



T.C.
ADYAMAN ÜNİVERSİTESİ
LİSANSÜSTÜ BİLİMLER ENSTİTÜSÜ

**Genişlemiş Spektrumlu Beta-Laktamaz Üreten *Escherichia coli* ve
Klebsiella spp. İzolatlarının Ertapenem, Meropenem, İmipenem,
Kolistin, Fosfomisin ve Temosilin'e Fenotipik Duyarlılığının
Belirlenmesi ve Direnç Genlerinin İn House PCR Yöntemiyle
Araştırılması**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

**ARZU TANRIVERDİ
TIBBİ MİKROBİYOLOJİ**

ADYAMAN

2021

T.C.
ADİYAMAN ÜNİVERSİTESİ
LİSANSÜSTÜ BİLİMLER ENSTİTÜSÜ

**Genişlemiş Spektrumlu Beta-Laktamaz Üreten *Escherichia coli* ve
Klebsiella spp. İzolatlarının Ertapenem, Meropenem, İmipenem,
Kolistin, Fosfomisin ve Temosilin’e Fenotipik Duyarlılığının
Belirlenmesi ve Direnç Genlerinin İn House PCR Yöntemiyle
Araştırılması**

Ecz. ARZU TANRIVERDİ
DANIŞMAN ÖĞRETİM ÜYESİ: PROF. DR. GÜLNUR TARHAN

**Bu araştırma Adıyaman Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi
tarafından TIPFYL/2018-0003 proje numarası ile desteklenmiştir.**

ADİYAMAN

2021

TEŐEKKÖR

Yüksek lisans eğitimin boyunca benden bilgi ve deneyimlerini esirgemeyen sevgili danışman hocam Sayın Prof. Dr. Gülnur TARHAN'a, Dr. Öğr. Üyesi Sayın Sadık AKGÜN'e, Adıyaman Üniversitesi 400 Yataklı Eğitim ve Araştırma Hastanesi Mikrobiyoloji Laboratuvarı çalışanlarına, laboratuvarıda beraber çalışmaktan keyif aldığım yüksek lisans arkadaşlarım Sümeyya ÇAPUK ve Şerihan Kübra EMİKOĞLU'na en içten teşekkürlerimi sunarım.

Eğitimim boyunca daima yanımda olan biricik annem Tumay TANRIVERDİ'ye, canım babam Hüseyin TANRIVERDİ'ye, beni daima motive eden ablam Dt. Hasret TANRIVERDİ'ye, kardeşlerim Mehmet TANRIVERDİ ve Işıl TANRIVERDİ'ye sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

ÖZET

Amaç: Antibiyotik direnci tüm dünyada ciddi bir problem olmaya devam etmekte ve önemi giderek daha çok anlaşılmaktadır. *Escherichia coli*, *Klebsiella* spp. gibi direnç gelişiminin fazla görüldüğü Enterobakterilerde direncin sık görülen sebeplerinden biri Genişlemiş spektrumlu beta-laktamaz (GSBL) üretimidir. Yeni antibiyotiklerin keşfinin zor ve maliyetli olması, yeni gelişen antibiyotiklere hızlı bir şekilde direnç gelişimi gibi sebepler, dikkatleri direncin daha az görüldüğü ertapenem, meropenem, imipenem, kolistin, fosfomisin ve temosilin gibi antibiyotiklere çevirmiştir. Bu çalışma, Adıyaman ilinde izole edilen GSBL pozitif *E. coli* ve *Klebsiella* spp. izolatlarının ertapenem, meropenem, imipenem, kolistin, fosfomisin ve temosiline olan in vitro duyarlılığının belirlenmesi ve direnç genlerinin in house PCR yöntemi ile tanımlanması amacı ile yapılmıştır.

Materyal ve metod: Bu çalışmada, Adıyaman Üniversitesi Eğitim ve Araştırma Hastanesi Mikrobiyoloji laboratuvarında 10/2018-01/2019 tarihleri arasında çeşitli poliklinik ve yatan hastalardan alınan klinik örneklerden izole edilen GSBL pozitif 82 adet *E. coli* ve 37 adet *Klebsiella* spp. izolatı değerlendirildi. Bu izolatların ertapenem, meropenem, imipenem, kolistin ve fosfomisin duyarlılığı BD Phoenix® otomatize sistemi ile belirlendi. Karbapenem türevlerine dirençli izolatlarda OXA-48 geni ve kolistine direnç saptanan izolatlarda ise mcr-1 gen varlığı in house PCR yöntemi ile araştırıldı.

Bulgular: 119 GSBL pozitif *E. coli* ve *Klebsiella* spp. izolatında ertapenem ve meropenem, imipenem ile kolistin direnç oranı sırası ile % 28.5 ve % 9.2 olarak bulundu. Bu izolatlarda temosilin direnci % 26.8 olarak saptandı. Çalışmada incelenen 101 GSBL suşunun 3'ü (% 2.9)'u ise fosfomisine dirençli bulundu. PCR testi sonucuna göre kolistin dirençli suşlarda mcr-1 genine rastlanmamıştır. Karbapenem dirençli GSBL pozitif *E. coli* izolatlarının % 23.5'i, *K. pneumoniae* izolatlarının % 47'sinde OXA-48 genine rastlanırken, *K. oxytoca* izolatlarında ise OXA-48 geni tespit edilememiştir.

Sonuç: Çalışmamıza katılan izolatlardaki ertapenem direnci diğer karbapenemlere göre daha yüksek çıkmıştır. Temosilin ülkemizde kullanılmamasına rağmen temosiline karşı yüksek direnç saptanmıştır. mcr-1 geni sıklığı dünyada nadiren görülmekle beraber çalışmamızda mcr-1 genine rastlanmamıştır. OXA-48 geni imipenem dirençli suşlarda ertapenem ve meropenem dirençli suşlara göre daha az saptanmıştır, ayrıca *E. coli* suşlarında *K. pneumoniae* suşlarına oranla daha az görülmüştür.

Anahtar Kelimeler: Antibiyotik direnci, fosfomisin, GSBL, karbapenem, kolistin, mcr-1, OXA-48, temosilin

ABSTRACT

Aim: Antibiotic resistance continues to be a serious problem all over the world its importance is increasingly understood. *Escherichia coli* and *Klebsiella* spp. one of the common causes of resistance in Enterobacteria, where resistance development is high, is the production of Expanded spectrum beta-lactamase (ESBL). The discovery of new antibiotics is difficult and costly, and the rapid development of resistance to newly developed antibiotics has turned attention to antibiotics such as ertapenem, meropenem, imipenem, colistin and temocillin, where resistance is not detected or resistance is seen more slowly. The aim of this study was to determine the in vitro susceptibility of the isolates to ertapenem, meropenem, imipenem, colistin, fosfomycin and temocillin and to identify resistance genes by in house PCR method of ESBL positive *E. coli* and *Klebsiella* spp. isolated in Adıyaman.

Material and Methods: In this study, 82 *E. coli* and 37 *Klebsiella* spp. isolated from clinical samples taken from various outpatient and inpatients between 10 /2018-01 /2019 in Adıyaman University Training and Research Hospital Microbiology Laboratory was evaluated. The susceptibility of these isolates to ertapenem, meropenem, imipenem, colistin and fosfomycin was determined with the BD Phoenix® automated system. Temocillin susceptibility test was performed by disk diffusion method in all ESBL positive isolates. The presence of OXA-48 and mcr-1 genes in isolates with carbapenem derivatives and colistin resistance were investigated by in house PCR method.

Results: In our study, the resistance rates of ertapenem and meropenem, imipenem and colistin of 119 ESBL positive *E. coli* and *Klebsiella* spp. were found as 28.5 % and 9.2 %, respectively. Temocillin resistance was found as 26.8% in these isolates. 3 (2.9%) of 101 ESBL strains examined in the study were found resistant to fosfomycin. According to the results of the PCR test, no mcr-1 gene was found in colistin resistant strains. While the OXA-48 gene was found in 23.5 % of carbapenem resistant ESBL positive *E. coli* isolates and 47 % of *K. pneumoniae* isolates, OXA-48 gene was not detected in *K. oxytoca* isolates.

Conclusions: The ertapenem resistance in the isolates included in our study was higher than other carbapenems. Although temocillin is not used in our country, high resistance to temocillin has been found. Although the frequency of mcr-1 gene is rarely seen in the world, the mcr-1 gene was not found in our study. The OXA-48 gene was less detected in imipenem resistant strains compared to ertapenem and meropenem resistant strains.

Keywords: Antibiotic resistance, carbapenem, colistin, ESBL, fosfomycin, mcr-1, OXA-48, temocillin

İçindekiler

1. GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER	3
2.1. <i>Escherichia coli</i>	3
2.2. <i>Klebsiella</i> spp.	5
2.3. Beta-Laktam Antibiyotikler	8
2.4. Beta-Laktamazlar	10
2.4.1. Genişlemiş Spektrumlu Beta-Laktamazlar (GSBL)	13
2.5. Karbapenemler	15
2.5.1. Karbapenemlere Karşı Direnç Gelişimi	17
2.6. Kolistin.....	20
2.6.1. Kolistine Karşı Direnç Gelişimi	21
2.7. Fosfomisin.....	23
2.8. Temosilin.....	24
2.9. Bakteri Üretim, Tanımlama, Antibiyotik Duyarlılık Testleri ve Direnç Tanımlama Yöntemleri	25
2.9.1. Bakteri Üretim ve Tanımlama	25
2.9.2. Antibiyotik Duyarlılık Testleri ve Direnç Saptama Yöntemleri	25
3. MATERYAL VE METOT	33
3.1. MATERYALLER.....	33
3.1.1. Kullanılan Cihaz ve Aletler	33
3.1.2. Sarf Malzemeler	33
3.1.3. Kullanılan Kimyasallar.....	34
3.1.4. PCR malzemeleri.....	34
3.1.5. Kullanılan Çözeltiler	35
3.2. YÖNTEM.....	36
3.2.1. Kültür, Bakteri Suşları ve Bakteri İdentifikasyonu.....	36
3.2.2. Antibiyotik Duyarlılık Testi.....	36
3.2.2.1. Disk Difüzyon Testi	37
3.3. DNA İzolasyonu.....	38
3.4. PCR	38
3.5. Agaroz Jel Elektroforezi	39
4. BULGULAR.....	41
5. TARTIŞMA	46
6. SONUÇ VE ÖNERİLER.....	53

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

CLSI	Clinical and Laboratory Standards Institute
°C	Santigrat Derece
Dntp	Deoksinükleotit tri-fosfat
DHP	Dehidropeptidaz enzimi
DNA	Deoksiribo nükleik asit
<i>E. coli</i>	<i>Escherichia coli</i>
EMB	Eosin Methylene Blue
EuCAST	European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing
G	Dönme hızı
µg	Mikrogram
GSBL	Genişlemiş spektrumlu beta-laktamaz
IMI	İmipenem hidrolize edici beta-laktamaz
<i>K. oxytoca</i>	<i>Klebsiella oxytoca</i>
<i>K. ozanae</i>	<i>Klebsiella ozanae</i>
<i>K. pneumoniae</i>	<i>Klebsiella pneumoniae</i>
KPC	<i>Klebsiella pneumoniae</i> carbapenemase
mM	Milimolar
NDM	New Delhi metallo-beta-laktamaz
OMP	Dış zar proteini
OXA	Oxasilinaz beta-laktamaz grubu
PBP	Penisilin Bağlayan Protein
PCR	Polymerase Chain Reaction
<i>P. aeruginosa</i>	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>
<i>S. aureus</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>
SME	<i>Serratia marcescens</i> enzimleri
UV	Ultraviyole
ÜSE	Üriner sistem enfeksiyonu
V	Volt
VIM	Verona integron kodlu metallo beta-laktamaz

ŞEKİLLER DİZİNİ

		Sayfa No
Şekil 1	Beta-laktam halkası	8
Şekil 2	Kombine disk yöntemi	27
Şekil 3	Çift disk sinerji yöntemi	28
Şekil 4	E test ile GSBL tayini	28
Şekil 5	Üç boyutlu test	29
Şekil 6	Örneklerin geldiği klinikler ve klinik örnek türüne göre sayısal dağılımları	36
Şekil 7	Temosilin için disk difüzyon sonuçları	37
Şekil 8	OXA-48 geni PCR DNA amplifikasyon görüntüsü	40
Şekil 9	mcr-1 geni PCR DNA amplifikasyon görüntüsü	40
Şekil 10	Klinik örnek türüne göre izole edilen tür ve dağılımı	41

TABLÖLAR DİZİNİ

	Sayfa No
Tablo 1 <i>E. coli</i> 'lerin biyokimyasal özellikleri	4
Tablo 2 <i>Klebsiella</i> spp'lerin biyokimyasal özellikleri	7
Tablo 3 Beta-laktam antibiyotikler	9
Tablo 4 Genişletilmiş beta-laktamazların sınıflandırma şemaları	12
Tablo 5 Enterobacteriaceae için GSBL tarama yöntemleri	26
Tablo 6 GSBL saptama yöntemleri	32
Tablo 7 Temosilin için antibiyogram zon çapı sınır değerleri	37
Tablo 8 PCR'da kullanılan primerlerin özellikleri	39
Tablo 9 BD Phoenix® sistemi antibiyogram test sonuçları	42
Tablo 10 Örneklerin geldiği klinikler, sayısal dağılımları ve antibiyotik direnç oranları	43
Tablo 11 GSBL pozitif izolatların karbapenem grubu, kolistin ve temosiline karşı antibiyotik direnç oranları	44
Tablo 12 Karbapenem dirençli izolatlardaki OXA-48 geni PCR sonuçları	45

1. GİRİŞ

Antibiyotiklerin keşfi ile beraber bulaşıcı hastalıklara karşı savaşın kazanıldığı düşünülmüştür. Ancak günümüzde pek çok bakteri birden fazla antimikrobiyal ajana karşı direnç geliştirmiştir. Dünya genelinde dirençli bakterilerden kaynaklanan enfeksiyonlar önemli morbidite ve mortalite nedenidir (1).

Bakteriler beta-laktam antibiyotiklere direnç konusunda çeşitli mekanizmalar geliştirmiştir. En yaygın direnç mekanizması ise penisilinlerin ve sefalosporinlerin beta-laktam halkasını hidrolize eden beta-laktamaz enzimlerinin üretimidir (2).

Sefalosporinler, penisilinler, karbapenemler ve monobaktamlar, beta-laktamaz ailesinin birçok üyesi tarafından hidrolize edilerek etkisiz hale getirilmektedir. Tüm beta-laktamazların içinde Genişlemiş spektrumlu beta-laktamazlar (GSBL), metallo-beta-laktamazlar ve plazmidlerle kodlanan sefalosporinazların prevalansı dünya çapında artmaktadır (3).

GSBL'ler Enterobakteri ailesine ait pek çok türde bulunan, genetik şifresi plazmidler ile aktarılabilen, seftriakson, seftazidim ve sefotaksim gibi oksimino sefalosporinler ve aztreonama dirençli, etki spektrumu geniş olan beta-laktamaz enzimlerdir. *Klebsiella* türleri ve *Escherichia coli* (*E. coli*) bu enzimi en fazla üreten bakteri türleridir (4).

GSBL ilk olarak 1983'de tanımlanmıştır ve bu tarihten itibaren dünyada GSBL'lerin prevalansı dramatik bir şekilde artmıştır. Örneğin, Fransa'da 1985'te *Klebsiella pneumoniae* (*K. pneumoniae*)'de görülen GSBL sıklığı % 1'den az iken bu oran 1988 yılında yaklaşık olarak % 11'e kadar yükselmiştir (5). Ülkemizde 1992 yılından itibaren GSBL'ler bildirilmiş ve ilerleyen yıllarda oldukça yaygın hale geldikleri anlaşılmıştır (6).

Dünya genelinde GSBL'lerin yayılımı; geniş spektrumlu beta-laktam antibiyotik kullanımı, uzun süre hastanede yatış, vücuda yerleştirilen kalıcı cihazlar ve altta yatan ciddi hastalıklar sebebi ile artmaktadır. Bu durum enfeksiyonların tedavisinde zorluklar yaşanmasına neden olmaktadır. GSBL üreten mikroorganizmalara bağlı hastane enfeksiyonları giderek daha sık görülmekte ve yüksek mortaliteye neden olmaktadır (7). Dünyada GSBL üreten *E. coli* ve *Klebsiella* spp. izolatları nedeniyle oluşan enfeksiyonlarda artmış mortalite ve tedavide başarısızlıklar bildirilmiştir (6).

Karbapenemler, GSBL üreten Enterobakterilerin tedavisinde tercih edilen antibiyotiklerden biridir. Enterobakteriler arasında karbapenem direnci nadirdir, ancak son yıllarda karbapenem direnci endişe verici şekilde artmaya başlamıştır (8).

Karbapenemlerin kullanımının artmasıyla karbapenem dirençli Enterobakteriler ortaya çıkmaya başlamıştır. Kolistin GSBL üreten Enterobakterilerin sebep olduğu enfeksiyonların tedavisinde karbapenemlere alternatif olarak önerilmektedir (9).

Karbapenem dirençli Enterobakteri içeren çoklu ilaç dirençli patojenlere karşı mevcut alternatif tedavilerinden biri de fosfomisin (10). Fosfomisin, yıllardır üriner sistem enfeksiyonu (ÜSE) başta olmak üzere çeşitli enfeksiyonların tedavisinde kullanılmasına rağmen, dünyada *E. coli* suşlarındaki direnç insidansının son derece düşük kaldığı nadir antibiyotiklerden biri olma özelliğini taşımaktadır (11).

Temosilin, esas olarak Enterobakteri familyasına karşı etkili olan ve çoğu AmpC ve GSBL dahil olmak üzere pek çok beta-laktamaza karşı dayanıklı olan dar spektrumlu bir penisilindir (12). 2000'li yılların ortasında GSBL üreten Enterobakterilerin yaygınlaşması ve son zamanlarda karbapenem direncinin artmaya başlaması ile beraber bu eski antibiyotiğe ilgi tekrar artmıştır (12,13).

Bu çalışma ile GSBL üreten *E. coli* ve *Klebsiella* spp. izolatlarındaki ertapenem, meropenem, imipenem, kolistin, fosfomisin ve temosilin gibi antibiyotik direncinin daha az görüldüğü antibiyotiklere direnç oranı saptanmaya çalışılmıştır. Karbapenem türevi antibiyotiklere dirençli suşlarda OXA-48, kolistin dirençli suşlarda ise *mcr-1* direnç genlerine bakılarak bu genlerin yaygınlık oranları belirlenmeye çalışılmıştır.

2. GENEL BİLGİLER

Enterobacteriaceae familyası; insanda enfeksiyon etkeni olan ve sıkça izole edilen birçok bakteri tür ve cinsini barındıran, tıbbi önemi çok büyük bir bakteri ailesidir. Bu aileye mensup bakterilerin pek çoğu bitkilerde, suda, toprakta, insan ve hayvan bağırsak dışı floralarında saprofit ve kommensal olarak bulunmaktadır. Bazıları insanlar için daimi patojen iken (Shigella, Salmonella, Yersinia), bazıları (Escherichia, Klebsiella) bulundukları ortam dışındaki başka vücut bölgelerinde fırsatçı enfeksiyonlara neden olabilmektedir (14, 15, 16).

