scheme for beta lactamases and its correlation with molecular structure. *Antimicrobial agents and chemotherapy*. 1995; 39(6):1211-33.
- 101) Medeiros AA.  $\beta$ -lactamases. *Br Med Bull* 1984;40(1): 18-27.
- 102) Bauernfeind A. Classification of  $\beta$ -lactamases. *Rev Infect Dis* 1986;8(Suppl 5):470-81.
- 103) Matthew M, Harris AM, Marshall M, Ross GW. The use of analytical isoelectric focusing for detection and identification of  $\beta$ -lactamases. *J Gen Microbiol* 1975; 88: 169-78.
- 104) Bush K. Characterization of  $\beta$ -lactamases. *Antimicrob Agents Chemother*. 1989; 33: 259-63.
- 105) Bush K. Classification of  $\beta$ -lactamases: Groups 2c, 2d, 2e, 3 and 4. *Antimicrob Agents Chemother*. 1989; 33: 271-6.
- 106) Livermore DM, Canton R, Gniadkowski M et al. CTX-M: Changing the face of ESBLs in Europe, *J Antimicrob Chemother* 2007; 59(2):165-74.
- 107) Ambler RP. The structure of beta-lactamases. *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci* 1980; 289: 321-31. Epub 1980/05/16.
- 108) Livermore DM. Beta-lactamases in laboratory and clinical resistance. *Clin Microbial Rev*. 1995; 8:557-84.
- 109) Jacoby GA, Mills DM, Chow N. Role of beta-lactamases and porins in resistance to ertapenem and other beta-lactams in *Klebsiella pneumoniae* *Antimicrob Agents Chemother*. 2004; 48(8):3203-6.
- 110) Bush K, Jacoby GA. Updated Functional Classification of  $\beta$ -Lactamases. *Antimicrob Agents Chemother*, 2010; 54: 969–976.

- 111) Queenan AM, Foleno B, Gownley C, Wira E, Bush K. Effects of inoculum and  $\beta$ -lactamase activity in AmpC and extended-spectrum  $\beta$ -lactamase (ESBL)-producing *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae* clinical isolates tested by using NCCLS ESBL methodology. *J. Clin. Microbiol*, 2004; 42: 269–275.
- 112) Bonnet R. Growing group of extended-spectrum  $\beta$ -lactamases: the CTX-M enzymes. *Antimicrob. Agents Chemother.* 2004; 48: 1–14.
- 113) Hall LMC, Livermore DM, Gür D, Akova M, Akalin HE. OXA-11, an extended-spectrum variant of OXA-10 (PSE-2)  $\beta$ -lactamase from *Pseudomonas aeruginosa*. *Antimicrob Agents Chemother* 1993; 37: 1637-44.
- 114) Canton R, Coque TM: The CTX-M  $\beta$ -lactamase pandemic. *Current Opinion In Microbiology*. 2006; 9: 466-475.
- 115) Rew, H. (1989). Resistance mechanisms in *pseudomonas aeruginosa* and other nonfermentative gram negative bacteria. *Clinical infectious diseases: an official publication of the Infectious Diseases Society of America*, 27 (1), 93-99.
- 116) Bradford, PA. Urban, C. Mariano, N. Projan, SJ. Rahal, JJ. Bush, K. Imipenem resistance in *Klebsiella pneumoniae* is associated with the combination of ACT-1, a plasmid-mediated AmpC beta-lactamase, and the loss of an outer membrane protein. *Antimicrobial agents and chemotherapy*. 1997; 41 (3): 563-69.
- 117) Farra A., et al. Role of outer membrane protein OprD and penicillin-binding proteins in resistance of *Pseudomonas aeruginosa* to

- imipenem and meropenem. *Int J Antimicrob Agents*, 2008; 31(5): p. 427-33.
- 118) Centers for Disease Control and Prevention. Facility Guidance for Control of Carbapenem-resistant Enterobacteriaceae (CRE) November 2015. Update - CRE Toolkit
- 119) Queenan AM, Bush K. Carbapenemases: the versatile beta-lactamases. *Clin Microbiol Rev.* 2007; 20(3):440-58.
- 120) Naas T, Nordmann P. Analysis of a carbapenem-hydrolyzing class A beta lactamase from *Enterobacter cloacae* and of its LysR-type regulatory protein. *Proc Natl Acad Sci.* 1994; 91(16):7693-7.
- 121) Poirel L, Heritier C, Tolun V, Nordmann P. Emergence of oxacillinase-mediated resistance to imipenem in *Klebsiella pneumoniae*. *Antimicrob Agents Chemother* 2004; 48: 15-22.
- 122) Livermore, DM. Woodford, N. Carbapenemases: a problem in waiting? *Curr Opin Microbiol*, 2000; 3(5): 489-95.
- 123) Rasmussen BA, Bush K. Carbapenem-hydrolyzing beta-lactamases. *Antimicrob Agents Chemother* 1997; 41: 223-232.
- 124) Nordmann P, Poirel L. The difficult-to-control spread of carbapenemase producers among Enterobacteriaceae worldwide. *Clinical Microbiology and Infection.* 2014; 20 (9): 821-830.
- 125) Yigit H, Queenan AM, Anderson GJ, Domenech-Sanchez A, Biddle JW, Steward CD, Alberti S, Bush K, Tenover FC. Novel carbapenem-hydrolyzing beta-lactamase, KPC-1, from a carbapenem-



- resistant strain of *Klebsiella pneumoniae*. *Antimicrob Agents Chemother.* 2001; 45(4): 1151-61.
- 126) Walther-Rasmussen J, Høiby N (2007). Class A carbapenemases. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy* 60 (3): 470-482.
- 127) Munoz-Price LS, Poirel L, Bonomo RA, Schwaber MJ, Daikos G, Cormican M., Cornaglia G, Garau J, Gniadkowski M, Hayden MK, Kumarasamy K, Livermore DM, Maya JJ, Nordmann P, Patel JB, Paterson DL, Pitout J, Villegas MV, Wang H, Woodford N, Quinn JP (2013). Clinical epidemiology of the global expansion of *Klebsiella pneumoniae* carbapenemases. *The Lancet Infectious Diseases* 13 (9):785-796.
- 128) Bratu S, Landman D, Alam M, Tolentino E, Quale J. Detection of KPC carbapenem hydrolyzing enzymes in *Enterobacter* spp. from Brooklyn, New York. *Antimicrob Agents Chemother* 2005; 49: 776-778.
- 129) Cohen, S.J. Leverstein, VH, MA. (2010). Guideline for phenotypic screening and confirmation of carbapenemases in *Enterobacteriaceae*. *Int J Antimicrob Agents.* 36(3):205-10.
- 130) Endimiani, A. Perez, F. Bajaksouzian, S. Windau, AR. Good, CE. Choudhary, Y. Hujer, AM. Bethel, CR. Bonomo, RA. Jacobs, MR. (2010). Evaluation of updated interpretative criteria for categorizing *Klebsiella pneumoniae* with reduced carbapenem susceptibility. *J Clin Microbiol.* 48(12):4417-25.
- 131) Tumbarello M, Viale P, Viscoli C, Treccarichi EM, Tumbarello F, Marchese A, Spanu T, Ambretti S, Ginocchio F, Cristini F, Losito AR,

- Tedeschi S, Cauda R, Bassetti M. Predictors of mortality in bloodstream infections caused by *Klebsiella pneumoniae* carbapenemase-producing *K.pneumoniae*: importance of combination therapy. *Clinical Infectious Diseases*. 2012; 55 (7): 943-950.
- 132) Poirel L, LE Thomas I, Naas T, Karim A, Nordmann P (2000). Biochemical sequence analyses of GES-1, a novel class A extended-spectrum  $\beta$ -lactamase, and the class 1 integron In52 from *Klebsiella pneumoniae*. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* 44 (3):622-632.
- 133) Giakkoupi P, Tzouveleki LS, Tsakris A, Loukova V, Sofianou D, Tzelepi E. IBC-1, a novel integron-associated class A beta-lactamase with extended-spectrum properties produced by an *Enterobacter cloacae* clinical strain. *Antimicrob Agents Chemother*. *Antimicrob Agents Chemother* 2000; 44: 2247-2253.
- 134) Poirel L, Weldhagen GF, Naas T, De Champs C, Dove MG, Nordmann P (2001). GES-2, a class A  $\beta$ -lactamase from *Pseudomonas aeruginosa* with increased hydrolysis of imipenem. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* 45 (9): 2598–2603.
- 135) 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.
- 136) Walther-Rasmussen, J. Hoiby, N. (2006). OXA-type carbapenemases. *The Journal of antimicrobial chemotherapy*, 57 (3), 373-383.