Bu ailede bulunan tüm üyeler aerob ve fakültatif anaerob, sporsuz, glikozu fermente eden, nitrati nitrite indirgeyen, katalaz enzimi pozitif, sitokrom oksidaz enzimi negatif olan gram-negatif basillerdir (12).

Enterobakteri ailesinin üyelerinin belirlenmesinde bakteri kolonilerinin farklı besiyeri ortamlarındaki biyokimyasal özelliklerinin incelenmesi önemli belirteçlerdendir. Örneğin, laktozu fermente etme özelliği; laktozu fermente eden türleri (Escherichia, Klebsiella, Enterobacter, Citrobacter ve Serratia türleri gibi) laktozu fermente etmeyen veya yavaş fermente eden türlerden (Proteus, Salmonella, Shigella ve Yersinia türleri) ayırmada veya bazı seçici besiyerlerinin içeriğindeki safra tuzlarına karşı direnç özelliği; bazı enterik patojenleri (Salmonella, Shigella) safra tuzu ile inhibe olan kommensal mikroorganizmalardan ayırt etmede kullanılmaktadır (12).

Enterobakteriler önemli hastane enfeksiyonu (nosokomiyal) etkenlerindendir. Hastane kaynaklı ÜSE ve menenjitlerin yaklaşık % 50'sinden, pnömonilerin % 30'undan, bakteriyemi ve cerrahi alan enfeksiyonlarının ise % 25'inden sorumludurlar (17).

2.1. *Escherichia coli*

E. coli, Escherichia ailesi içerisinde yer alan beş türden hastalığa en fazla sebep olan türdür ve Enterobacteriaceae'ye bağlı enfeksiyonların % 20'ye yakınından sorumludur (18).

E. coli, 1855 yılında Theodor Escherich isimli bir Alman pediatrist tarafından, ishalleri infantların dışkılarından izole edilerek *Bacterium coli commune* olarak adlandırılmıştır. 1919 yılında ise Castellani ve Chamer, bakterinin adını izole eden kişinin adı olarak değiştirmiş ve bakteri *Escherichia coli* olarak adlandırılmaya başlanmıştır (19).

E. coli 'ler, gram negatif, 1,1-1,5 x 2,0-6,0 µm boyutlarında, fakültatif anaerob ve çomak şekilli bakterilerdir. Hareketsiz olanlara da rastlanmakla beraber birçoğu hareketlidir ve peritrik flagellaya sahiptir. Enterobacteriaceae için diferensiyel-selektif besiyeri olan MacConkey agar, kanlı agar, nutrient agar ve Eosin Methylene Blue (EMB) agar gibi besiyerlerinde 37 °C'de 24 saat içinde S tipi koloniler oluştururken nutrient (besleyici) buyyonda ise 37 °C'de 24 saatte bulanıklık yaparak ürerler (20).

E. coli'ler fiziksel ve kimyasal etkenlere karşı oldukça dirençlidir. Doğal koşullarda (hayvan barınakları, dışkı, su) aylarca canlı kalabilirler. Kreosol ve fenol gibi dezenfektanlara dirençli olmakla beraber genel olarak dezenfektanlara, bazı boyalara (malaşit yeşili, fuksin), safra ve safra tuzlarına, % 7 NaCl'ye duyarlıdırlar. 55 °C' de 1 saat ısıtmakla inaktive olmazlar ve soğuğa dirençlidirler. *E. coli* 'lerin O (somatik), H (flagellar), K (kapsüler) ve fimbrial (pilus) antijenleri bulunmaktadır (20).

Glikoz, mannitol, laktoz gibi karbonhidratları asit ve gaz oluşturarak fermente etmektedirler. Laktozu fermente edenler EMB agarda yeşil-metalik rölfe veren koloniler oluştururken, MacConkey agarda ise pembe renkli koloniler oluştururlar. Kanlı agarda bazı suşları hemoliz yapabilmektedir (20).

E. coli bakterilerinin IMVIC olarak bilinen biyokimyasal özellikleri (triptofandan indol oluşturma, metil kırmızısı testi, Voges Proskauer testi, sitratı kullanma) (+ + – –) olarak gösterilir, ayrıca oksidaz negatiftir ve üreyi parçalayamazlar. Sisteinli besiyerinde az miktarda H₂S oluşturmakla beraber genel olarak Hidrojen sülfür oluşturamazlar. Katalaz pozitif iken potasyum siyanür testleri negatiftir (20).

Tablo 1: *E. coli*'lerin biyokimyasal özellikleri

Test	Özellik
Triptofandan indol oluşturma	+
Metil kırmızısı testi	+
Voges Proskauer testi	-
Sitrat kullanma	-
Oksidaz	-
Üre	Parçalayamaz
Katalaz	+
Potasyum siyanür testi	-

E. coli, kuşların ve memelilerin bağırsak flora bakterisidir ve diğer flora mikrobakterileri ile denge içinde oldukları müddetçe hastalık oluşturmaz. *E. coli*, bağırsak hastalıklarına sebep olduğu gibi bağırsak kanalı dışından diğer dokulara yerleşerek genelde üriner sistem, safra yolları ve safra kesesi, menenj, periton ve akciğerlere ulaşarak önemli hastalıklara neden olabilmektedir (21).

E coli sepsiste en sık izole edilen gram negatif bakteridir. Toplumdan kazanılmış ÜSE'lerin % 80'den fazlasının ve çoğu hastanede kazanılmış ÜSE'lerin etkenidir. Gelişmekte olan ülkelerde en önemli gastroenterit nedenlerinden biridir (22).

E coli yenidoğanlarda neonatal menenjitte yol açabilmektedir (22). Yenidoğan *E. coli* menenjiti, dünyada morbidite ve mortalitenin en önemli sebeplerinden biridir. *E. coli*, *Streptococcus agalactia*'dan sonra yenidoğan akut bakteriyel menenjitlerinde en sık görülen etkenlerdendir (23).

Değişik mekanizmaları kullanarak ishale neden olan *E. coli*'nin 6 tipi belirlenmiştir.

- Enterotoksijenik *E. coli* (ETEC)
- Enterohemorajik *E. coli* (EHEC)
- Enteroinvazif *E. coli* (EIEC)
- Enteropatojenik *E. coli* (EPEC)
- Enteroagregatif *E. coli* (EAEC)
- Diffüz adeziv *E. coli* (DAEC)

Enteropatojenik *E. coli* (EPEC) çocuklarda ishale, enterotoksijenik *E. coli* (ETEC) turist ishaline, enterohemorajik *E. coli* (EHEC) hemolitik üremik sendroma sebep olabilen verotoksin üreten, enteroinvazif *E. coli* (EIEC) Shigella benzeri ishale ve akut/kronik ishal ile besin zehirlenmelerine, enteroagregatif *E. coli* (EAEC) akut/kronik ishal ile besin zehirlenmelerine neden olabilen *E. coli* alt türlerindendir (15,16).

2.2. Klebsiella spp.

Klebsiella türleri, adını Alman mikrobiyolog Edwin Kleps'ten alan, çubuk şekilli, gram negatif, oksidaz negatif, hareketsiz, polisakkarit kapsüle sahip olan Enterobacteriaceae ailesinin üyesi bakterilerdir (24). Klebsiella türleri doğada her yerde bulunmaktadır. Klebsiella iki ortak habitata sahiptir; bunlardan biri yüzey sularında,

kanalizasyonda, toprakta ve bitkilerde, diğeri ise kolonize ettikleri insanlar, atlar veya domuzlar gibi memelilerin mukozal yüzeylerinde yer almaktadır (25).

Klebsiella izolatlarının immün sistemi zayıf olan kişilerde enfeksiyon oluşturma riski daha yüksektir. Hastalık genel olarak; direnci zayıf, orta yaşlı veya yaşlı kişileri etkilemektedir. Hasta popülasyonu genellikle respiritüel konak savunması azalan, kronik obstrüktif akciğer hastalığı olan, alkolizm, diyabet, karaciğer hastalığı veya kanser gibi hastalıkları bulunan, glukokortikoid terapisi alan veya kronik böbrek yetmezliği olan kişilerden oluşmaktadır. Bu hastalarda bulaş oranı daha yüksektir. Klebsiella suşları hastanede yatan bir hastadan diğeri hastaya geçebilmektedir. En önemli bulaş yolu feçestir, ayrıca kontamine eşyaların kullanımı da enfeksiyon bulaş riskini arttırmaktadır (26).

Hastane enfeksiyonları dışında Klebsiella bakterisinin neden olduğu en yaygın enfeksiyon pnömonidir. Enfeksiyonların en tipik şekli ise bronkopnömoni ve bronşittir. Bu hastalar ampiyemi, akciğer apsesi, üral adhezyon ve kavitasyon gelişmesine yatkındırlar ve antimikrobiyal tedaviye rağmen hastalarda ölüm oranı % 50'dir. Alkolizm ve bakteriyemi ile mücadele eden hastalarda mortalite daha fazla gözlenmektedir (26).

Klebsiella bakterilerinin serbest bir toksini olmamakla beraber, kültür süzüntüleri bazı hayvanlarda ciddi hemorajik lezyonlara sebep olmaktadır. Enterotoksin saptanan Klebsiella türleri de mevcuttur. Bazı türlerinde R plazmidleri kolaylıkla yayılmaktadır ve bu durum da antibiyotiklere karşı çoklu direnç kazanmalarına neden olmaktadır (27). Klebsiella türleri bakteriyosin oluşturmaktadır ve bu bakteriyosinlere Pneumocin adı verilmektedir (28).

Tablo 2: Klebsiella spp. lerin biyokimyasal özellikleri (25)

Cins	Klebsiella						
Tür	subsp. <i>pneumoniae</i>	subsp. <i>ozaenae</i>	subsp. <i>rhinoscleromatis</i>	<i>oxytoca</i>	<i>terrigena</i>	<i>Planticola</i>	<i>ornithinolytica</i>
İndol	-	-	-	+	-	D	+
Ornitin dekarboksilaz	-	-	-	-	-	-	+
Lizin dekarboksilaz	+	D	-	+	+	+	+
Pektat degradasyon	-	-	-	+	-	-	-
44.5 °C'de laktozdan gaz oluşumu	+	-	-	-	-	-	-
+10 °C'de üreme	-	-	-	+	+	+	+
D-Melezitoz	-	-	-	D	+	-	-
L-Sorboz	D			+	+	+	
Üreaz	+	D	-	+	+	+	
m-hidroksibenzoat kullanımı	-	-	-	+	+	-	-

(+): Olumlu, (-): Olumsuz, D: Değişken

Klebsiella türleri kateter ile ilişkili ÜSE'ler ve ventilatör ile ilişkili pnömoni gibi hastane enfeksiyonlarının yaygın nedenlerindendir ve mortaliteleri yüksektir. Cinsin klinik olarak en önemli üyesi *K. pneumoniae*, ardından *Klebsiella oxytoca* (*K. oxytoca*)'dır (29).

K. pneumoniae 'ler, 1,0-2,0 x 0,5-0,8 µm boyutlarında, uçları yuvarlak ve kısa, sporsuz ve hareketsiz gram negatif basillerdir. Polisakkarit yapısında kapsülü bulunan, aerob ve fakültatif anaerob özellik gösterebilen, 37 °C'de ve pH 7 'de iyi üreyebilen bakterilerdir. Doğada yaygın olarak bulunmaktadır. Sıcaklığa dayanıksız, kuruluğa dirençlidirler. Oda sıcaklığında haftalarca, 4 °C'de ise aylarca canlı kalabilmektedirler. Polisakkarit yapısında O (somatik) ve K (kapsül) adı verilen antijenleri bulunmaktadır ve serolojik tiplendirmeler bu antijenlere göre yapılmaktadır (25).

K. pneumoniae'den kaynaklanan enfeksiyonlar, hafif ÜSE ile yüksek morbidite ve mortaliteye sahip şiddetli bakteriyemi ve pnömoni arasında değişebilmektedir (30).

K. oxytoca, 2 µm x 5 µm boyutlarında, silindirik çubuk şekle sahip gram negatif bir bakteridir. *K. pneumoniae*'den indol pozitif olması ve melezitozda üreyebilmesi, ancak 3-hidroksibutiratta üreyememesi ile ayrılmaktadır (31). *K. oxytoca* bitki konakçılarını

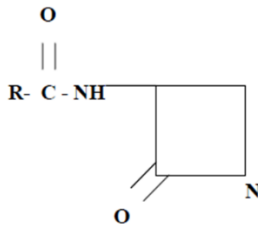
kolonize edebilen ve atmosferik nitrojeni bitkinin kullanabileceği bir forma sabitleyebilen bir diazotroftur (32).

K. oxytoca, çoğu genellikle bağışıklığı zayıflamış hastalarda veya yoğun bakım gerektiren kişilerde hastane enfeksiyonlarına sebep olan fırsatçı bir patojendir (33).

K. oxytoca, beta-laktamaz üretmesi sebebi ile penisilin ve ampisiline karşı oldukça dirençlidir. Ayrıca GSBL üreten suşları da bulunmaktadır; bu nedenle seftazidim gibi geniş spektrumlu sefalosporinlere karşı çoklu direnç geliştirebilmektedir (34).

2.3. Beta-Laktam Antibiyotikler

Beta-laktam antibiyotikler, antibakteriyel etkisini hücre duvar sentezini inhibe ederek gösteren ve kimyasal yapılarında ortak bir beta-laktam halkası taşıyan geniş bir antibiyotik grubudur (35).



Şekil 1: Beta-Laktam halkası

Beta-laktam antibiyotikler güvenilir olmaları, etki spektrumlarının geniş olması nedeniyle halen dünyada yaygındırlar ve dünyada kullanılan tüm antibiyotiklerin % 60'ını oluşturmaktadırlar (36). Ayrıca tüm yaş gruplarında kullanılabilmeleri, ökaryotik organizmalarda düşük yan etki insidansına sahip olmaları, üstün etkinlik ve bakteriyel kökenli neredeyse tüm enfeksiyonlarda etkili olmaları tercih edilmelerini sağlayan diğer nedenlerdendir (37).

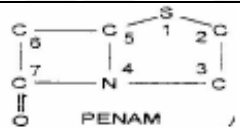
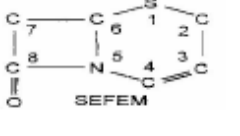
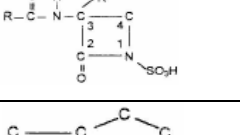
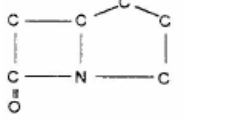
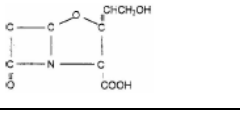
Beta-laktam antibiyotikler etkilerini bakterilerin peptidoglikan tabakasının sentezini bozarak gösterirler. Peptidoglikan (mürein) tabakası bakterilerin hücre duvarında bulunur, yapı ve bütünlüğü sağlar. Bu tabaka çapraz bağlı kısa peptid zincirleriyle sağlam bir hâl alır. N-asetil muramik asidin yapısında bulunan D-alanin D-alanin moleküllerinin transpeptidasyon reaksiyonu ile birleşmeleri, çapraz bağlar oluşmasını sağlar. Transpeptidaz reaksiyonunu oluşturan enzimlere ise penisilin bağlayan proteinler (PBP) ismi verilir ve beta-laktam antibiyotiklerin temel hedefidir. Çünkü beta-laktam antibiyotiklerin yapıları ve uzaydaki konfigürasyonları, D-alanin D-alanin

molekülüne çok benzemektedir. Bu benzerlik, beta-laktam antibiyotiklerin PBP ile reaksiyona girmelerini ve D-alanin D-alanin moleküllerinin yerine geçerek transpeptidasyonu engellemelerini sağlamaktadır (38).

Beta-laktam antibiyotikler 5 sınıfta incelenmektedir:

- a- Penisilinler
- b- Sefalosporinler
- c- Monobaktamlar
- d- Karbapenemler
- e- Beta-laktamaz İnhibitörleri

Tablo 3: Beta-Laktam Antibiyotikler (39)

Beta-Laktam Antibiyotikler	Yapısı	Etki
Penisilinler Doğal penisilinler Aminopenisilinler Karboksipenisilinler Üreidopenisilinler Penisilinaza Dirençli Penisilinler		Gram (+) bakterilere daha etkilidirler. Gram (-) ve Stafilokoklara etkisiz, bazı gram (-) bakterilere etkili, beta-laktamaz üreten bakterilere etkisiz, Pseudomonaslara etkisizdirler. <i>P. aeruginosa</i> , <i>Serratia</i> , <i>Enterobacter</i> türlerine etkili, geniş spektrumlu penisilinlerdir. Gram (-) bakteriler ve <i>Pseudomonas</i> 'lara etkilidirler. Penisilazlara dayanıklıdır, sadece Stafilokoklarda kullanılırlar. MRSA'ya karşı etkisizdirler.
Sefalosporinler 1.Kusak Sefalosporinler 2.Kusak Sefalosporinler 3.Kusak Sefalosporinler 4.Kusak Sefalosporinler		Gram (+) ve (-) bakterilerde etkili, beta laktamaz üreten bakterilerde etkisizdirler. Gram (+) ve (-) bakterilerde etkilidirler. Gram (-) bakterilere etkili, sefotaksim gram (+) bakterilere etkili, seftazidim <i>P. aeruginosa</i> 'ya etkilidirler. Gram (-) bakterilere etkili, gram (+) bakterilere 3. kusaklardan daha etkilidirler.
Monobaktamlar (Aztreonam)		Gram (-) bakterilere etkili, gram (+) ve anaerobik bakterilere etkisiz dar spektrumlu antibiyotiklerdir.
Karbapenemler (Ertapenem, Meropenem, İmipenem)		En geniş etki alanına sahip antibiyotiklerdir. Beta laktamaz enzimlerine dayanıklıdır. Gram (-) enterik bakterilerdir. Nonfermentatif bakterilere karşı etkilidirler.
Beta Laktamaz İnhibitörleri (Klavulanik asit, Sulbaktam, Tazobaktam)		Beta laktamlar ile kombine kullanılırlar. Gram (+) ve gram (-) bakterilerin beta laktamazlarına etkilidirler.

Beta-laktam antibiyotiklerin yaygın kullanılmaları, bakterilerin yeni direnç mekanizmaları oluşturmalarına ve hem toplum hem de hastane kökenli etkenlerde beta-laktam antibiyotiklere karşı direncin artmasına neden olmuştur (37).