- 137) Walsh TR. The emergence and implications of metallo- $\beta$ -lactamases in Gram-negative bacteria, *Clin Microbiol Infect* 2005; 11(Suppl 6): 2-9.
- 138) Walsh TR, Toleman MA, Poirel L, Nordmann P. Metallo-beta-lactamases: the quiet before the storm? *Clin Microbiol Rev* 2005; 18: 306-325.
- 139) Shibata N, Doi Y, Yamane K, et al. 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. *J Clin Microbiol* 2003; 41:5407-13.
- 140) Osano E, Arakawa Y, Wacharotayankun R, Ohta M, Horii T, Ito H, Yoshimura F, Kato N (1994). Molecular characterization of an enterobacterial metallo- $\beta$ -lactamase- found in a clinical isolate of *Serratia marcescens* that shows imipenem resistance. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* 38 (1): 71–78.
- 141) Nordmann P, Poirel L (2002). Emerging carbapenemases in Gram-negative aerobes. *Clinical Microbiology and Infection* 8 (6): 321–331.
- 142) Livermore DM (2012). Current Epidemiology and Growing Resistance of Gram Negative Pathogens. *The Korean Journal of Internal Medicine* 27 (2): 128-142.
- 143) Lauretti L, Riccio ML, Mazzariol A, Cornaglia G, Amicosante G, Fontana R, Rossolini GM (1999). Cloning and characterization of blaVIM, a new integron-borne metallo-beta-lactamase gene from a

- Pseudomonas aeruginosa* clinical isolate. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* 43 (7): 1584-1590.
- 144) Yong D, Toleman MA, Giske CG, Cho HS, Sundman K, Lee K, Walsh TR. Characterization of a new metallo $\beta$ -lactamase gene, blaNDM-1, and a novel erythromycin esterase gene carried on a unique genetic structure in *Klebsiella pneumoniae* sequence type 14 from India. *Antimicrob. Agents Chemother*, 2009; 53: 5046–5054.
- 145) Nordmann P, Dortet L, Poirel L. Carbapenem resistance in Enterobacteriaceae: here is the storm!. *Trends in Molecular Medicine*, 2012; 18:263-72.
- 146) Koo VSW, O' Neill P, Elves A. Multidrug-resistant NDM-1 *Klebsiella* outbreak and infection control in endoscopic urology. *BJU Int* 2012;110(11 Pt C):E922-6
- 147) Cornaglia G, Giamarellou H, Rossolini GM. Metallo- $\beta$ -lactamases: a last frontier for  $\beta$ -lactams?. *Lancet Infect Dis*, 2011; 11: 381–93.
- 148) Donald HM, Scaife W, Amyes SG, Young HK. Sequence analysis of ARI-1, a novel OXA beta-lactamase, responsible for imipenem resistance in *Acinetobacter baumannii* 6B92. *Antimicrob Agents Chemother* 2000; 44: 196-199.
- 149) Ledent P, Raquet X, Joris B, Van Beeumen J, Frere JM. A comparative study of classD beta-lactamases. *Biochem J* 1993;292 ( Pt 2):555-562.