Bakterilerde beta-laktam antibiyotiklere karşı direnç dört yolla oluşabilmektedir (40).

a- PBP'lerde oluşan değişiklikler ile gelişen direnç:

Direnç, PBP'nin beta-laktam antibiyotiklere afinitesinin azalması, beta-laktam antibiyotiklere düşük afinite gösteren yeni PBP'lerin sentezlenmesi, PBP sayısında azalma veya kromozomal mutasyon sonucu PBP'lerin yapısının değişmesiyle oluşabilmektedir (38,40).

b- Dış membran proteinlerinde meydana gelen değişiklikler ile ilacın hücre içine girişinin engellenmesi:

Beta-laktam antibiyotikler, gram negatif bakterilerin dış membranındaki porin proteinlerinden yapılmış olan porlardan geçmektedirler. Antibiyotiğin bakteri içine girmesini bu porinlerin sayısı, porinlerdeki yük, büyüklük, çözünürlük gibi özellikleri belirlemektedir. Antibiyotiğin aktif pompalama ile dışarı atılması veya porlarda geçirgenliğin azalması bu tür direncin sebeplerindendir (40).

c- Otolitik enzim eksikliği veya olmayışı:

Penisilinler tarafından tetiklenen otolitik aktivitenin azalması veya ortadan kalkması ile direnç oluşmasıdır (40).

d- Beta-laktamaz enzimleri ile ilacın inaktive edilmesi:

Beta-laktam antibiyotiklere karşı klinikte görülen direncin en sık nedenidir. Plazmid veya kromozom kontrolünde yapılan ve beta-laktam halkasını hidrolize ederek antibiyotiğin etkisine engel olan beta-laktamaz enzimleri tarafından gerçekleştirilmektedir (40).

2.4. Beta-Laktamazlar

Beta-laktamaz enzimleri; penisilin, sefalosporin gibi beta-laktam halkası taşıyan antibiyotikleri hidrolize etmektedirler. Bu sayede antibiyotiklerin etkisini ortadan kaldırarak bu antibiyotiklere karşı direnç oluşmasına sebep olurlar. Bu etkilerini, beta-laktam halkasındaki karbonil grubu ile ester bağı kurarak ve siklik amid bağı bozarak gösterirler (41).

Gram negatif bakterilerin birçoğunda kromozomal veya plazmidik olarak kodlanan beta-laktamaz enzimleri üretilmektedir. Plazmidik enzimleri kodlayan genler,

genelde bir bakterinin kromozomundaki bir genin aynı bakterideki plazmide atlaması ve oradan farklı bakteriler arasında plazmid aktarımı ile ortaya çıkmaktadır (42).

1970’li yılların başında bilinen birkaç tane beta-laktamaz enzimi varken bu sayı ilerleyen yıllarda hızla artmıştır. 2018 yılına gelindiğinde yaklaşık olarak 2800 beta-laktamaz enzimi tanımlanmıştır (43,44).

Beta-laktamazlar farklı şekillerde sınıflandırılmaktadırlar. Günümüzde en yaygın kullanılan Bush-Jacoby ve Medeiros tarafından yapılan fonksiyonel sınıflandırma ve Ambler tarafından yapılan moleküler sınıflandırmadır (45).



Tablo 4: Genişletilmiş beta-laktamazların sınıflandırma şemaları (46)

Bush-Jacoby Sınıflandırması (2009)	Bush-Jacoby- Medeiros Sınıflandırması(1995)	Moleküler sınıflandırma (altgrup)	Ayrıtedici substrat(lar)	Karakteristik tanımlama (lar)	Örnek enzim(ler)
1	1	C	Sefalosporinler	Sefalosporinlerin benzilpenisilin'den daha fazla hidrolizi; sefamisinlerin hidrolizi	<i>E. coli</i> AmpC, P99, ACT-1, CMY-2, FOX-1, MIR-1
1e	NI ^b	C	Sefalosporinler	Seftazidim ve sıklıkla diğer oksimino-β-laktamların artmış hidrolizi	GC1, CMY-37
2a	2a	A	Penisilinler	Benzilpenisilinlerin sefalosporinlerden daha fazla hidrolizi	PC1
2b	2b	A	Penisilinler 1. kuşak	Benzilpenisilin ve sefalosporinlerin benzer hidrolizi	TEM-1, TEM-2, SHV-1
2be	2be	A	Geniş spektrumlu sefalosporinler, Monobaktamlar	Oksimino β-laktamların (sefotaksim, seftazidim, seftriakson, sefepim, aztreonam) artmış hidrolizi	TEM-3, SHV-2, CTX-M-15, PER-1, VEB-1
2br	2br	A	Penisilinler	Klavulanik asit, sulbaktam ve tazoaktama direnç	TEM-30, SHV-10
2ber	NI	A	Geniş spektrumlu sefalosporinler, monobaktamlar	Oksimino β-laktam hidrolizi ile klavulanik asit, tazobaktam, sulbaktam direnci kombinasyonunun artması	TEM-50
2c	2c	A	Karbenisilin	Karbenisilin hidrolizinin artması	PSE-1, CARB-3
2ce	NI	A	Karbenisilin, sefepim	Karbenisilin, sefepim ve sefpirom hidrolizinin artması	RTG-4
2d	2d	D	Kloksasilin	Kloksasilin veya oksasilin hidrolizinin artması	OXA-1, OXA-10
2de	NI	D	Geniş spektrumlu sefalosporinler	Kloksasilin veya oksasilin ve oksimino β-laktam hidrolizinin artması	OXA-11, OXA-15
2df	NI	D	Karbapenemler	Kloksasilin veya oksasilin ve karbapenem hidrolizinin artması	OXA-23, OXA-48
2e	2e	A	Geniş spektrumlu sefalosporinler	Sefalosporinlerin hidrolizi. Klavulanik asit tarafından inhibe edilir; ancak aztreonam tarafından inhibe edilmez	CepA
2f	2f	A	Karbapenemler	Karbapenemler, oksimino β-laktamlar ve sefamisinlerin hidrolizi	KPC-2, IMI-1, SME-1
3a	3	B(B1) B(B3)	Karbapenemler	Karbapenemleri içeren fakat mono baktamları ıermeyen geniş spektrumlu hidroliz	IMP-1, VIM-1, CcrA, IND-1
3b	3	B(B2)	Karbapenemler	Karbapenemlerin öncelikli hidrolizi	L1, CAU-1, GOB-1, FEZ-1
NI	4	Bilinmiyor			CphA, Sfh-1

NI: İçermiyor

2.4.1. Genişlemiş Spektrumlu Beta-Laktamazlar (GSBL)

GSBL üreten bakteriler, monobaktamlar ve üçüncü kuşak sefalosporinlere karşı dirençli iken, karbapenemler veya sefamisinlere duyarlıdır. Ayrıca bu mikroorganizmalar birçok antimikrobiyal ajana (kinolonlar, trimetoprim-sülfametoksazol, aminoglikozidler, amoksisilin/klavulanik asit vb.) karşı azalmış duyarlılık göstermektedirler. Bu sebeple GSBL üreten mikroorganizmaların neden olduğu enfeksiyonlarda uygun antibiyotik seçenekleri sınırlıdır ve çoklu ilaç direnci nedeniyle ampirik tedavi protokollerini belirlemek güçtür (47).

GSBL'ler 1983'de Almanya'da (*K. pneumoniae*'de) keşfedilmiş olup, ilk olarak Fransa'da klinik probleme sebep olmuştur. 1985-1987 yılları arasında Fransa'da TEM-3 beta-laktamazı üreten suşların sebep olduğu bir salgın görülmüştür. Paris civarındaki hastanelerde 1985'te % 1'in altında saptanan bu tip direnç, 1988-1989'da % 10'lara ulaşmış, daha sonra diğer Avrupa ülkeleri ve sonunda dünyada yaygın hâle gelmiştir (48).

GSBL plazmidleri, Enterobacteriaceae'deki farklı cinsler arasında kolay bir şekilde transfer edilebilmektedir. Bu durum, direnç genlerinin bir araya gelmesine ve çoğul dirençli plazmidleri bulunduran suşların oluşmasına neden olmaktadır. Bu sebeple GSBL bulunduran suşlar farklı antibiyotik sınıflarına da dirençli hale gelmektedirler (25).

GSBL enzimlerinin yayılımı hakkında pek çok epidemiyolojik çalışma yapılmıştır. ABD, Almanya, İngiltere ve Fransa gibi Avrupa ülkeleri, Arjantin ve Şili gibi Orta ve Güney Amerika ülkeleri, Avustralya, Nijerya ve Kenya gibi Afrika ülkeleri, Orta Doğu ülkeleri, Japonya, Çin ve Kore gibi Uzak Doğu ülkelerinde tespit edilmiştir (45).

GSBL'ler, özellikle *E. coli* ve *Klebsiella* suşlarında yaygın olarak bulunsa da, diğer gram negatif bakterilerde de (*Enterobacter* spp, *Proteus* spp, *Salmonella* spp, *Citrobacter* spp, *Morganella morganii*, *Pseudomonas aeruginosa* (*P. aeruginosa*), *Burkholderia cepacia*, *Capnocytophaga ochracea* gibi) bulunabilmektedir (49).

GSBL'ler aminoasit dizilerinin karşılaştırılmasına göre yapısal/evrimsel olarak dokuz farklı grup içinde toplanmaktadır. Bu gruplar OXA, TEM, SHV, CTX-M, VER, PER, TLA, GES/IBC, ve BES 'tir (50).

İlk GSBL varyantlarını içeren ve hem varyant sayısı hem de üretici suş izolasyonu bakımından prevalansı en yüksek aileler, TEM ve SHV enzimlerinden türemişlerdir. OXA enzimleri ise sadece sınıf D'de bulunan ve nispeten yaygın bir GSBL ailesidir (50).

TEM, SHV ve OXA grubu GSBL'ler, sırasıyla TEM-1 ve TEM-2, SHV-1, OXA-2 ve OXA-10 gibi beta-laktamazların yapısal türevleridir (50).

Gram negatif bakterilerde en sık rastlanan enzim TEM-1'dir. Bu enzim, penisilinlere ve sefaloridin, sefalotin gibi eski sefalosporinlere direnç kodlamaktadır. TEM-1'deki tek aminoasit değişikliği ile TEM-2 oluşmuştur (4).

1984 yılında TEM-2 enziminin türevi olan TEM-3 enzimi keşfedilmiştir. TEM-3 enzimi, yeni sefalosporinleri de hidrolizleme yeteneği sebebi ile bu serideki ilk GSBL olarak tanımlanmıştır (51).

İlk SHV-1 geni 1970'li yılların başında bir *E. coli* suşunda keşfedilmiştir. SHV-1 geni, geniş spektrumlu penisilinler ve 1. kuşak sefalosporinlere karşı dirençlidir. 3. kuşak sefalosporinlere karşı SHV aracılı direnç ilk olarak 1983 yılında Almanya'da *Klebsiella ozanae* (*K. ozanae*)'de tespit edilmiştir. SHV-1'den birkaç nükleotid farkıyla ayrılmaktadır ve SHV grubu enzimlerin ilk geniş spektrumlu türevidir. İlerleyen yıllarda 100'ün üzerinde SHV grubu enzim keşfedilmiştir ve bu enzimlerin sayısı giderek artmaktadır (52).

OXA grubu enzimler oksasilin veya kloksasilini hidrolize etmektedir ve ilk olarak *P. aeruginosa*'da bulunmuştur. TEM ve SHV tipi beta laktamazlardan farklı olarak moleküler sınıflamada sınıf D'de, fonksiyonel sınıflamada ise grup 2d'de yer almaktadırlar. OXA tipi enzimler OXA-1'den OXA-10'a kadar beta-laktamaz grubu içinde yer alırken, diğer OXA enzimleri geniş spektrumlu beta-laktamazlar grubu içerisinde bulunmaktadır (53). Geniş spektrumlu OXA enzimlerinden ilki OXA-11 enzimidir ve Türkiye'den izole edilen bir *P. aeruginosa* suşunda keşfedilmiştir (54). OXA-11'den sonra GSBL olan OXA-13, OXA-14, OXA-16, OXA-17, OXA-19 ve OXA-28 gibi OXA türevleri tanımlanmıştır. Bu türevlerin tümü ilk olarak *P. aeruginosa* suşlarında saptanmıştır (55).

CTX-M tipi beta-laktamazlar, sefotaksimi hidrolize eden, GSBL ailesinin üyelerinden biridir ve son zamanlarda yaygınlaşmıştır (18). Bildirilen ilk CTX-M (CTX-M-1) enzimi, 1989 yılında Almanya'dan bir *E. coli* suşudur. Avrupa ve Güney Amerika'da neredeyse aynı zamanlarda ortaya çıkmıştır. Bunu takiben, en sık *Salmonella typhimurium* olmak üzere Enterobacteriaceae ailesine ait farklı türlerde CTX-M enzimleri hızla yayılmaya başlamıştır (56). İlk CTX-M enzimleri sefotaksimi yüksek, seftazidimi

ise oldukça düşük oranda hidrolize edebiliyor iken, günümüzde CTX-M varyantlarının büyük çoğunluğu seftazidimi de hidrolize edebilmektedir (56).

PER ve VEB tipi beta-laktamazlar geniş spektrumlu sefalosporinler ve monobaktamları hidrolize etmektedir ve moleküler sınıflamada sınıf A, fonksiyonel sınıflamada grup 2be'de yer almaktadırlar (46).

2.5.Karbapenemler

Karbapenemler, beta-laktam antibiyotik grubunda yer alan en geniş spektrumlu ve en etkili antibiyotiklerdir. Karbapenemler, beta-laktam antibiyotiklerden beta-laktam halkasındaki tiyazolidinik ekinde 4. pozisyonunda sülfon yerine karbon içermeleri ile ayrılmaktadırlar (65).

Karbapenemler in vitro olarak penisilinler, sefalosporinler ve beta-laktam/beta-laktamaz kombinasyonundan daha geniş etki spektrumuna sahiptir. Karbapenemler, klinik olarak önemli pek çok patojene, çoğul dirençli patojenlere ve özellikle sefalosporin dirençli gram negatif bakterilere karşı etkilidir. İn vitro olarak GSBL, AmpC gibi çeşitli beta-laktamazlara karşı etkilidirler. Yüzlerce farklı beta-laktam arasından, gram pozitif ve gram negatif bakterilere karşı etki spektrumu en geniş olan antibiyotik grubudur. Bu sebeple çoklu dirençli hastalarda ve ağır vakalarda son çare antibiyotikler olarak kullanılmaktadırlar (58,59).

Karbapenemler bakteri hücrelerine dış zar proteini (OMP) yoluyla girerler. Periplazmik aralığa geçtikten sonra bakteri hücre oluşumunu katalize eden PBP enzimlerini açilleyerek etki gösterirler. Karbapenemler peptidlerin çapraz bağlanmasını inhibe etmelerinin yanısıra, diğer peptidaz reaksiyonlarını da inhibe edebilmektedirler. Karbapenemlerin etkinliğindeki anahtar faktör, farklı PBP'lere çoklu bağlanma yetenekleridir (58). Karbapenemler hızlı bakterisid etkilidir ve zamana bağlı bakterisid etki göstermektedirler (59).

Ertapenem, 2002 yılında Avrupa Topluluğu tarafından ruhsat alan, grup 1 karbapenemdir. Ertapenem birçok Enterobacteriaceae'ye (genişletilmiş spektrumlu ve AmpC beta-laktamaz üreten izolatlar dahil), yaygın gram negatif solunum yolu patojenlerine (*Moraxella catarrhalis* ve *Haemophilus influenzae* dahil) karşı etkilidir, ancak fermentasyon yapmayan aeroblara karşı ihmal edilebilir bir aktiviteye sahiptir (örn, *P. aeruginosa* ve *A. baumannii*). Ertapenem gram pozitif bakterilerin çoğuna (penisiline duyarlı ve dirençli *Streptococcus pneumoniae* ve metisilin/oksasiline duyarlı

Staphylococcus aureus (*S. aureus*) dahil) karşı etkilidir, ancak *Enterococcus* spp. (*Enterococcus faecalis* ve *Enterococcus faecium*) ve metisilin/oksasiline dirençli *S. aureus*'a karşı etkili değildir. Ayrıca çeşitli gram negatif ve gram pozitif anaeroblara karşı etkilidir (60). Ertapenem postantibiyotik etkili bir karbapenemdir (60).

Ertapenem, meropenem ve imipenemle kıyasla *P. aeruginosa* ve enterokoklara karşı daha az etkilidir. Bu sebeple hastane enfeksiyonlarından şüphelenilen durumlarda endike değildir (59). Ertapenem insan böbrek dehidropeptidaz 1 (DHP-1) enzimi karşısında stabildir. Uzun yarı ömrü ve yüksek oranda proteine bağlanma gibi farmakokinetik özelliklerinden dolayı günde bir kez uygulamaya olanak vermektedir. Ertapenem, meropenem imipenemle göre GSBL üreten bakterilere karşı daha az etkilidir (59).

Ertapenem toplum kaynaklı pnömoni, komplike ÜSE, karın içi enfeksiyonları ve komplike deri enfeksiyonlarında endikedir (60).

Meropenem 1995 yılında Avrupa Topluluğu tarafından ruhsatlandırılmıştır (59). Klinik olarak önemli olan hemen hemen tüm anaerobik ve aerobik bakterilere karşı oldukça etkilidir. Meropenem, başta *P. aeruginosa* olmak üzere gram negatif bakterilere karşı daha fazla etkili olmakla beraber, gram pozitif bakterilere karşı da etkilidir (61). Meropenem, PBP 1A ve PBP 2'ye etkilidir. Ayrıca PBP 3'e afinitesi de imipenemden fazladır (61). *E. coli*'de imipenem ve meropenemin birincil hedefi PBP 2'dir. *P. aeruginosa*'da ise PBP 2 ve 3'e yüksek afinite vardır ancak birincil hedef PBP 3'tür (62). Meropenemin *E. coli*, *K. pneumoniae* ve *Salmonella* spp'ye olan penetrasyonu yüksektir, ayrıca *P. aeruginosa*'ya da kolaylıkla girebilmektedir (62).

Meropenem, hızlı ve zamana bağlı bakterisidal etki göstermektedir. GSBL ve AmpC gibi pek çok beta-laktamaz tarafından hidrolize karşı dirençli olmakla beraber, metallo-beta-laktamaz veya oksasilinaz gibi bazı beta-laktamazlardan etkilenebilmektedir. Belirgin meropenem direncinin ortaya çıkması için, azaltılmış geçirgenlik veya çoklu-ilaç dışı akış pompalarının aşırı ekspresyonu gibi direnç mekanizmaları gerekmektedir (63).

Meropenem DHP'e karşı stabildir, bu sebeple klinikte tek başına kullanılmaktadır (62).

Meropenem, ciddi bakteriyel hastalığı olan yetişkin ve pediatrik hastalarda kullanılmaktadır. Hastane ve toplum kaynaklı pnömoni, sepsis, komplike karın içi enfeksiyonlar, ateşli nötropeni, bakteriyel menenjit, komplike deri enfeksiyonları, komplike ÜSE, obstetrik ve jinekolojik enfeksiyonlar ve kistik fibrozlu hastalardaki pulmoner enfeksiyonlarda tercih edilmektedir (63).

İmipenem, 1984 yılında Almanya'dan lisans almış olup tienamisin isimli bileşiğin 5-10 kez daha stabilize edilmiş bir amidin türevidir. İmipenem DHP-1 enzimi tarafından hızlı bir şekilde hidrolize edilmektedir, bu nedenle DHP-1 enzim inhibitörü olan silastatin ile kombine verilmektedir. Silastatin, imipenemin hızlı bozunmasını önlediği gibi böbrekleri yüksek doz imipenemin yaratacağı toksik etkilerden de korumaktadır. İmipenem de diğer beta-laktamlar gibi PBP'lere bağlanıp bakteri hücre duvar sentezini bozarak etkisini göstermektedir (59,64). İmipenem genellikle PBP 1A ve 2 'ye yüksek afinite göstermekle beraber diğer PBP'lere karşı da etkilidir (61).

İmipenem ve meropenemin etki spektrumu benzerdir. İmipenem daha çok gram pozitif bakterilere karşı etkili iken, meropenemin gram negatif bakterilere karşı etkinliği daha fazladır (61). İmipenem, gram pozitif ve gram negatif kok, basil, aerob ve anaerob bakterilere karşı etkilidir. Mikobakteri ailesine karşı etkili iken Mikoplasma, Klamidya, Legionella, Stenotrofomonas, Burkholderias, *Clostridium difficile* ve metisiline dirençli *S. aureus*'a karşı etkisizdir (64).

İmipenemin dozajı çocuklar, yetişkinler, geriyatrik ve böbrek fonksiyon bozukluğu olan hastalar için iyi ayarlanmıştır. İmipenem, ventilatör ilişkili pnömonide, hastane ve sağlık hizmeti kaynaklı pnömonilerde, intraabdominal enfeksiyonlarda, ateşli nötropenilerde veya ciddi enfeksiyonlarda ampirik tedavi olarak kullanılmaktadır. İmipenem, hastanede yatan hastalarda karın içi, alt solunum yolu, jinekolojik ve genitoüriner sistem, deri ve yumuşak doku enfeksiyonları, sepsis veya endokarditi olanlarda endikedir (64).

2.5.1. Karbapenemlere Karşı Direnç Gelişimi

Karbapenemlere karşı direnç gelişimi intrinsik (kendiliğinden) direnç, kazanılmış direnç veya ikisi sebebiyle olabilmektedir (60). Karbapenemlere karşı intrinsik direnç klinik olarak önemli bakteriler arasında yaygın değildir. Çoğu karbapenem direnci mutasyon veya yatay gen transferi yoluyla gen edinimi ile oluşmaktadır (65).

Karbapenemlere karşı direnç gelişimi enzimatik inaktivasyon, hedef bölge ve efflux (akış) pompalarındaki mutasyonlardan kaynaklanabilmektedir (65).

Gram pozitif bakteriler, PBP'ler üzerindeki mutasyon ile karbapenem ve diğer beta-laktamlara direnç geliştirirler. Gram negatif bakteriler karbapenemlerin etkilerinin üstesinden gelebilmek için genellikle farklı mekanizmalar kullanmaktadırlar. Ancak bazı türleri, dış zar geçirgenliğini azaltarak karbapenemlerin PBP'lere ulaşmasını önleyebilmektedir. Örneğin, OprD, *P. aeruginosa*'nın bir dış zar porinidir ve karbapenemler bu porinin içinden PBP'lerin olduğu periplazmik boşluğuna girer. Bu porinin azalan ekspresyonu veya kaybı, diğer beta-laktamlara eş zamanlı direnç olmaksızın karbapenem direncine yol açmaktadır (66).

Bir başka direnç mekanizması, karbapenemlerin içeri girdikten sonra periplazmik aralıktan aktif olarak çıkarılmasıdır. Bu direnç, sitoplazmik membrandaki bir protein taşıyıcısı, bir periplazmik bağ proteini ve bir dış zar porinini içeren üçlü efflux sistemi aracılığı ile oluşmaktadır (66). Bu mekanizma çoğunlukla meropenem olmak üzere karbapenemler, penisilinler, sefalosporinler, kinolonlar ve aminoglikozidlerde dirence sebep olmaktadır (66).

Karbapenemlere karşı enzim aracılı direnç, beta-laktamaz üretimiyle meydana gelmektedir. Bu durum karbapenemler ile beraber hemen hemen tüm beta-laktam antibiyotiklere karşı direnç gelişmesine neden olmaktadır. Bu tür enzimlere karbapenemazlar denilmektedir (66).

Karbapenemaz üretimi, klinik olarak karbapenemlere karşı en önemli direnç mekanizmasıdır. Çünkü neredeyse tüm beta-laktam antibiyotikleri hidrolize edebilen, yatay olarak plazmidler veya transpozonlar ile aktarılabilen, genler ile kodlanan ve genellikle diğer direnç etkenleri ile ilişkili enzimlerdir (66). Karbapenemazlar GSBL enzimlerinden daha geniş etki spektrumuna sahiptir. Çünkü etkileri karbapenemler ve genişletilmiş spektrumlu sefalosporinleri de kapsamaktadır (67).

Enterobacteriaceae'deki karbapenemaz üreten suşlar on yıl önce nadiren bildirilmesine rağmen, günümüzde kapsamlı bir şekilde rapor edilmektedir. Karbapenemaza sahip farklı özellikli enzim grupları ortaya çıkmış ve eş zamanlı olarak dünya çapında yayılmaya başlamıştır. Bu enzimlerden bazıları karbapenemleri etkili bir şekilde hidrolize ederken, bazılarının hidrolitik aktivitesi ise düşüktür. Bazıları beta-

laktamaz inhibitörleri tarafından (klavulanik asit, tazobaktam gibi) inhibe edilebilmektedir (68).

Karbapenemazlar, Ambler sınıflamasına göre grup A, B ve D'de yer almaktadırlar. Grup A'da SME, NMC, IMI, KPC, GES, grup B (metallo-beta-laktamazlar)'de IMP, VIM, GIM, SPM, NDM, grup D'de ise OXA tipi enzimler bulunmaktadır (69).

KPC enzimleri (*Klebsiella pneumoniae* karbapenemase) grup A'da yer alan ve karbapenemazlar arasındaki klinik olarak en önemli enzimlerdir. KPC, nosokomiyal kökenli *K. pneumoniae*'de keşfedilmiştir ve sadece karbapenemlere karşı değil, çoğu geniş spektrumlu sefalosporinlere karşı da etkili olduğu anlaşılmıştır. İlk KPC enzimi (KPC-2) 1996'da ABD'de keşfedilmiş ve daha sonra dünya genelinde görülmeye başlanmıştır (68).

Grup B'deki VIM ve IMP enzimleri yaygın olarak, GIM ve SMP enzimleri ise nadiren görülmektedir. Bu grupta klinik olarak en önemli enzim olan NDM-1 (New Delhi metallo-beta-laktamaz), 2009'da Hindistan'da hastane kökenli *K. pneumoniae* ve *E. coli* suşlarında keşfedilmiştir. NDM-1, penisilinler, sefalosporinler ve karbapenemler dahil olmak üzere çoğu beta-laktamaza karşı etkilidir. Sadece aztreonam gibi bazı monobaktamlara karşı etkisizdir (68).

Grup D karbapenemazların en önemli üyesi OXA-48 enzimidir (68). OXA-48 enzimi ilk olarak 2001 yılında Türkiye'deki bir *K. pneumoniae* suşunda tespit edilmiştir. Türkiye'de daha sonra bu enzime karşılık gelen blaOXA-48 geni *E. coli* ve *Citrobacter freundii*'de de tanımlanmıştır. Takip eden birkaç yıl boyunca rapor edilen neredeyse tüm OXA-48 enzimleri sadece Türkiye hastanelerinde veya Türkiye ile ilişkili kişilerin izolatlarında bulunmuştur. OXA-48 enzimi 2008'den itibaren çoğunlukla *K. pneumoniae* izolatlarında olmak üzere dünyanın birçok ülkesinde tespit edilmiştir (69). OXA-48 enzimi, penisilin ve karbapenemleri hidrolize ederken geniş spektrumlu sefalosporinlere karşı zayıf bir hidrolitik aktivite göstermektedir (70). OXA-48 enzimi, genel olarak karbapenemlere karşı düşük hidrolitik aktivite göstermektedir. Ayrıca meropeneme karşı aktivitesi, imipeneme göre daha düşüktür (55).

Karbapenemaz üreten Enterobakterilerin ortaya çıkması ve dünya genelinde yayılması önemli bir klinik endişeye sebep olmaktadır. Çünkü karbapenemler GSBL

reten oklu ilaç dirençli Enterobakterilerin neden olduğu ciddi enfeksiyonların tedavisinde ilk sırada tercih edilen ilaçlardandır (70).

Karbapenemler arasında dirençten en çok etkilenen antibiyotik ertapenemdir. Ertapenem dirençli izolatlar diğer karbapenemlere karşı duyarlı olabilmektedir. Ertapenem direnci çoğu zaman AmpC/GSBL varlığına veya porinlerdeki net değişimlere bağlıdır (66).

2.6. Kolistin

Kolistin (Polimiksin E), 1949 yılında *Basillus polymyxa subspecies colinistus*'tan üretilen ve polimiksin ailesine ait bir polipeptiddir. 1200 Dalton ağırlığında, 10 aminoasitli hidrofilik polikasyonik peptid zinciri ve hidrofobik bir yağ asidinden oluşan bir moleküldür (71,72).

Kolistin etkisini hücre zarına etki ederek gösterir. Kolistin katyonik bir peptiddir ve gram negatif bakterilerin dış membranındaki anyonik lipopolisakkarid (LPS) molekülleri ile ilişkiye girerek LPS moleküllerini stabil bir şekilde tutan magnezyum ve kalsiyum iyonlarının yerini değiştirir. LPS molekülleri negatif yüklenir, bu durum dış membranın geçirgenliğinin artmasına, hücre içeriğinin dışarı sızmasına ve bakterinin ölümüne sebep olur (72). Kolistinin antibakteriyel etkisinden ayrı olarak antiendotoksin aktivitesi de vardır. Gram negatif bakterilerin endotoksin kısmı LPS moleküllerinin Lipid A kısmıdır. Kolistin LPS'yi bağlayarak nötralize eder (72).

Kolistinin etki spektrumu dardır. Çoğu Enterobacteriaceae'ye (*Proteus* spp, *Morganella morganii*, *Providencia* spp. ve *Serratia* spp. hariç) ve *Acinetobacter* spp. ve *P. aeruginosa* karşı oldukça etkilidir. Kolistin gram pozitif veya gram negatif koklara, gram pozitif basil, çoğu anaerobik bakteri, mantar ve parazite karşı etkili değildir (71).

Kolistin 1950-1980 yılları arasında tedavide kullanılmıştır. 2000'li yıllarda nefrotoksik yan etkilerinden dolayı kullanımı sadece kistik fibrozlu hastalarda çoklu ilaç dirençli gram negatif bakteriler ile oluşan akciğer enfeksiyonları ile sınırlı kalmıştır (73). Ancak oklu ilaç dirençli mikroorganizmaların ortaya çıkması ve bunlara karşı yeni antimikrobiyal ajanların yetersiz olması kolistin kullanımını tekrar gündeme getirmiştir (72).

Kolistinin iki ticari formu mevcuttur. Genel olarak topikal kullanılan kolistin sülfat ve parenteral olarak kullanımı yaygın olan sodyum kolistin metan sülfonat. İki form

da inhaler olarak kullanılabilir. Sodyum kolistin metan sülfonat'ın parenteral olarak kullanılması nefrotoksisite, nörotoksisite ve hipersensitiviteye sebep olabilmektedir (74).

Kolistinin klinikte çoklu ilaç direnci bulunan mikroorganizmalar (*A. baumannii*, *P. aeruginosa*, *K. pneumoniae*) ile oluşan enfeksiyonlarda ve özellikle de kolistin dışındaki antibiyotiklere direnç varlığında kullanılması önerilmektedir. Bu amaçla, dirençli gram negatif bakteriler ile oluşan ve özellikle hastane kökenli olan pnömoni, bakteriyemi, cerrahi alan enfeksiyonları, kateter enfeksiyonları ve ÜSE'de, ayrıca kistik fibrozisli hastaların tedavisinde ve transplant hastalarındaki özellikle *P. aeruginosa* kolonizasyonlarının tedavisinde kullanılabilir (75).

Kolistin kullanan hastalarda en sık görülen yan etki nefrotoksisitedir, doz bağımlıdır ve antibiyotiğin kesilmesinin ardından geri dönüşümlüdür. Ayrıca nörotoksisiteye bağlı olarak parastezi, yorgunluk, baş dönmesi, görme bozuklukları, ataksi, zaman ve uzay uyum kaybı, deliryum, nöromusküler blokaj, akut solunum yetmezliği ve apne görülebilmektedir. Bu etkiler de geri dönüşümlüdür. Kolistine karşı ürtiker, deri döküntüsü, ateş, gastrointestinal bozukluklar gibi aşırı duyarlılık reaksiyonları gelişebilmektedir. Psödomembranöz kolit riski olmakla beraber bu risk nadirdir (71).

Karbapenemlere ve sefalosporinlere karşı direnç küresel olarak artarken kolistin son çare antibiyotiklerden biri olarak kabul edilmiştir ve Dünya Sağlık Örgütü'nün insan tıbbı için kritik olarak önemli antimikrobiyaller listesindedir (76).

2.6.1. Kolistine Karşı Direnç Gelişimi

Kolistine karşı direnç yavaş gelişmektedir, bu durumun sebeplerinden biri antibakteriyel etki sürecinin bakterinin metabolik aktivitesinden bağımsız olmasıdır. Diğer bir etken kolistin bakterisidal etkisinin oldukça hızlı olmasıdır (74).

Kolistin direnci ile ilgili yapılan çalışmalar, dirence sebep olan pek çok mekanizma olduğunu göstermiştir. Dirençli suşlardaki açıklanamayan bazı direnç mekanizmaları aydınlatılmakla beraber, kolistin direnciyle ilgili hala pek çok bilinmeyen vardır ve açıklanamayan direnç mekanizmaları mevcuttur (77).

Gram negatif bakterilerde, kolistine karşı mutasyon veya adaptasyon mekanizması yoluyla direnç gelişebilmektedir. Mutasyon kalıtsaldır, düşük seviyeli ve

antibiyotiğin sürekli varlığından bağımsızdır. Adaptasyon ise tam tersidir. Kolistin ve polimiksin arasında çapraz direnç bulunmaktadır. Polimiksin dirençli *P. aeruginosa*'da direnç, dış membrandaki değişiklikler (LPS'de azalma, spesifik dış zar proteinlerinin seviyelerinde azalma, hücre zarfında magnezyum ve kalsiyum içeriklerinin azalması, lipid değişiklikleri) sebebiyle olmaktadır (72).

Kolistin direnç mekanizmalarının çoğu kromozomal kaynaklıdır. Kolistinin ilk hedefi olan LPS'lerin Lipid A kısmında meydana gelen modifikasyonlar nedeni ile oluşmaktadır. Bu durum kolistinin Lipid A'ya afinitesini azaltmaktadır. Farklı bakteri türlerindeki kolistin direnç mekanizmaları farklı olabilmekle beraber, direnç çoğu zaman Lipid A'nın yaygın regülatör sistemlerindeki (pmrAB, phoPQ, *K. pneumoniae* için MgrB'nin negatif regülatörü) modülasyonlar ile 4-amino-4-deoksi-l-arabinoz (l-ara4N) ve / veya fosfoetanolamin (PEtN) ile modifikasyonları sonucu oluşmaktadır. Nadir durumlarda Lipid A'nın tamamen kaybı ile de direnç oluşabilmektedir (78).

MgrB inaktivasyonu *K. pneumoniae* ve *K. oxytoca*'daki kolistin direncinin en sık görülen sebebidir (77).

Kolistin dirençli *K. pneumoniae* ilk kez 2014 yılında Atina'da rapor edilmiş ve ilerleyen yıllarda kolistin dirençli Enterobakteriler dünyaya yayılmıştır. *K. pneumoniae*'nin aksine kolistin dirençli *E. coli* oranı daha azdır. Direnç yüzdesi % 0.2-0.6 arasındadır. Ancak son yıllardaki çalışmalar besi hayvanları ve çevresel ortamdaki kolistin dirençli *E. coli* prevalansının arttığını göstermektedir (79). Enterobakteriler dışında *A. baumannii* ve *P. aeruginosa* kolistin direnci saptanan diğer türlerdir (79). Ülkemizde yapılan bir çalışmada 2009 – 2012 yılları arasında *Klebsiella* spp.'nin kolistin duyarlılıkları incelenmiş ve yıllara göre kolistin direncinin % 3'ten % 10'a, ardından % 20'ye yükseldiği belirlenmiş ve bu artışın istatistiksel olarak anlamlı olduğu vurgulanmıştır (80).

Dünyanın birçok bölgesinden kolistin direnci rapor edilmiştir (77). İspanya'da iki farklı çalışma yapılmış ve çalışmalardan birinde kolistin direnci % 19.1, diğer çalışmada ise % 40.7 olarak bildirilmiştir. Kolistin direnç oranlarındaki bu farklılıklar hasta seçimleri ve bölgesel özelliklerden kaynaklanmaktadır. Kolistin direnç oranları, üçüncü basamak hastanelerin yoğun bakım ünitelerinde yüksek iken, serviste yatan hastalar ile yapılan çalışmalarda düşük olarak saptanmıştır. Hasta seçimi direnç oranlarında

farklılıklar yaratsa da, bölgeler arasında da farklılıklar mevcuttur. Asya ve Avrupa’da yüksek direnç oranları belirtilirken, Kuzey ve Güney Amerika’da direnç düşüktür (77).

2016 yılında Çin’de ilk plazmid aracılı direnç mekanizması olan *mcr-1* geni hayvansal kaynaklı bir *E. coli* suşunda tespit edilmiştir (78). İlerleyen yıllarda hayvansal, insan ve besin kaynaklı farklı tür suşlarda da *mcr-1* genine rastlanmıştır. Dünyanın pek çok yerine yayılan *mcr-1* geni Asya, Avrupa, Kuzey Amerika, Afrika ve Orta Doğu’da görülmüştür. *mcr-1* geninin bulunduğu *E.coli* ve *K.pneumoniae* suşları hayvansal ve insan kaynaklıdır (81).

mcr-1 geni, kolistin hedefi olan ve Lipid A’dan glukozamin transfer eden fosfoetanolamin enziminin etkisini değiştirerek Lipid A’nın negatif yükünü azaltmaktadır. Bu durum kolistin Lipid A’ya bağlanamamasına ve kolistine karşı direnç gelişmesine sebep olmaktadır. Son araştırmalar dokuz farklı *mcr* geninin bulunduğunu ve bunların insan ve hayvansal kaynaklı olduğunu göstermiştir. Bunlardan dört tanesi (*mcr-1*, *mcr-3*, *mcr-7.1* ve *mcr-8*) Çin’den, dört tanesi (*mcr-2*, *mcr-4*, *mcr-5*, *mcr-6*) Avrupa’dan ve sonuncusu (*mcr-9*) ABD’den rapor edilmiştir (81). Daha sonra Çin’de yapılan pek çok araştırmada hayvanlardaki *mcr-1* gen prevalansı % 20, insanlardaki ise % 1 civarında saptanmıştır. 2016 yılından itibaren Avrupa’nın bazı ülkeleri, Kuzey ve Güney Amerika, Asya ve Afrika’da yayımlanan çeşitli çalışmalarda plazmid aracılı *mcr-1* genine besinlerde, hayvanlarda ve insanlarda rastlanmıştır (77).