- 150) Potron A, Kalpoe J, Poirel L, Nordmann P. European Dissemination of a single OXA-48-producing *Klebsiella pneumoniae* clone. *Clin Microbiol Infect*. 2011; 17: E24–E26.
- 151) Nataraj G. New Delhi metallo beta-lactamase: what is in a name? *J Postgrad Med*. 2010; 56: 251-252.
- 152) Afzal-Shah M, Woodford N, Livermore DM. Characterization of OXA-25, OXA-26, and OXA-27, molecular class D beta-lactamases associated with carbapenem resistance in clinical isolates of *Acinetobacter baumannii*. *Antimicrob Agents Chemother* 2001; 45: 583-588.
- 153) Poirel L, Potron A, Nordmann P (2012). OXA-48-like carbapenemases: the phantom menace. *The Journal of Antimicrobial Chemotherapy* 67 (7): 1597-1606.
- 154) Nordmann P, Naas T, Poirel L. Global spread of carbapenemase-producing Enterobacteriaceae. *Emerg Infect Dis* 2011; 17: 1791-1798.
- 155) Toraman ZA, Yakupogullari Y. Carbapenemase-producing *Pseudomonas aeruginosa* and ciprofloxacin use in neonatal intensive care units. *J Hosp Infect* 2003; 54(2):164-5.
- 156) Aktas Z, Bal C, Midilli K, Poirel L, Nordmann P. First IMP-1-producing *Klebsiella pneumoniae* isolate in Turkey. *Clin Microbiol Infect* 2006; 12(7):695-9.
- 157) Labarca J, Poirel L, Ozdamar M, Turkoglu S, Hakko E, Nordmann P. KPC-producing *Klebsiella pneumoniae*, finally targeting Turkey *New Microbes New Infect* 2014; 2(2):50-1.

- 158) Gülay Z. Enterobacteriaceae moleküler epidemiyolojisi, ANKEM Derg 2014;28(Ek 2):73-6.
- 159) Clinical and Laboratory Standards Institute. Performance standards for antimicrobial susceptibility testing, Twenty-first Informational Supplement, CLSI Document M100-S21, CLSI, Wayne PA (2011).
- 160) Stuart JC, Leverstein-Van Hall MA; Dutch Working Party On The Detection Of Highly Resistant Microorganisms (2010). Guideline for phenotypic screening an confirmation of carbapenemase in Enterobacteriaceae. International Journal of Antimicrobial Agents 36 (3): 205-210.
- 161) Nordmann P, Cuzon G, Naas T. The real threat of Klebsiella pneumoniae carbapenemase-producing bacteria, Lancet Infect Dis 2009; 9(4):228-36.
- 162) Cantón R, Canut A, Morosini MI, Oliver A (2014). Breakpoints for carbapenemase-producing Enterobacteriaceae: is the problem solved? Enfermedades infecciosas y microbiología clínica 32 (4): 33-40.
- 163) Kılıç Ü, Demiray T, Altındış M. Karbapenemaz Üreten Enterobacteriaceae İzolatlarının Saptanmasında Fenotipik Ve Genotipik Metotlar. ANKEM Derg 2016; 30(2):62-75.
- 164) Pitout JD, Nordmann P, Laupland KB et al. Emergence of Enterobacteriaceae producing extended-spectrum-beta-lactamases (ESBLs) in the community. J Antimicrob Chemother 2005; 56(1):52-9.

- 165) Carvalhoes CG, Silva ACR, Streling AP et al. Detection of carbapenemase activity using VITEK MS: interplay of carbapenemase type and period of incubation, *J Med Microbiol* 2015; 64(8):946-7.
- 166) Ghebremedhin B, Halstenbach A, Smiljanic M, Kaase M, Ahmad-Nejad P. MALDI-TOF MS based carbapenemase detection from culture isolates and from positive blood culture vials, *Ann Clin Microbiol Antimicrob* 2016; 15(1):5.
- 167) European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing (EUCAST). Breakpoint tables for interpretation of MICs and zone diameters. Version 3.1., valid from 2013-02-11.
- 168) Clinical Laboratory Standards Institute (CLSI) M100-S23; Vol. 33 No.1, January 2013
- 169) Pasteran FG, Otaegui L, Guerriero L, Radice G, Maggiora R, Rapoport M, Faccone D, Di Martino A, Galas M. *Klebsiella pneumoniae* Carbapenemase2, Buenos Aires, Argentina. *Emerg Infect Dis.* 2008; 14(7):1178-80.
- 170) Nordmann P, Poirel L. Strategies for identification of carbapenemase-producing Enterobacteriaceae. *J Antimicrob Chemother.* 2013; 68(3):487-9.
- 171) Patel G, Huprikar S, Factor SH, Jenkins SG, Calfee DP. Outcomes of carbapenem-resistant *Klebsiella pneumoniae* infection and the impact of antimicrobial and adjunctive therapies. *Infect Control Hosp Epidemiol* 2008; 29: 1099–106.

- 172) Schwaber MJ, Klarfeld-Lidji S, Navon-Venezia S, Schwartz D, Leavitt A, Carmeli Y. Predictors of carbapenem-resistant *Klebsiella pneumoniae* acquisition among hospitalized adults and effect of acquisition on mortality. *Antimicrob Agents Chemother*. 2008; 52: 1028–33.
- 173) Daikos GL, Petrikos P, Psychogiou M, et al. Prospective observational study of the impact of VIM-1 metallo-beta-lactamase on the outcome of patients with *Klebsiella pneumoniae* bloodstream infections. *Antimicrob Agents Chemother* 2009; 53: 1868–73.
- 174) Petrosillo N, Capone A, Di Bella S, Taglietti F. Management of antibiotic resistance in the intensive care unit setting. *Expert Rev Anti Infect Ther* 2010; 8: 289-302.
- 175) Cantón R, Akóva M, Carmeli Y, Giske CG, Glupczynski Y, Gniadkowski M, et al. Rapid evolution and spread of carbapenemases among Enterobacteriaceae in Europe. *Clin Microbiol Infect* 2012; 18(5):413–31.
- 176) Giani, T. Pini, B. Arena, F. Conte, V. Bracco, S. Migliavacca, R. The Amcli-Cre Survey Participants. Pantosti, A. Pagani, L. Luzzaro, F. Rossolini, GM. (2013). Epidemic diffusion of KPC carbapenemase-producing *Klebsiella pneumoniae* in Italy: results of the first countrywide survey, 15 May to 30 June 2011. *Surveillance and outbreaks reports*.
- 177) Carbapenemase-Producing Enterobacteriaceae in Spain. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* p. 6344 – 6347.



- 178) Us E, Kutlu HH, Tekeli A. Karbapenemaz Üreticisi Enterobacteriaceae İzolatlarının Saptanmasında Modifiye Hodge Testi ile İnhibitör Tabanlı Testlerinin Karşılaştırılması. Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Mecmuası. 2016; 69 (3)
- 179) CRE Toolkit, CDC-Guidance for Control of Carbapenem-resistant Enterobacteriaceae (CRE), 2012. <http://www.cdc.gov/hai/organisms/cre/cre-toolkit/f-level-prevention.html>
- 180) Hidron AI, Edwards JR, Patel J, Horan TC, Sievert DM, Pollock DA, Fridkin SK. NHSN annual update: antimicrobial-resistant pathogens associated with healthcare-associated infections: annual summary of data reported to the National Healthcare Safety Network at the Centers for Disease Control and Prevention, 2006-2007. *Infect Control Hosp Epidemiol* 2008; 29: 996-1011. Epub 2008/10/25.
- 181) (EARS-Net).2016, European Antimicrobial Resistance Surveillance Network (EARS-Net). Annual report of the European Antimicrobial Resistance Surveillance Network
- 182) Grundmann H, Glasner C, Albiger B, Aanensen DM, Tomlinson CT, Tambić A. Occurrence of carbapenemase-producing *Klebsiella pneumoniae* and *Escherichia coli* in the European survey of carbapenemase-producing Enterobacteriaceae (EuSCAPE): a prospective multinational study. Stockholm: ECDC;2017.
- 183) Centers for Disease Control and Prevention. Vital signs: carbapenem-resistant Enterobacteriaceae. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep*. 2013; 62:165–70.