2.7. Fosfomisin

Fosfomisin 1969 yılında keşfedilen, *Streptomyces spp.*’den üretilen fosfoenolpirüvat türevi eski bir antibiyotiktir. Fosfomisin bakterisid etkili bir antibiyotiktir. Etkisini bakteri hücre duvar sentezinin ilk basamağında yer alan reaksiyondaki MurA enzimini inhibe ederek göstermektedir (82).

Fosfomisin hem gram pozitif hem de gram negatif bakterilere karşı etkili olan geniş spektrumlu bir antibiyotiktir. Özellikle çoklu ilaç dirençli gram negatif bakterilere, GSBL ve karbapenemaz üreten Enterobakterilere ve vankomisin dirençli Enterokoklara karşı etkilidir (83,84).

Fosfomisin, fosfomisin trometamol ve fosfomisin kalsiyum olmak üzere iki oral formülasyona sahiptir. Fosfomisin trometamol, kandan daha kolay emildiği için daha çok tercih edilmektedir (85). Fosfomisin, ÜSE ve solunum yolu enfeksiyonları, menenjit, otitis, beyin cerrahisi enfeksiyonları, endokardit, bakteriyemi, kalp cerrahisi, yaygın ilaca

dirençli *P. aeruginosa* ve *A. baumannii* ve karbapenemaz üreten Enterobakterilerin tedavisinde kullanılmaktadır. Fosfomisin ayrıca jinekolojik enfeksiyonların yanı sıra metisiline dirençli ve duyarlı *S. aureus*'un neden olduğu cihaz ilişkili ve osteoartiküler enfeksiyonlar için de kullanılmaktadır (86).

Fosfomisinin direnç mekanizmaları, antibiyotiğin hücre içine taşınmasındaki azalmayı (taşıyıcı ve regülatör genlerde (UhpT) mutasyon veya glpT için AmpC), MurA ekspresyonundaki değişikliklere bağlı olarak hedef bölgedeki değişikliği ve metallo-enzimler (fosA, fosB ve fosX) veya kinazlar (formA ve formB) tarafından antibiyotiğin doğrudan inaktivasyonunu içermektedir (86). İlk iki direnç mekanizması kromozomal aracılı iken, son mekanizma kromozomal veya plazmid aracılı olabilmektedir (87). FosA, FosB ve FosX, GSBL ve karbapenemaz üreten Enterobakterilerde, özellikle de *E. coli*'deki fosfomisin direncinin sebebidir (88). Ayrıca MurA'nın modifikasyonu da *E. coli*'de fosfomisin direncine sebep olabilmektedir. Fosfomisin, *E. coli*'de MurA'nın 115 pozisyonunda kovalent olarak sisteine bağlanmaktadır. Bu bölgede sistenin aspartat ile yer değiştirmesinin fosfomisine dirence neden olduğu belirtilmiştir. UhpT ekspresyonu kaybının da *E. coli* suşlarında fosfomisin direncine sebep olduğuna ilişkin güncel veriler bulunmaktadır (86,89).

2.8. Temosilin

Temosilin 1980'li yıllarda geliştirilmiş olup, kullanıldığı yıllarda temel olarak kistik fibrözlü hastalarda *Burkholderia cepacia* tedavisinde kullanılan bir ilaç olmuştur. Ancak dar etki spektrumu dezavantajı sebebiyle terk edilmiştir. Epidemiyolojik olarak GSBL üreten Enterobakteri tehdidi, ihmal edilmiş antibiyotiklerden kolistin, fosfomisin ve sefoksitinde olduğu gibi temosiline olan ilgiyi de arttırmıştır (12).

Temosilinin dar etki spektrumu, neredeyse sadece Enterobakteriler ve onun sayısız beta-laktamazına karşı direnci önemli bir ekolojik ve bakteriyolojik avantaj olarak kabul edilmektedir. Günümüzde temosilin birçok ülkede (İngiltere, Belçika, Lüksemburg ve Fransa) mevcuttur ve duyarlı gram negatif basillerden şüphelenilen septisemi, ÜSE ve alt solunum yolu enfeksiyonu tedavisinde önerilmektedir (90). Ülkemizde temosilin klinik olarak kullanımda değildir.

2.9. Bakteri Üretim, Tanımlama, Antibiyotik Duyarlılık Testleri ve Direnç Tanımlama Yöntemleri

2.9.1. Bakteri Üretim ve Tanımlama

E. coli bakterileri, buyyon ve peptonlu suda yoğun üreme gösterirler ve homojen bir bulanıklık yapmaktadırlar. Agarda genellikle 2-3 mm çapında parlak, düzgün kenarlı, konveks, gri-beyaz renkte S tipi koloniler oluştururlar. Tekrarlanan pasajlarda ise kabarmat ve granüler R tipi koloniler meydana getirirler. Bazı suşları kanlı agarda hemoliz yapabilmektedir. Kapsüllü suşlar ise mukoid koloniler oluşturabilmektedirler. Şekerleri ve diğer karbonhidratları asit ve gaz oluşturarak parçalarlar. Laktoza olan etkileri ve gaz oluşturmaları, diğer bağırsak bakterilerinden özellikle de *Salmonella* ve *Shigella*'lardan ayırımında önemli bir özelliktir. Bu nedenle pratikte laktoz negatif bakterilerden ayırt edilmesinde içinde laktoz ve bir ayıraç bulunan çeşitli besiyerleri kullanılmaktadır. İçinde laktoz ve eosin metilen mavisi bulunan EMB agarda ve içinde laktoz, sodyum sülfid, diyament füksin içeren Endo agarda mavi-siyah, yeşilimsi parlaklık veren koloniler oluştururken MacConkey ve *Salmonella-Shigella* (SS) agarda kırmızı koloniler oluştururlar (91).

Klebsiella türleri genel kullanım besiyerlerinde kolayca üremektedirler. Ortalama pH 7 ve 37 °C üremeleri için en iyi ortamdır. Buyyon gibi sıvı besiyerlerinde, homojen bir bulanıklık ve dipte muköz bir çöküntü yaparak çoğalmaktadırlar. Katı besiyerlerindeki kolonileri tipik mukoid nitelikte, büyük, sarımtırak gri renkte ve akıcı kolonilerdir. Uygunsuz koşullarda S ve R kolonilerine dönüşebilmektedirler. Aerob ve fakültatif anaerob olup ürediği ortama bol kapsül maddesi salmaktadırlar (27).

2.9.2. Antibiyotik Duyarlılık Testleri ve Direnç Saptama Yöntemleri

2.9.2.1. GSBL Tanı Yöntemleri

GSBL üreten mikroorganizmalar, sayılarının her geçen gün artması, morbidite ve mortalite oranlarında artışa sebep olmaları nedeniyle ciddi bir endişe kaynağıdır. GSBL üreten bakterilerin sebep olduğu enfeksiyonların tedavisi, çoklu antibiyotik direnci ve tedavi seçeneklerinin kısıtlı olması nedeniyle zorlaşmaktadır. Tüm bu sebepler beta-laktamaz üreten mikroorganizmaların saptanmasını önemli hale getirmektedir (92).

Rutin laboratuvarlar için tanımlanan tarama ve doğrulama testleri GSBL saptama yöntemleridir. GSBL tiplerinin saptanmasında bu testler haricinde araştırma laboratuvarlarında uygulanan tanımlama yöntemleri de mevcuttur (93).

2.9.2.1.1. GSBL Tarama Testleri

GSBL enzimlerinin saptanması ve tanımlanması, özellikle enfeksiyon kontrolü açısından önerilmektedir. Enterobacteriaceae üyelerinde GSBL saptanması, oksimino-sefalosporinlere “duyarlı olmama” özelliğinin saptanması ile başlamakta, ardından fenotipik (bazen genotipik) doğrulama testleri uygulanmaktadır (94).

Sefotaksim, seftriakson, seftazidim ve sefpodoksim için EUCAST ve CLSI rehberleriyle uyumlu olarak, tarama sınır değerinin Minimum İnhibisyon Konsantrasyonu (MİK) >1mg/L olması, önerilmektedir (Tablo 5) (94). Enterobacteriaceae için EUCAST’ın önerdiği klinik sınır değeri de $S < 1\text{mg/L}$ ’dir (94). GSBL üretimin saptanması için en duyarlı indikatör sefalosporin sefpodoksimidir, bu sebeple taramada kullanılabilir. Fakat sefpodoksim ile alınan sonuçların özgüllüğü, seftazidim ile sefotaksim (veya seftriakson) kombinasyonu ile alınan sonuçlara göre daha düşüktür. Bu sebeple doğrulama amacıyla seftazidim ile sefotaksim/seftriakson kombinasyonu kullanılmaktadır (94).

İndikatör sefalosporinler için inhibisyon zonu çapları Tablo 5’de yer almaktadır.

Tablo 5: Enterobacteriaceae için GSBL tarama yöntemleri (94)

Yöntem	Antibiyotik	GSBL testi uygulanması için sınır değeri
Sıvı veya agar dilüsyon	Sefotaksim/seftriakson VE seftazidim	MİK>1mg/L
	Sefpodoksim	MİK>1mg/L
Disk difüzyon	Sefotaksim (5µg) VEYA	İnhibisyon zonu <21 mm
	Seftriakson (30µg)	İnhibisyon zonu <23 mm
	VE Seftazidim (10µg)	İnhibisyon zonu <22 mm
	Sefpodoksim (10µg)	İnhibisyon zonu <21 mm

2.9.2.1.2. GSBL Doğrulama Testleri

GSBL aktivitesinin, in vitro şartlarda indikatör sefalosporin ile klavulanik asit arasındaki sinerji temeline dayandığı testlerdir. Yaygın olarak kullanılan doğrulama yöntemleri aşağıda verilmiştir (94).

- Kombine Disk Yöntemi
- Çift Disk Sinerji Yöntemi
- E- Test Yöntemi
- Mikrodilüsyon Yöntemi
- Üç Boyutlu Test
- Otomatize Sistemler
- Moleküler Yöntemler

2.9.2.1.2.1. Kombine Disk Yöntemi

Bu yöntemde her test için sadece sefalosporin (sefepim, seftazidim veya sefotaksim) içeren diskler ile testte kullanılan sefalosporinin klavulanik asit eklenmiş kombinasyon diskleri kullanılır ve ikisinin inhibisyon zonları ölçülerek karşılaştırılır.

Eğer kombine disk etrafında oluşan inhibisyon zonu, sadece sefalosporin içeren diskin inhibisyon zonundan > 5 mm daha genişse, test pozitifdir (95,96).



Şekil 2: Kombine disk yöntemi. a: seftazidim (30 µg), b: seftazidim/klavulanik asit (30/10 µg) (97)

2.9.2.1.2.2. Çift Disk Sinerji Yöntemi

Bu yöntemde sefalosporin (sefepim, sefotaksim, seftazidim) ve aztreonam içeren diskler, plakta klavulanik asit içeren bir diskin (amoksisilin/klavulanik asit gibi) yanına yerleştirilir. Sefalosporin disklerinden herhangi birinin zon çapı klavulanik asit diskinin yüzünde genişlerse veya arada üremenin olmadığı bir “anahtar deliği” görülürse,

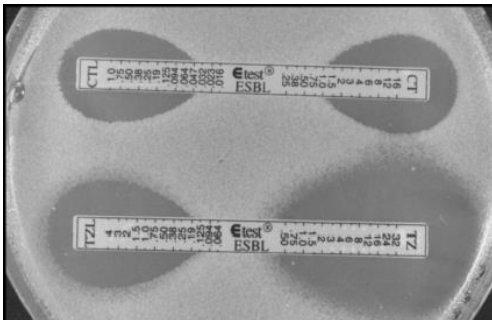
test pozitif olarak kabul edilir. Diskler arasındaki mesafe bu testin başarısında belirleyicidir. Sefalosporin 30 µg diskleri için optimal uzaklık 20 mm (merkezden merkeze) olarak belirlenmiştir, ancak çok yüksek veya düşük direnç düzeyleri söz konusu ise, bu uzaklık arttırılabilir (30 mm) veya azaltılabilir (15 mm) (45).



Şekil 3: Çift disk sinerji yöntemi. GSBL üreten suşlarda amoksisilin/klavulanik asit diskinin etrafına (20-30 mm) yerleştirilen sefepim, seftazidim, sefotaksim, aztreonam inhibisyon zon çaplarının genişlemesi (GSBL enziminin klavulanik asit varlığında inhibe olmasıyla beta-laktam antibiyotiğin aktivitesinin artması) (98)

2.9.2.1.2.3. E-Test Yöntemi

Gradyent şeritleri, üretici önerilerine göre hazırlanır, değerlendirilir ve yorumlanır. Klavulanik asit ile kombine edildiğinde sefalosporin MİK değerinde > 8 kat düşüş gözleniyorsa veya bir “ hayalet zon” (“phantom zone”) ya da elips şeklinde bir bozulma varsa test pozitifdir. MİK’in stripteki en yüksek değerden daha fazla olması nedeniyle MİK belirlenemiyor ve oran değerlendirilemiyorsa, test sonucu belirsizdir (“Indeterminate”). Diğer bütün durumlarda test negatiftir. GSBL gradiyent şeritleri sadece GSBL doğrulaması için kullanılmalıdır; MİK saptanması için güvenilir değildir (90).



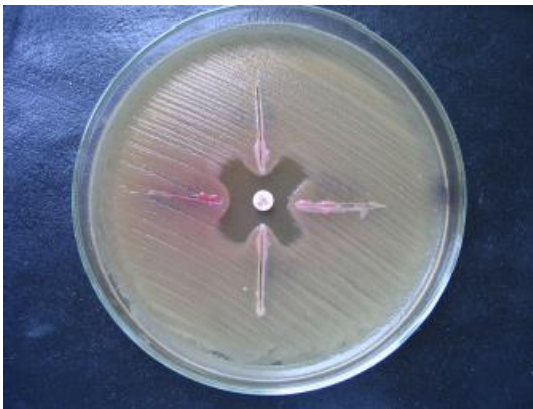
Şekil 4: E test ile GSBL tayini. GSBL üretmeyen bir suş. (Sağ) GSBL üreten bir suşun seftazidim MİK >256 mg/mL iken, seftazidim/klavulanik asit MİK değerinin ³8 kat azaldığı görülmektedir (98)

2.9.2.1.2.4. Mikrodilüsyon Testi

Sıvı mikrodilüsyon; sefotaksim, seftazidim ve sefepimin 0.125-512 mg/L arasındaki seri iki katlı dilüsyonlarını tek başlarına veya sabit konsantrasyonda (4mg/L) klavulanik asit ile birlikte içeren Mueller–Hinton sıvı besiyeri kullanılarak uygulanır. Klavulanik asit ile kombine edilen sefalosporin MİK değeri, sefalosporin tek başına olduğunda ölçülen MİK değerinden >8 kat daha düşükse test pozitifdir. Diğer durumlarda test negatiftir (94).

2.9.2.1.2.5. Üç Boyutlu Test

Bu yöntemde GSBL varlığını saptamak için seftazidim (30 µg), sefotaksim (30 µg), seftriakson (30 µg), sefepim (30 µg) ve aztreonam (30 µg) antibiyotik diskleri kullanılır. *E. coli* ATCC 25922 suşundan 0.5 Mac Farland eseline göre bulanıklığı ayarlanan bakteri süspansiyonu MHA yüzeyine yayılır. Agarın merkezine test edilecek antibiyotik disklerinden bir tanesi yerleştirilir. Antibiyotik diskinden 5 mm uzaktan başlayarak steril bir bisturi ile dış tarafa doğru besiyeri çizgi şeklinde kesilir. Test edilecek izolatin sekiz-on kolonisi steril öze yardımı ile toplanır ve daha sonra öze ile kesilen çizginin içine batırılıp diskten dışarıya doğru ekim yapılır. On sekiz-yirmi dört saat 35 °C’de inkübasyondan sonra inhibisyon zonunda düzensizlik görülmesi GSBL pozitif olarak değerlendirilir (99).



Şekil 5: Üç boyutlu test (100)

2.9.2.1.2.6. Otomatize Sistemler

“Phoenix Becton Dickinson” ID sistemleri, GSBL direnç mekanizmasını, CLSI standartlarını temel alarak, buyyon mikrodilüsyon metoduyla tespit etmektedir. “Phoenix” cihazında yoğunluğu ayarlanmış bakteri süspansiyonu besiyeri panellerine bir noktadan verilmekte, besiyerlerine inokülasyon ve inkübasyon cihazda otomatik olarak yapılmaktadır. Panellerdeki seftazidim (8 µg/ml), sefpodoksim (8 µg/ml), seftriakson/klavulanik asit (2-4 µg/ml), seftazidim/klavulanik asit (2-4 µg/ml) ve sefotaksim/klavulanik asit (2-4 µg/ml) içeren katyonu ayarlanmış Mueller Hinton Broth (MHB) besiyerindeki üremelere ve kullanılan algoritmaya göre sonuç cihaz çıktısında GSBL negatif veya GSBL pozitif olarak görülmektedir (101).

Bu sistem GSBL ürettiği genotipik olarak doğrulanan suşların % 90’ından daha büyük kısmında GSBL üretimini saptayabilmekte ve sonuçlar genellikle altı saat içinde çıkmaktadır (102).

VITEK®2, 60 ve 120 kart kapasiteli iki çeşide sahiptir. Ana organizma izolasyon işlemi sonrasında basit standartlaştırılmış inokülüm ile uygulama asgari düzeydedir. İnokülüm Smart Carrier Station™ sisteminde VITEK®2 kaset içine yerleştirilir ve burada VITEK® 2 kartı ile numune sanal olarak bağlanır. Kaset yüklendikten sonra her bir kartın inkübasyonu ve okunması herhangi bir müdahale gerektirmeden sistem tarafından yönetilir. VITEK®2, tanımlama ve duyarlılık sonuçlarını ortalama 5 saatte hazırlamaktadır (103).

MicroScan/WalkAway sistemi 1980’lerin sonlarında geliştirilmiştir. Klasik panelleri bir gecelik inkübasyonun ardından bakteri üremesini türbidometrik olarak ölçer. Yakın tarihte güncellenmiş ve MicroScan rapID/S plus olarak yeniden adlandırılmıştır. Kısa inkübasyonlu hızlı panelleri ise 3,5-7 saatte florometrik değerlendirme yaparak sonuç vermektedir (104).