- 184) Korten V, Ulusoy S, Zarakolu P, et al. Antibiotic resistance surveillance over a 4-year period (2000– 2003) in Turkey: results of the MYSTIC program. *Diagn Microbiol and Infect Dis* 2007; 59:453-7.  
<https://doi.org/10.1016/j.diagmicrobio.2007.06.016>
- 185) Çalışkan, E. Aytar, AA. Güven, BG. Kaş, E. Dede, A. Toplum kaynaklı ürinersistem enfeksiyonuna neden olan E.coli ve Klebsiella spp. suşlarının çeşitli antibiyotiklere direnç oranlarının ve genişlemiş spektrumlu beta-laktamaz varlığının araştırılması. 2014: Kemoterapi Günleri Program ve Bildiri Özeti Kitabı. İstanbul, PP-23, 140.
- 186) Aytar, AA. Çalışkan, E. Güven, BG. Kaş, E. (2014). Kan Kültürlerinden izole edilen E.coli ve K.pneumoniae izolatlarında genişlemiş spektrumlu beta-laktamaz sıklığı ve bazı antibiyotiklere direnç oranları. 11. Antimikrobik Kemoterapi Günleri Program ve Bildiri Özeti Kitabı. İstanbul, PP 21, 138.
- 187) Yılmaz N, Köse Ş, Ağuş N, Ece G, Akkoçlu G, Kiraklı C. Yoğun bakım ünitesinde yatan hastaların kan kültürlerinde üreyen mikroorganizmalar, antibiyotik duyarlılıkları ve nozokomiyal bakteriyemi etkenleri, *ANKEM Derg* 2010; 24(1):12-9.
- 188) Çıralıgil P. Ülkemizde Yoğun Bakım Ünitelerinde Antimikrobiyal Direnç Sorunu. *Türk Mikrobiyol Cem Derg.* 2016; 46(3): 97-104.
- 189) Nair P. K, et al. Carbapenem resistant Enterobacteriaceae from a tertiary hospital *Journal of Microbiology and Infectious Diseases* 2013; 3 (4): 207-210.

- 190) Kutlu HH. 2016. Çeşitli Klinik Örneklerden İzole Edilen Gram Negatif Enterik Bakterilerde Karbapenemaz Varlığının Ve Tiplerinin Araştırılması (Tıpta Uzmanlık Tezi). Ankara Üniversitesi, Ankara.
- 191) Miriagou V, Cornaglia G, Edelstein M et al. Acquired carbapenemases in Gram-negative bacterial pathogens: detection and surveillance issues. *Clin Microbiol Infect* 2010; 16: 112–122.
- 192) Baker CN, Stocker SA, Culver DM et al. Comparison of E-test to agar dilution, broth microdilution and agar diffusion susceptibility testing techniques by using a special challenge set of bacteria. *J Clin Microbiol* 1991;29: 533-8.
- 193) Girlich D, Halimi D, Zambardi G, Nordmann P. Evaluation of Etest® strips for detection of KPC and metallo-carbapenemases in Enterobacteriaceae. *Diagn Microbiol Infect Dis.* 2013; 77(3):200-1.
- 194) 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.
- 195) Vardakas et al. Characteristics, risk factors and outcomes of carbapenem-resistant Klebsiella pneumoniae infections in the intensive care unit. *Journal of Infection.* 2015; 70: 592-599.
- 196) Kritsotakis et al. Antibiotic use and the risk of carbapenem-resistant Klebsiella infection. *J Antimicrob Chemother.* 2011; 66: 1383–1391.

- 197) Kontopidou et al. Infections caused by carbapenem-resistant *Klebsiella pneumoniae* among patients in intensive care units in Greece: a multi-centre study on clinical outcome and therapeutic options. *Clinical Microbiology and Infection*, Volume 20 Number 2, February 2014
- 198) D.P. Kofteridis et al. Risk factors for carbapenem-resistant *Klebsiella pneumoniae* infection/colonization: A case-control study. *J Infect Chemother*. 2014; 20: 293-297.
- 199) K. E. Silva. Risk factors for KPC-producing *Klebsiella pneumoniae*: watch out for surgery. *Journal of Medical Microbiology*. 2016; 65: 547–553.
- 200) Falagas et al. Risk factors of carbapenem-resistant *Klebsiella pneumoniae* infections: a matched case-control study. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*. 2007; 60: 1124–1130.