2.9.2.1.2.7. Moleküler yöntemler

Yukarıda anlatılan yöntemler GSBL varlığını daha çok varsayıma dayalı olarak saptamaya yöneliktir. Klinik suşlarda mevcut GSBL’yi tanımlamak için beta laktamaz genlerini saptamak gerekir. Bu amaçla TEM ve SHV enzimlerine spesifik DNA problemleri kullanarak yapılabilir, ancak bu yoğun emek isteyen bir çalışmadır. Bir beta-laktamazın varlığını saptamak için kullanılan en kolay ve en yaygın metot, beta-laktamaz geni için

spesifik oligonükleotid primerler kullanarak polimeraz zincir reaksiyonu (PCR) yapmaktır. Oligonükleotid primerler, GenBank gibi merkezlerdeki uygun dizilerden seçilebilir. GSBL genlerinin farklılığı, TEM, SHV, CTX-M ve OXA genlerinin moleküler yöntemlerle saptanması ile ortaya çıkmıştır. Ancak PCR, TEM ve SHV'nin farklı varyantları arasında ayırım sağlayamayacaktır. Bunun için de oligotiplendirme testleri kullanılabilir (105).

Bu testlerde kullanılan probler, biotinle veya radyoizotopla işaretlenmiştir. Ligaz zincir reaksiyonu (LCR), tek bir baz çifti ile DNA sekanslarının farklılığını ayırt etmeye olanak sağlamaktadır. Ayrıca TEM, SHV gibi beta laktamaz geninin moleküler karakterizasyonu için PCR-RFLP (Restriction Fragment Length Polymorphism) yapılabilir. Nükleotid sekanslama, bir suşta mevcut beta laktamaz genlerini saptamak için standart yöntem olarak görünmektedir. Bu teknik GSBL olan OXA enzimlerini GSBL olmayan OXA enzimlerinden ayırt etmektedir (105).

GSBL saptama yöntemlerinin avantajları ve dezavantajları aşağıdaki tabloda belirtilmiştir.

Tablo 6: GSBL Saptama Yöntemleri (4)

Yöntem tipi	Test adı	Avantaj	Dezavantaj
Fenotipik (rutin)	Standart NCCLS yorum kriterleri	Kolaylıkla ve her laboratuvarda uygulanabilir.	GSBL her zaman "direnç" kategorisinde değildir.
	NCCLS doğrulama testleri	Uygulama ve yorum kolaydır.	Duyarlılık oksiiminosefalosporin seçimine göre değişir.
	Çift disk sinerji	Uygulama ve yorum kolaydır.	Disklerin yerleştirildiği uzaklık standart değildir.
	Üç boyutlu test	Duyarlı, yorumu kolaydır.	GSBL'lere özgül değil, Yoğun emek gerektirir
	E-test GSBL stripleri	Uygulaması kolaydır.	Yorum her zaman kolay değildir.
	Vitek GSBL	Uygulaması kolaydır.	ÇDS kadar duyarlı değil, çok Pahalı Duyarlılık düşük
Genotipik (moleküler)	DNA problemleri	Gen ailesine özgül (örn.TEM veya SHV)	Emek yoğun, GSBL-GSBL olmayan ayrımı yapamaz.
	PCR	Uygulaması kolaydır, gen ailesine özgül	TEM ve SHV varyantları ayırt edilemez.
	Oligotiplendirme	Özgül TEM varyantları saptanır.	GSBL-GSBL olmayan ayrımı yapılamaz.
	PCR-RFLP	Uygulama kolaylığı, spesifik nükleotid değişimleri saptanır.	TEM ve SHV varyantları ayrılamaz.
	PCR-SSCP	Bazı SHV varyantlarını ayırmada kullanılır.	Özgül oligonükleotid problemleri gerekir, emek yoğunur, yeni varyantlar saptanamaz.
	LCR	Bazı SHV varyantlarını ayırmada kullanılır.	Nükleotid değişimlerinin restriksiyon bölgesinde değişime yol açması gereklidir.
	Nükleotid dizi analizi	Altın standart, yeni enzimler saptanır.	Özel elektroforez koşulları gerekir

NCCLS: National Committee for Clinical Laboratory Standards, PCR: Polimeraz zincir reaksiyonu, LCR: Ligaz zincir reaksiyonu.

3. MATERYAL VE METOT

3.1. MATERYALLER

3.1.1. Kullanılan Cihaz ve Aletler

Etüv 37C ° (Thermal)

Buzdolabı (Arçelik)

Derin Dondurucu (Nüve)

Otoklav (Thermal)

Vorteks

Santrifüj (İsolab)

Mini Santrifüj

Hassas terazi (BEL)

Biyolojik kabin (Bilser Class II)

Termal Döngü Cihazı (Labnet)

Elektroforez Tankı ve Güç Kaynağı (Major Science)

UV görüntüleyici

Su banyosu (Termal)

Çalkalayıp ısıtıcı (Benchmark)

3.1.2. Sarf Malzemeler

Koyun Kanlı Agar

Mueller Hinton Agar (MHA)

Mueller Hinton Broth (MHB)

Eosyn Methylene Blue Agar (EMB)

Temosilin diski (10 µg)

MacFarland 0.5 Standardı

Eldiven (Vinil- Small)

Eldiven (Vinil-Medium)

Steril öze 1 mcl steril tek kullanımlık

Otoklav bandı
Otoklav poşeti
PCR tüpü 0.2 ml
Steril eküvyon çubuğu
Cryovial Tüp 2 ml
Cryovial tüp saklama kutusu
Mikrosantrifüj tüpü -1.5 ml
Otomatik Pipetler (İsolab)
Pipet ucu- Filtreli 0.5-10 µL
Pipet ucu –Filtreli 200 µl
Pipet ucu-filtreli 1000 µl

3.1.3. Kullanılan Kimyasallar

C_2H_5OH (Etil Alkol)
 $C_3H_8O_3$ (Gliserol)
 $NaClO$ (Çamaşır suyu)
Agarose (sigma)
 $C_4H_{11}NO_3$ (Tris-base)
 H_3BO_3 (Borik asit)
 $C_{10}H_{16}N_2O_8$ (EDTA)
 $C_{21}H_{20}BrN_3$ (Etidyum bromür)
 CH_3COOH (Asetik asit)
 KOH (Potasyum hidroksit)
 HCl (Hidroklorik asit)

3.1.4. PCR malzemeleri

blaOXA-48 ve blamcr-1 forward ve reverse primerleri
10X Ammonium Buffer (AMPLIQON)
dNTPs (AMPLIQON)
 $MgCl_2$ (AMPLIQON)
Taq DNA polymerase (BIOMATİK)
6XDNA Loading (Thermo Scientific)

HaeIII Øx174 (Thermo Scientific)

Hinf1 Øx174 (Promega)

C₁₆H₁₀N₂Na₂O₇S₂ (Orange G) (Sigma Aldrich)

3.1.5. Kullanılan Çözeltiler

Deneylerde kullanılan çözeltiler ve hazırlanışları aşağıda belirtilmiştir.

Etidyum bromür: 0.5 g Etidyum Bromür 100 ml distile su ile çözülmüştür. Işıktan korumak için çözelti koyu renk şişede saklanmıştır. Jele konsantrasyonu 0.2 µg/ml olacak şekilde ilave edilmiştir.

Agaroz jel: 2 g agaroz 100 ml 1xTBE buffer içinde eritilerek jel hazırlanmıştır. Stok solüsyondan 20 µl (0.5 µg/ml) etidyum bromür ilave edilmiştir. Ürünler 10x yükleme tamponu 1x'e dilue edilerek jele yüklenmiştir.

10xTBE tamponu: 54 g Tris base, 27.5 g borik asit, 20 ml 0.5 M EDTA yaklaşık 500 ml distile suda karıştırılarak çözülmüş, 1000 ml'ye tamamlanarak otoklavlanmıştır.

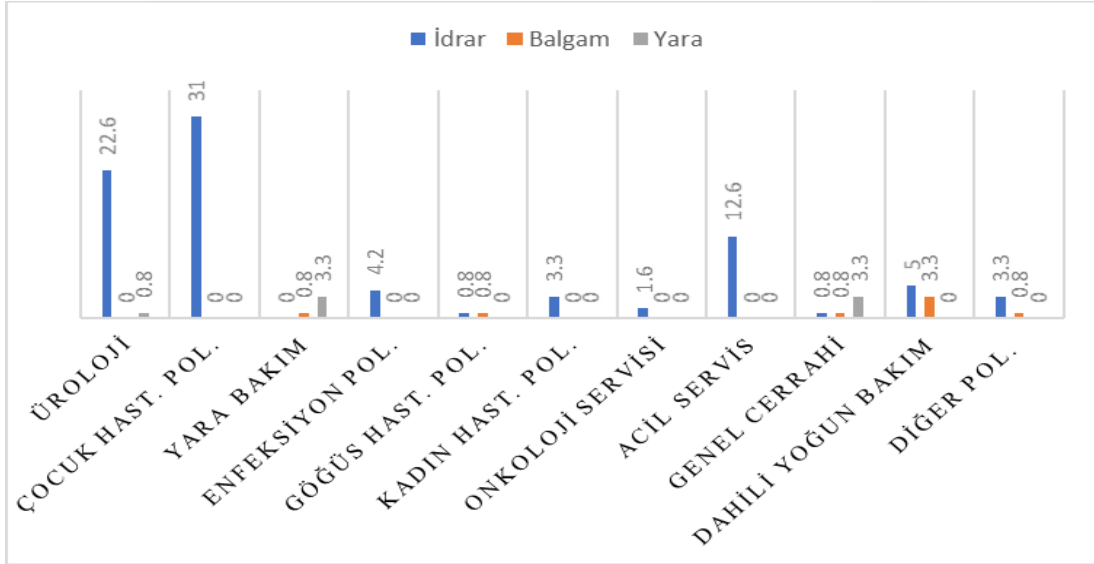
DNA belirteci: Üretici firmanın önerdiği şekilde 1 µl ø174 DNA marker, 1 µl loading buffer, 4 µl distile su karıştırılarak hazırlanmıştır.

3.2. YÖNTEM

3.2.1. Kültür, Bakteri Suşları ve Bakteri İdentifikasyonu

Bu çalışma, 10/2018 ile 01/2019 tarihleri arasında, Adıyaman Üniversitesi Eğitim ve Araştırma Hastanesi polikliniklerinden gelen 106'sı poliklinik, 13'ü yatan hastadan olan ve GSBL ürettiği saptanan 82'si *E. coli*, 34'ü *K. pneumoniae* ve 3'ü *K. oxytoca* olarak tanımlanmış toplam 119 adet bakteri üzerinde yapılmıştır.

Örnekler en fazla çocuk hastalıkları polikliniği ve üroloji kliniğinden, en az ise onkoloji servisi ve göğüs hastalıkları polikliniklerinden gelmiştir. Örneklerin geldiği kliniklerin, klinik örnek türüne göre sayısal dağılımı Şekil 6'da belirtilmiştir.



Şekil 6: Örneklerin geldiği klinikler ve klinik örnek türüne göre sayısal dağılımları

Laboratuvarımıza gönderilen kültür örnekleri EMB ve % 5 koyun kanlı agara ekilerek 37°C'de 18-24 saat inkübe edildi. EMB ve koyun kanlı agarda üreyen koloniler morfolojik özelliklerine göre tanımlandıktan sonra identifikasyon ve antibiyotik duyarlılık testleri BD Phoenix® sistemi ile yapıldı. Bu cihazda bakteri türü ve GSBL doğrulaması yapılan bakteri izolatlarının disk diffüzyon ve PCR testleri için alt kültürü yapıldı.

3.2.2. Antibiyotik Duyarlılık Testi

Kültür örneklerinin antibiyotik duyarlılık testi BD Phoenix® Bakteri İdentifikasyon ve Antibiyogram Hassasiyet Testi cihazında amikasin, amoksisilin/klavulanik asit, ampisilin, aztreonam, ertapenem, fosfomisin, gentamisin,

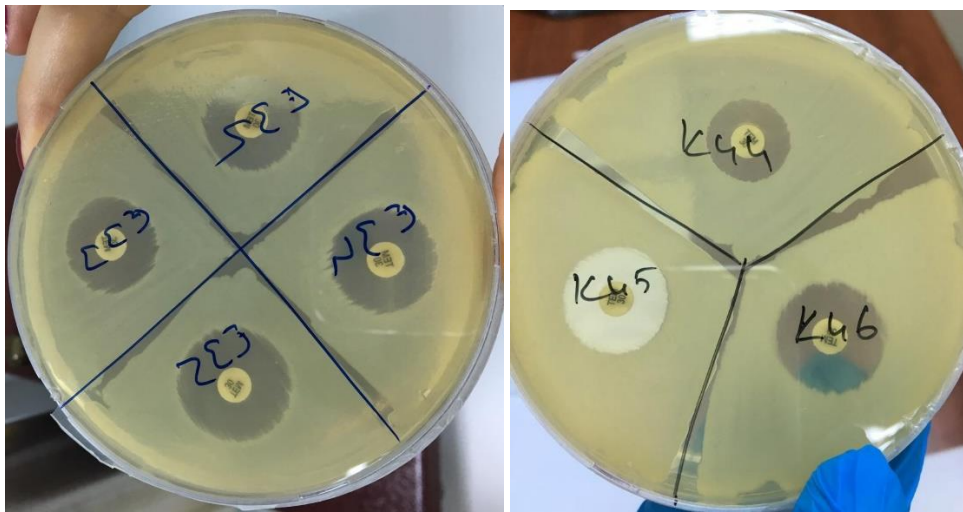
imipenem, kolistin, meropenem, norfloksasin, nitrofurantoin, piperasilin/tazobaktam, sefepim, sefiksim, seftazidim, seftriakson, siprofloksasin ve trimetoprim/sülfometoksazol isimli antibiyotik veya antibiyotik kombinasyonları kullanılarak yapıldı. GSBL pozitif izolatların temosiline olan duyarlılığı ise disk difüzyon yöntemi ile saptandı.

3.2.2.1. Disk Difüzyon Testi

Kültür plaklarında üremiş olan tüm örneklerin temosiline duyarlılığı disk difüzyon yöntemi ile belirlendi. Bu amaçla kültür plaklarındaki örneklerden steril bir eküvyon çubuğu ile alınarak MHB sıvı besiyerine ekildi. MacFarland 0.5'e ayarlanacak şekilde ekildikten sonra 2-6 saat 37°C 'de etüvde bekletildi. MHB'de üreyen bakteriler steril bir öze yardımıyla MHA besiyerine yayıldı, disklerin kuruması için oda ısısında 10-15 dakika bekletildikten sonra her plağa 4 tane olacak şekilde temosilin diski yerleştirilerek 37 °C'de 18-20 saat inkübe edildi. İnkübasyon sonrası temosilin disklerinin inhibisyon zon çapları ölçüldü (106). Zon çapı sınır değerleri Tablo 7'de, temosilin duyarlılık test sonuçları Şekil 7'de verilmiştir.

Tablo 7: Temosilin için antibiyogram zon çapı sınır değerleri (106)

Antibiyotik	Disk İçeriği (µg)	Zon Çapı Sınır Değeri (mm)	
		S ≥	R <
Temosilin	30	19	16



Şekil 7: Temosilin için disk difüzyon test sonuçları

3.3. DNA İzolasyonu

Bakteri örneklerinden DNA izolasyonu kaynatma yöntemiyle yapıldı (107).

- 1- EMB besiyerinde üremiş bakteri kolonilerinden bir öze dolusu alınarak 1 ml steril distile su içeren mikrosantrifüj tüp içerisinde süspansiyon haline getirildi.
- 2- Vortekslendikten sonra 2.000xg'de 20 dakika santrifüj edildi.
- 3- Üstteki sıvı atıldı.
- 4- 500 µl TE tamponu (10mM Tris (pH: 8.0)1 mM EDTA) eklendi.
- 5- Vortekslendikten sonra 2.000xg'de 20 dakika santrifüj edildi.
- 6- Üstteki sıvı atıldı.
- 7- Bakteri çözeltisi üzerine 300 µl TE tamponu eklenerek süspansiyon haline getirildi.
- 8-Vortekslendikten sonra 2.000xg'de 20 dakika santrifüj edildi.
- 9- Üstteki kısım atıldı. 250 µL steril distile su eklendi.
- 10- Vortekslendikten sonra ependorf tüplerin kapağı hava almasını sağlamak amacıyla lanset ile birkaç yerden delindi.
- 11-Kaynar su banyosunda 20 dakika bekletilerek bakterilerin parçalanıp, DNA'nın açığa çıkması sağlandı.
- 12- Tüpler vortekslendikten sonra 2.000xg'de 20 dakika santrifüj edilerek bakteri artıklarının çökmesi sağlandı.
- 13- Kalıp DNA' yı içeren üst sıvı alınarak iki adet steril ependorf tüp içerisine 125 µL içerecek şekilde konuldu.
- 14- Örnekler etiketlendi ve kullanılıncaya kadar biri –20 °C'de, diğeri -40 °C'de saklandı.

3.4. PCR

Karbapenem direnci için OXA-48, kolistin direnci için mcr-1 genlerinin varlığı in-house PCR testi ile araştırıldı. Her bir direnç genin tanımlamasında kullanılan forward ve reverse primer dizileri aşağıda belirtilmiştir.

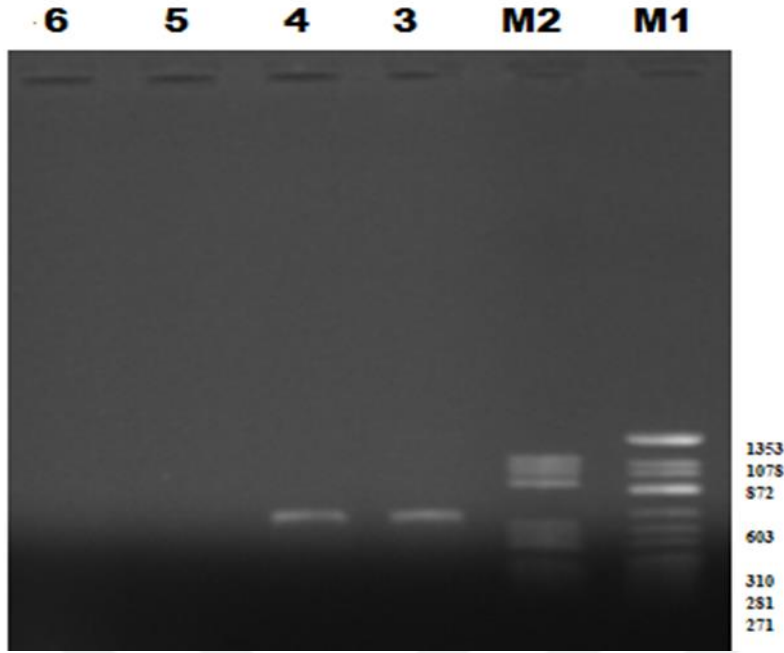
Tablo 8: PCR’da kullanılan primerlerin özellikleri

İlgili gen	Primer sırası (5’→3’)	Nükleotid uzunluğu	Baz uzunluğu	Referans
blaOXA-48	F: TTGGTGGCATCGATTATCGG R: GAGCACTTCTTTTGTGATGGC	20mer 21mer	744 bp	108
blamcr-1	F: GGGCCTGCGTATTTTAAGCG R: CATAGGCATTGCTGTGCGTC	20mer 20mer	183 bp	109

Her iki gen bölgesinin PCR reaksiyon karışımı toplam hacim 25 µl olacak şekilde; Steril Distile Su 9.4 µl, 10xPCR Buffer 2.5 µl, 25mM MgCl₂ 2 µl, 10 mM dNTPs 0.5 µl, Primer Forward 0.25 µl, Primer Reverse 0.25 µl, Taq Polimeraz 0.1 µl ve DNA ekstraktı 10 µl olarak belirlendi. PCR reaksiyonları Thermo Cyclor (MultiGene™ Optimax) yardımıyla in vitro ortamda gerçekleştirildi. PCR döngüsü OXA-48 geni için; ön denatürasyon 95°C’de 5 dk, denatürasyon 95°C’de 30 sn, annealing 58°C’de 30 sn, uzama 72°C’de 60 sn olacak şekilde 30 döngü yapıldıktan sonra, 72°C’de 3 dk bekletildi. mcr-1 geni için; ön denatürasyon 95°C’de 5 dk, denatürasyon 95°C’de 30 sn, annealing 60°C’de 30 sn, uzama 72°C’de 30 sn olacak şekilde 40 siklus yapıldıktan sonra 72°C’de 5 dk bekletildi.

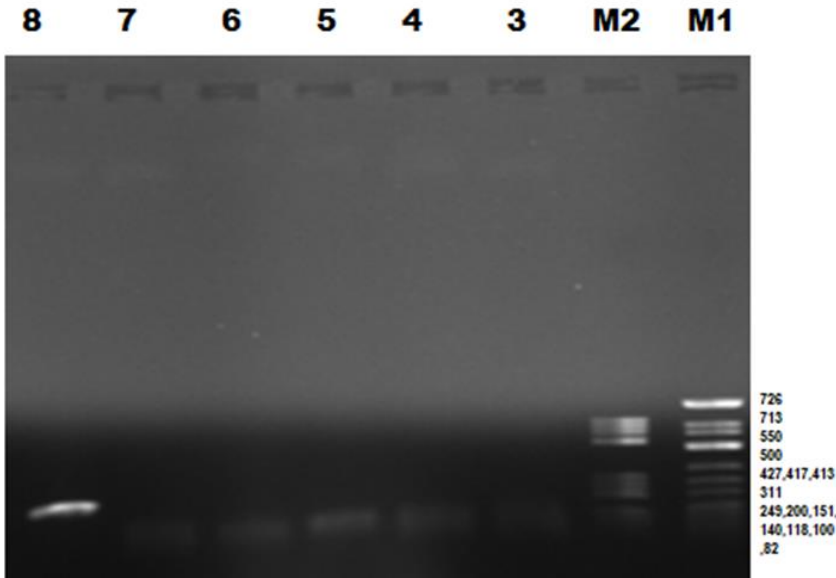
3.5. Agaroz Jel Elektroforezi

PCR ürünleri Orange G ile muamele edildikten sonra % 2’lik agaroz jelde 1xTBE tamponu içinde 90 V’da 1 saat yürütüldü. Bant görünümü transluminatörlü jel dökümantasyon sisteminde gözlemlendi. OXA-48 geni için 744 bp, mcr-1 geni için 183 bp bant görünümleri pozitif olarak kabul edildi.



Şekil 8: OXA-48 geni PCR DNA amplifikasyon görüntüsü

M1: Marker ØX174 DNA HaeIII, M2 : Marker ØX174 DNA Hinf I, 3: Pozitif Kontrol, 4: Pozitif Örnek, 5: Negatif Kontrol, 6: Negatif Örnek

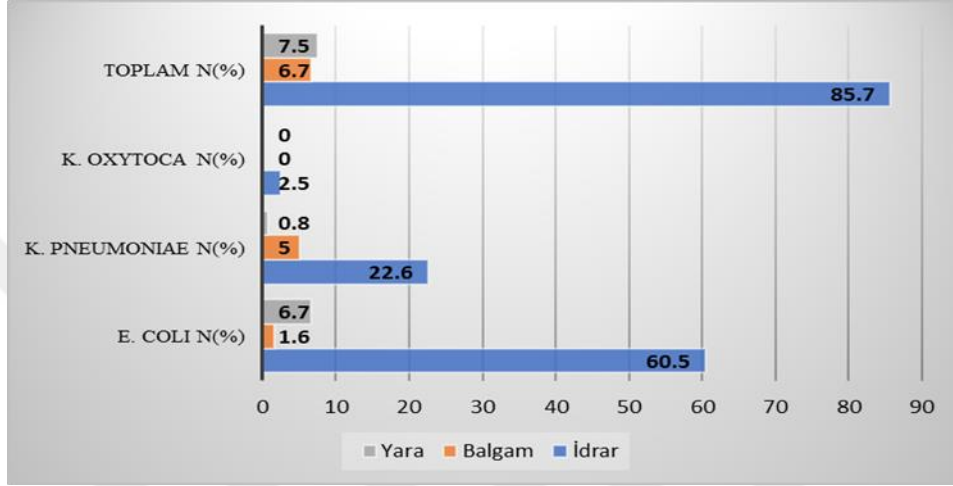


Şekil 9: mcr-1 geni PCR DNA amplifikasyon görüntüsü

M1: Marker ØX174 DNA Hinf I, M2: Marker ØX174 DNA HaeIII, 3,4,5,6,7: Örnek, 8: Pozitif kontrol

4. BULGULAR

Çalışmamızda 10/2018-01/2019 tarihleri arasında Adıyaman Üniversitesi Eğitim ve Araştırma Hastanesi poliklinik ve kliniklerinden mikrobiyoloji laboratuvarına gönderilen ve GSBL doğrulaması yapılan 82'si *E. coli* ve 37'si *Klebsiella* spp. olmak üzere toplam 119 izolat değerlendirildi. İzolatların alındığı örnek türleri ve yüzdeleri Şekil 10'da belirtilmiştir.



Şekil 10: Klinik örnek türüne göre izole edilen tür ve dağılımı

Çalışmada değerlendirilen örneklerin % 85.7'si idrar, % 7.5'i yara % 6.7'si ise balgam örneklerinden oluşmaktadır. Toplam idrar yüzdesinin % 60.5'ini *E. coli*, % 22.6'sını *K. pneumoniae*, % 2.5'ini *K. oxytoca* suşları oluştururken; toplam yara yüzdesinin % 6.7'sini *E. coli*, % 0.8'ini *K. pneumoniae* suşları oluşturmaktadır. 82 adet *E. coli* suşunun 72'si idrar (% 87.8), 8'i yara (% 9.7), 2'si balgam (% 2.4) örneklerinden gelmiştir. 34 adet *K. pneumoniae* izolatının 27'si idrar (% 79.4), 6'sı balgam (% 17.6) ve 1'i yara (% 2.9) örneklerinden gelirken; 3 *K. oxytoca* suşunun tamamı idrar (% 100) örneklerinden gelmiştir.

Çalışmada değerlendirilen izolatların ertapenem, meropenem, imipenem, kolistin ve fosfomisin direnci BD Phoenix® Bakteri İdentifikasyon ve Antibiyogram Hassasiyet Testi programında, temosilin direnci ise disk difüzyon yöntemiyle belirlendi. İncelenen klinik örneklerin BD Phoenix® cihazındaki antibiyogram sonuçları aşağıda Tablo 9'da verilmiştir.

Tablo 9: BD Phoenix® sistemi antibiyogram test sonuçları

Antibiyotikler	<i>E. coli</i>		<i>K. pneumoniae</i>		<i>K. Oxytoca</i>		Toplam	
	Sayı	%	Sayı	%	Sayı	%	Sayı	%
AN	0/82	0.0	8/34	23.5	0/3	0.0	8/119	6.7
GM	21/82	25.6	14/34	41.1	0/3	0.0	35/119	29.4
CFM	80/82	97.5	33/34	97.0	2/3	66.6	115/119	96.6
CAZ	32/82	39.0	31/34	91.1	0/3	0.0	63/119	52.9
CRO	79/82	96.3	30/34	88.2	2/3	66.6	111/119	93.2
FEP	57/82	69.5	27/34	79.4	1/3	33.3	85/119	71.4
ATM	40/82	48.7	27/34	79.4	0/3	0.0	67/119	56.3
AM	82/82	100	34/34	100	3/3	100	119/119	100
AXC	50/82	60.9	20/34	58.8	2/3	66.6	74/119	62.1
TZP	27/82	32.9	19/34	55.8	1/3	33.3	47/119	39.4
SXT	50/82	60.9	21/34	61.7	0/3	0.0	71/119	59.6
FM	4/82	4.8	17/34	50.0	1/3	33.3	22/119	18.4
CIP	44/82	53.6	19/34	55.8	1/3	33.3	64/119	53.7
NOR	44/82	53.6	19/34	55.8	1/3	33.3	64/119	53.7
ERT	16/82	19.5	17/34	50	1/3	33.3	34/119	28.5
MER	2/82	2.4	9/34	26.4	0/3	0.0	11/119	9.2
IMI	2/82	2.4	9/34	26.4	0/3	0.0	11/119	9.2
CL	4/82	4.8	6/34	17.6	1/3	33.3	11/119	9.2

AN: Amikasin, AM: Ampisilin, ATM: Aztreonam, AXC: Amoksisilin/klavunat, CAZ: Seftazidim, CFM: Sefiksim, CIP: Siprofloksasin, CL: Kolistin, CRO: Seftriakson, ERT: Ertapenem, FEP: Sefepim, FM: Nitrofurantion, GM: Gentamisin, IMI: İmipenem, MER: Meropenem, NOR: Norfloksasin, SXT: Trimetoprim/sülfametoksazol, TZP: Piperasilin/tazobaktam

119 GSBL pozitif izolatta ertapenem direnci % 28.5, meropenem, imipenem ve kolistin direnci % 9.2 olarak bulundu.

Tüm suşların ampisiline dirençli oldukları belirlendi. Sefiksim (% 96.6) ve seftriaksonda (% 93.2) yüksek direnç saptandı. En düşük direnç amikasinde (% 6.7) gözlemlendi.

BD Phoenix® Bakteri İdentifikasyon ve Antibiyogram Hassasiyet Testi programında 13 adet *E. coli* ve 5 adet *K. pneumoniae* izolatının fosfomisin sonucu belirlenememiştir. Fosfomisin duyarlılığı 69'u *E. coli*, 32'si *Klebsiella* spp. suşu olmak üzere toplam 101 suş üzerinden değerlendirilmiş olup, toplam suşların direnç oranı (3/101) % 2.9 olarak saptandı. *E. coli* ve *K. oxytoca* suşlarında fosfomisin direncine rastlanmazken, 29 *K. pneumoniae* suşunun 3'ünde (% 10.3) fosfomisin direnci belirlendi.

Çalışılan izolatlardaki temosilin direnci disk difüzyon yöntemiyle saptandı. Disk difüzyon antibiyogram test sonucuna göre, 119 adet GSBL pozitif suşun 32'sinde (% 26.8) temosilin direnci saptanmıştır. *E. coli* suşlarının 17'si (% 20.7) temosiline dirençli,

25'i (% 30.4) orta duyarlı, 40'ı (% 48.7) duyarlı bulunurken, *K. pneumoniae* suşlarının 15'i (% 44.1) temosiline dirençli, 10'u (% 29.4) orta duyarlı, 9'u (% 26.4) duyarlı olarak saptandı. *K. oxytoca* suşlarında temosilin direncine rastlanmazken, 2'si (% 66.6) duyarlı ve 1'i (% 33.3) ise orta duyarlı olarak belirlendi.

Örneklerin en fazla toplandığı klinikler çocuk hastalıkları ve üroloji poliklinikleridir. Tablo 10' da örneklerin poliklinik ve kliniklere göre dağılımı ve antibiyotik direnç oranları verilmiştir.

Tablo 10: Örneklerin geldiği klinikler, sayısal dağılımları ve antibiyotik direnç oranları

KLİNİK	SAYI	ERT	MER	IMI	CL	TEM
Üroloji	28	2	1	1	1	1
Çocuk Hastalıkları Pol.	37	15	2	2	1	12
Yara Bakım (Palyatif Ünitesi)	5	1	1	0	0	2
Enfeksiyon Pol.	5	0	0	0	0	1
Göğüs Hastalıkları Pol.	2	1	0	0	1	1
Kadın Hastalıkları Pol.	4	0	0	0	0	1
Onkoloji Servisi	2	0	0	1	1	1
Acil Servis	15	4	0	0	1	1
Diğer Pol.	5	1	0	0	1	1
Genel Cerrahi	6	3	3	3	1	2
Yoğun Bakım	10	7	4	4	4	9
Toplam	119	34	11	11	11	32

ERT: Ertapenem, MER: Meropenem, IMI: İmipenem, CL: Kolistin, TEM: Temosilin

Ertapenem, meropenem, imipenem, kolistin ve temosilinin kliniklere göre yapılan direnç değerlendirmesinde, ertapenem (15) ve temosiline (12) sayı olarak en fazla direnç çocuk hastalıkları polikliniğinde görüldü. Meropenem, imipenem ve kolistine sayı olarak eşit ve en fazla direncin (4) ise yoğun bakım ünitesinde olduğu belirlendi. Enfeksiyon ve kadın hastalıkları poliklinikleri, çalışılan antibiyotiklerden sadece temosiline birer direnç görülerek direncin en az görüldüğü poliklinikler olmuştur.

Fosfomisin'in incelendiği örneklerin 34'ü çocuk hastalıkları, 27'si üroloji, 13'ü acil servis, 10'u yoğun bakım, 5'i enfeksiyon, 4'ü kadın hastalıkları, 2'ser tanesi yara bakım, onkoloji ve genel cerrahi, 1'i göğüs hastalıkları, 1'i ise diğer polikliniklerden gelen örneklerden oluşmuştur.

Çalışmadaki GSBL suşlarının karbapenem grubu antibiyotikler, kolistin ve temosiline karşı direnç oranları Tablo 11'de verilmiştir.

Tablo 11: GSBL pozitif izolatların karbapenem grubu, kolistin ve temosiline karşı antibiyotik direnç oranları

İzolat Türü	<i>E. coli</i>	<i>K. pneumoniae</i>	<i>K. oxytoca</i>	Toplam
GSBL pozitif n (%)	82 (68.9)	34 (28.5)	3 (2.5)	119 (100)
ERT	16 (19.5)	17 (50)	1 (33.3)	34 (28.5)
MER	2 (2.4)	9 (26.4)	0	11 (9.2)
IMI	2 (2.4)	9 (26.4)	0	11 (9.2)
ERT+MER	1 (1.2)	9 (26.4)	0	1 (0.8)
MER+IMI	0	9 (26.4)	0	0
ERT+ IMI	0	9 (26.4)	0	0
ERT+MER+IMI	1 (1.2)	9 (26.4)	0	10 (8.4)
Toplam Karbapenem Direnci	17 (20.7)	17 (50)	1 (33.3)	35 (29.4)
CL	4 (4.8)	6 (17.6)	1 (33.3)	11 (9.2)
CL+IMI	1 (1.2)	0	0	1 (0.8)
CL+ERT+MER+IMI	0	4 (11.7)	0	4 (3.3)
TEM	17 (20.7)	15 (44.1)	0	32 (26.8)
ERT+TEM	9 (10.9)	13 (38.2)	0	22 (18.4)
ERT+MER+IMI+TEM	0	9 (26.4)	0	9 (7.5)
ERT+MER+IMI+CL+TEM	0	5(14.7)	0	5 (4.2)

ERT: Ertapenem, MER: Meropenem, IMI: İmipenem, CL: Kolistin, TEM: Temosilin

Çalışmadaki izolatların % 68.9'u *E. coli*, % 28.5'i *K. pneumoniae*, % 2.5 'i *K. oxytoca* suşlarından oluşmaktadır. İncelenen izolatlarda ertapenem direnci % 28.5 olarak saptandı. İzolatlar arasında yapılan değerlendirmede, *E. coli*'de % 19.5 ve *K. pneumoniae*'de ise % 50 oranında ertapenem direnci tespit edildi. Tüm izolatlarda meropenem ve imipenem direnci % 9.2 olarak bulundu. Her iki antibiyotikte *K. pneumoniae*'deki (% 26.4) direnç oranı *E. coli* (% 2.4) 'ye göre daha yüksek belirlendi. *K. oxytoca* suşlarında ertapenem direnci ertapenem direnci % 33.3 iken meropenem ve imipeneme karşı direnç gözlenmedi.

Kolistin direnci tüm izolatlarda % 9.2 olarak saptandı. En yüksek direncin *K. oxytoca* (% 33.3) olduğu belirlendi. *K. pneumoniae* ve *E. coli* suşlarında direnç oranı sırasıyla % 17.6 ve % 4.8 idi.

İncelenen izolatlardan 5 *K. pneumoniae* suşunun (% 14.7) ertapenem, meropenem, imipenem, kolistin ve temosiline dirençli olduğu saptandı. Fosfomisin direncinin saptandığı *K. pneumoniae* suşlarının 2'si çalışılan tüm antibiyotiklere dirençli olarak belirlendi.

Tür içi toplam karbapenem dirençli suş sayısı *E. coli*'de 17 (% 20.7), *K. pneumoniae*'de 17 (% 50), *K. oxytoca*'da ise 1 olarak (% 33.3) olarak belirlendi. Çalışmada incelenen karbapenem dirençli izolatlardaki OXA-48 gen varlığına ilişkin PCR sonuçları aşağıdaki tabloda verilmiştir.

Tablo 12: Karbapenem dirençli izolatlardaki OXA-48 geni PCR sonuçları

Bakteri (sayısı)	Türü	OXA-48					Toplam
		ERT n (%)	MER n (%)	ERT +MER n (%)	IMI n (%)	ERT+MER+IMI n (%)	
<i>E. coli</i> (n:17)		4 (23.5)	1 (5.8)	1 (5.8)	0	0	4 (23.5)
<i>K.pneumoniae</i> (n:17)		8 (47)	5 (29.4)	0	5 (29.4)	5 (29.4)	8 (47)
<i>K. oxytoca</i> (n:1)		0	0	0	0	0	0
Toplam (n: 35)		12 (34.2)	6 (17.1)	1 (2.8)	5 (14.2)	5 (14.2)	12 (34.2)

ERT: Ertapenem, MER: Meropenem, IMI: İmipenem

PCR test sonucuna göre karbapenem grubuna direnç saptanan izolatlarda OXA-48 direnç geni oranı genel olarak 12 (% 34.2) olarak bulundu.

Her bir ilaç direnci kendi içinde değerlendirildiğinde; bu oran ertapenem, meropenem ve imipenem için sırası ile 12 (% 34.2), 6 (% 17.1) ve 5 (% 14.2) olarak bulundu. OXA-48 gen varlığı izolat türüne göre değerlendirildiğinde, *K. pneumoniae*'de 8 (% 47) *E. coli*'ye 4 (% 23.5) göre daha yüksek oranda saptandı. Bu oranın ilaçlara göre dağılımı incelendiğinde, ertapenem dirençli izolatlardaki OXA-geni *E. coli*'de % 23.5 ve *K. pneumoniae*'de % 47 olarak tespit edildi. Meropenem dirençli izolatlarda direnç geni oranı *E. coli*'de % 5.8, *K. pneumoniae* % 29.4 olarak belirlendi. İmipenem dirençli izolatlarda OXA-48 geni *K. pneumoniae*'de % 29.4 olarak tespit edilirken, *E. coli*'de direnç geni saptanmadı. *K. oxytoca* izolatlarında OXA-48 geni saptanmadı.

PCR test sonucuna göre, kolistin dirençli 11 izolatın hiçbirinde mcr-1 geni tespit edilmedi.

5. TARTIŞMA

Genişlemiş spektrumlu beta-laktamaz üreten *E. coli* ve *Klebsiella* spp. izolatları tüm dünyada olduğu gibi ülkemizde de artarak görülmeye devam etmektedir. Bu suşlar son çare antibiyotikler olarak bilinen ertapenem, meropenem, imipenem, kolistin, fosfomisin ve temosilin gibi antibiyotiklere karşı direnç oluşturmakta ve bu durum halk sağlığını tehdit etmektedir.

2017-2018 döneminde Adıyaman Üniversitesi Eğitim ve Araştırma Hastanesi'ne gelen 5243 *E. coli* ve *Klebsiella* spp. suşunun % 28.4 'ü GSBL pozitif bulunmuş olup; GSBL pozitif olan suşların % 22.7'si ertapenem, % 7.4'ü meropenem, % 4.5'i imipenem ve % 7.7'si kolistin dirençli olarak saptanmıştır.

Çalışmamızda yer alan toplam 119 adet GSBL pozitif suşun 34'ü ertapenem (% 28.5), 11'er tanesi meropenem, imipenem ve kolistin (% 9.2), 32 tanesi temosilin (% 26.8) dirençli bulunmuştur. Bir önceki yıla göre kolistin, ertapenem, meropenem ve imipeneme direncin arttığı gözlenmiştir.

Ülkemizde 2000-2003 yılları arasında dokuz merkezin katıldığı MYSTIC (Meropenem Yearly Susceptibility Test Information Collection) çalışmasında Enterobacteriaceae ailesinde meropeneme % 99.3, imipeneme % 97.6 duyarlılık gözlemlendiği bildirilmiştir (110). 2007 yılında çok merkezli olarak yapılan HITIT-2 çalışmasının sonuçlarına göre *E. coli* izolatlarında karbapenem direnci tespit edilmemiş, *K. pneumoniae* izolatlarında imipenem direnci % 3.1 olarak tespit edilmiştir (111). 2008 yılında yapılan EARS-NET çalışmasında ise Türkiye'de karbapenem direncinin % 1-5 arasında olduğu bildirmiştir (112). 2009 yılında Duman ve ark. tarafından GSBL pozitif *E. coli* ve *Klebsiella* spp. suşlarında yapılan bir çalışmada karbapenem direncinin saptanmadığı bildirilmiştir (113). Eser ve ark'nın 2005-2009 yılları arasında yaptıkları çalışmada 153 *E. coli*, 47 *K. pneumoniae* ve 10 *K. oxytoca* izolatında % 11 oranında karbapenem direnci saptanmış, imipenem, meropeneme ve ertapeneme direnç oranları sırasıyla % 5.7 (n:12), % 1.9 (n:4) ve % 2.4 (n:5) olarak rapor edilmiştir (114). Aytar ve ark. kan kültüründen izole ettikleri 199 GSBL pozitif *K. pneumoniae* de % 6 oranında karbapenem direnci tespit ettiklerini, *E. coli* de ise direnç tespit etmediklerini bildirmişlerdir (115). 2015 yılında Temiz ve arkadaşlarının yayımladığı bir çalışmada GSBL pozitif *K. pneumoniae* suşlarının meropeneme direnç oranı % 24.7, imipenem % 23.5 olarak bulunmuştur (39). 2019 yılında Ocak ve arkadaşları tarafından yayımlanan

bir çalışmada GSBL üreten *E. coli* suşlarında ertapenem, meropenem ve imipenem direncine rastlanmamıştır (106). Çorum'da 2019 yılında Özçerezci ve ark. tarafından yayımlanan bir çalışmada, GSBL pozitif *K. pneumoniae*, *K. oxytoca* ve *E. coli* suşlarında ertapenem ve imipenem direnci saptanmamıştır (116). İstanbul'da Bayraktar ve arkadaşları tarafından 2019 yılında yayımlanan bir çalışmada, 2014-2016 yılları arasında toplanan GSBL pozitif *K. pneumoniae* suşlarında ertapenem direnci % 12, meropenem direnci % 11.1, imipenem direnci % 11.2 olarak belirlenmiştir. GSBL pozitif *E. coli* suşlarında ertapenem direnci % 3.3, imipenem direnci % 0.7 olarak saptanırken, meropenem direncine rastlanmamıştır (117).

Yapılan çalışmalar karşılaştırıldığında, GSBL pozitif karbapenem grubu ilaçlara direnç oranlarının yıllara göre arttığı, il ve çalışılan merkezler arasında farklılıklar bulunduğu anlaşılmaktadır. Çalışmamızda 82 adet *E. coli* izolatında sırasıyla ertapenem, meropenem ve imipenem direnç oranları sırasıyla 16/82 (% 19.5), 2/82 (% 2.4), 2/82 (% 2.4), 34 adet *K. pneumoniae* izolatında 17/34 (% 50), 9/34 (26.4), 9/34 (% 26.4) olarak bulundu. 3 adet *K. oxytoca* suşunda ertapenem direnci 1/3 (% 33) olarak saptanırken, meropenem ve imipenem direncine rastlanmamıştır. Diğer çalışmalar ile karşılaştırıldığında, incelenen izolatlarda ertapenem, meropenem ve imipenem için direnç oranları daha yüksek bulundu. Sonucun yüksek çıkmasının bölgesel farklılıklardan kaynaklandığı düşünülmektedir. Ayrıca dünyada direnç oranı yıllara göre artmaktadır. Bizim çalışmamızın daha yakın tarihli olması nedeni ile direnç oranının artma yönünde ilerlediği düşüncesindeyiz. Yaptığımız çalışma dahil genel olarak yapılan çalışmalara baktığımızda ertapenem direnci, meropenem ve imipenem direncine göre daha yüksek seyretmektedir. Çalışmamızda dikkat çeken bir diğer nokta ertapenem, meropenem ve imipenem direncinin *K. pneumoniae*'de, *E. coli* suşlarına göre daha yüksek olmasıdır. Çalışmamız bu yönü ile ülkemizde çeşitli illerden bildirilen çalışmalar ile uyumluluk göstermektedir.

Direnç oranlarımız yakın ve uzak coğrafik bölgeler ile karşılaştırıldığında; İran'da 2018'de Moghadampour ve ark. tarafından yapılan bir çalışmada GSBL pozitif *K. pneumoniae* suşlarında ertapenem ve meropenem direnci % 62.5, imipenem direnci % 57.5 olarak bildirilmiştir (118). İsveç'te 2011'de Titelman ve ark. tarafından yayımlanan bir çalışmada GSBL pozitif 159 *E. coli* suşunda ertapenem direnci % 1 olarak bulunmuştur (119). Norveç'te 2015'te Zykov ve ark.'ın yayımladığı bir çalışmada GSBL üreten *E. coli* suşlarının tamamı meropeneme duyarlı bulunmuştur (120). Hong Kong'da

2017’de Ip ve ark. tarafından yapılan bir çalışmada GSBL pozitif *K. pneumoniae* suşlarında ertapenem direnci % 1, meropenem direnci % 0.3 olarak belirlenmiştir (121). Tayvan’da 2016’da Ku ve ark. tarafından yapılan başka bir çalışmada GSBL pozitif *K. pneumoniae* suşlarındaki ertapenem direnci % 7.5, meropenem ve imipenem direnci % 2.9 olarak bulunmuştur (122). Karbapenem direncinin dünya genelinde coğrafik bölgelere göre değişiklik gösterdiği dikkati çekmektedir. Bu çalışmalarda da, bizim çalışmamızda olduğu gibi ertapenem direncinin, meropenem ve imipenem direncine göre genellikle daha yüksek olduğu gözlenmiştir.

Çalışmamızda GSBL pozitif 3 adet *K. oxytoca* suşunun 1 tanesinde ertapenem direnci görülürken, meropenem ve imipenem direncine rastlanmamıştır. 2015 yılında Temiz ve ark. ve 2019 yılında Özçerezci ve ark. tarafından bildirilen çalışmalarda GSBL pozitif *K. oxytoca* suşlarında meropenem ve imipenem direnci gözlenmemiştir (39,116). Sonuçlarımız bu yönü ile yapılan çalışmalar ile uyumlu bulunmuştur.

Karbapenem grubu ilaçlar dışında çalışmamızda kolistin, fosfomisin ve temosiline karşı direnç oranları da değerlendirilmiştir. 119 adet GSBL pozitif suşun, 11’inde (% 9.2) kolistin direnci saptanmıştır. Bu oranın mikroorganizma türüne göre dağılımı değerlendirildiğinde; 82 adet *E. coli*’nin 4’ü kolistin (% 4.8), 34 adet *K. pneumoniae*’nin 6’sı (% 17.6) ve 3 adet *K. oxytoca*’nın ise 1 tanesi (% 33.3) kolistin dirençli olarak bulunmuştur.

Bayraktar ve ark.’ın yaptığı çalışmada kolistin direnç oranı GSBL pozitif *E. coli* suşlarında % 1 ve *K. pneumoniae* suşlarında % 20 olarak bulunmuştur (117). Fransa’da 2018’de Duployez ve ark. tarafından yayımlanan bir çalışmada GSBL üreten *E. coli* suşlarının hiçbirinde kolistin direnci saptanmazken, *K. pneumoniae* suşlarında direnç % 9.1 olarak belirlenmiştir (123). Hong-Kong’da 2017’de Ip ve ark.’ın yaptıkları bir çalışmada GSBL üreten suşların kolistin direnci % 11.2 olarak bulunmuştur (121). 2013’te Tayvan’da Ku ve ark. tarafından yapılan bir çalışmada GSBL pozitif *E. coli* ve *K. pneumoniae* suşlarında kolistin direncine rastlanmamıştır (9). Yayımlanan çalışmalarda genel olarak *K. pneumoniae* suşlarındaki kolistin direnci *E. coli* suşlarındaki dirence oranla daha yüksektir. *K. oxytoca* suşlarında direnç oldukça düşüktür ve yapılan çalışmalar kısıtlıdır. Karbapenem direncinde olduğu gibi kolistin direncinde de coğrafik farklılıklar olduğu, direncin türler arasında farklılık gösterdiği ve gittikçe artma eğiliminde olduğu fark edilmektedir. Bizim çalışmamızda da *K pneumoniae* suşlarındaki

direnç oranı daha yüksektir. Yakın tarihli çalışmalarla çalışmalarımız genellikle uyumludur. Ayrıca sonuçlarımız önceki yıla ait GSBL pozitif suşlardaki kolistin direnciyle de uyumludur, ancak direnç oranı bir önceki yıla göre artmıştır.

İncelediğimiz 101 GSBL suşunun % 2.9'u fosfomisin dirençli bulunmuştur. Aris ve ark. 2018 yılında yayımladıkları bir çalışmada GSBL pozitif izolatlardaki fosfomisin direncini % 3 olarak saptanmıştır (124). Sonuçlar birbiri ile uyumludur.

Dünyada ve ülkemizde 2015 yılından itibaren yapılan çeşitli çalışmalarda GSBL pozitif *E. coli* suşlarının fosfomisin direnci % 2 ile % 19.1 arasında değişmektedir (106,125-130). Bizim çalışmamızda ise *E. coli* suşlarında fosfomisin direncine rastlanmamıştır. Sonucumuz diğer çalışmalar ile uyumludur.

2019 yılında Say Coşkun ve Raja ve ark.'ın, 2018 yılında ise Atmaca ve ark.'ın, yaptıkları çalışmalarda GSBL pozitif *K. pneumoniae* suşlarının fosfomisin direnci sırasıyla % 17, % 38 ve % 44.1 olarak saptanmıştır (128-130). Bizim çalışmamızda ise *K. pneumoniae* suşlarındaki fosfomisin direnci % 10.3 olarak belirlenmiştir. Sonucumuz diğer çalışmalardan düşük çıkmıştır. Yakın tarihli çalışmalarda *K. oxytoca* suşlarındaki fosfomisin direnci ile ilgili çalışmalara rastlanmamakla beraber, bizim çalışmamızda dirence rastlanmamıştır.

Çalışmamızda GSBL pozitif *E. coli* ve *K. pneumoniae* suşlarında direnç durumunu değerlendirdiğimiz temosilin, ülkemizde klinik olarak tedavide henüz kullanılmamakta olup, dünyada çeşitli ülkelerde bu ilaca karşı da direnç bildirilmeye başlanmıştır. Bu antibiyotik için duyarlılık testlerinde kullanılacak olan sınır değerleri uluslararası standartları henüz tanımlanmamıştır. Çalışmamızdaki antibiyotik duyarlılık testi disk difüzyon yöntemi ile Ocak ve ark. tarafından yapılan çalışmadaki sınır değerleri referans alınarak yapılmıştır. Bu çalışmada GSBL üreten *E. coli* suşlarında temosilin direnci % 1.3 olarak bildirilmiştir (106). Çalışmamızda yer alan toplam 119 adet GSBL pozitif suşun 32 tanesinde temosilin direnci % 26.8 olarak saptanmıştır. Direnç oranları izolat türüne göre değerlendirildiğinde 82 adet *E. coli*'nin 17'si (% 20.7), 34 adet GSBL pozitif *K. pneumoniae*'nin 15'i temosilin (% 44.1) dirençli olarak belirlenmiştir. 3 adet GSBL pozitif *K. oxytoca* suşunda temosilin direncine rastlanmamıştır. Bizim direnç oranımız bu çalışma sonucuna göre oldukça yüksek bulunmuştur.

Fransa'da 2018'de Duployez ve ark. tarafından yayımlanan bir çalışmada GSBL üreten *E. coli* suşlarının % 28.7'si, *K. pneumoniae* suşlarının % 22.1'i temosiline dirençli

bulunmuştur (123). Hong Kong'da 2017'de Ip ve ark. tarafından yapılan bir çalışmada GSBL üreten suşların temosilin direnç oranı % 16.1 (121), Fransa'da 2017'de Alexandre ve ark. tarafından yayımlanan bir çalışmada GSBL üreten suşlarda temosilin direnç oranı % 5.4 olarak bulunmuştur (131). Zykov ve ark.'ın Norveç'te 2015 yılında yaptıkları bir çalışmada ise GSBL üreten *E. coli* suşlarının tamamının temosiline duyarlı olduğu bildirilmiştir (120). Titelman ve ark. tarafından İsveç'te 2011 yılında yapılan bir çalışmada GSBL pozitif 159 *E. coli* suşunda temosilin direnci % 24 olarak saptanmıştır (119). Dünyada temosilin direnci ile ilgili yapılan çalışmalar arasında büyük farklılıklar vardır. Bu durum temosilin kullanım sıklığı, hasta profili ve bölgesel sebeplerden kaynaklanabilmektedir. Çalışmamızda 119 GSBL pozitif suşın temosilin direnci % 26.8'dir. Bu sonuç Türkiye'de temosilin kullanımda olmamasına rağmen oldukça yüksektir. Bu durumun sebebi çapraz antibiyotik direnci olabilir. Diğer taraftan çalışmamızın sınırlandırıcı yanı temosilin altın standart yöntem olan mikrodilüsyon yöntemiyle MİK değerinin belirlenmemiş olması ve EuCAST ve CLSI'nin 2018 yılı dökümanlarında disk difüzyon yöntemi için zon çapı sınır değerlerinin henüz belirlenmemiş olmasıdır.

Çalışmamızda yer alan karbapenem dirençli 35 izolatın 12'sinde (% 34.2) OXA-48 geni bulunmuştur. Karbapenem dirençli 17 *E. coli* suşunun 4'ü (% 23.5), karbapenem dirençli 17 *K. pneumoniae* suşunun ise 8'inde (% 47) OXA-48 genine rastlanmıştır. Ertapenem dirençli *E. coli* suşlarının 4'ünde, meropenem dirençli suşların 1'inde OXA-48 geni görülürken imipenem dirençli suşlarda OXA-48 genine rastlanmamıştır. Ertapenem dirençli *K. pneumoniae* suşlarının 8'i, meropenem ve imipenem dirençli suşların ise 5'inde OXA-48 genine rastlanmıştır. Karbapenem dirençli bir *K. oxytoca* suşunda OXA-48 genine rastlanmamıştır.

OXA-48 ilk olarak 2001 yılında Türkiye'de tespit edilmiştir (68). 2008'den beri Orta Doğu'daki birçok ülke, Kuzey Afrika, Akdeniz bölgesi ve geri kalan Avrupa'da OXA-48 üreten Enterobakteriler tespit edilmiştir (68).

2016'da İstanbul'da Eren Topkaya ve ark. tarafından yayımlanan bir çalışmada, GSBL pozitif 30 *E. coli* suşunun 1'inde (% 3.3) OXA-48 geni rapor edilirken, 6 *K. pneumoniae* suşunda ise OXA-48 genine rastlanmamıştır (132). 2018'de Hindistan'da Archana Hedge ve ark. tarafından yayımlanan bir çalışmada karbapenem dirençli *K. pneumoniae* suşlarının (n:89) % 46'sında OXA-48 genine rastlanmıştır (133). İran'da

2018’de Moghadampour ve ark. tarafından yapılan bir çalışmada 80 adet GSBL pozitif *K. pneumoniae*’nin 46’sında (% 57.5) OXA-48 varlığı tespit edilmiştir. Çalışmada yer alan izolatların 51’i karbapenemaza dirençli çıkmış, onlardaki OXA-48 varlığı % 90.2 olarak saptanmıştır (118). Mısır’da 2017’de Assem ve ark. tarafından yayımlanan bir çalışmada karbapenem dirençli *K. pneumoniae* suşlarının % 48’inde OXA-48 saptanmıştır (134). ABD’de 2016 yılında Liu ve ark. tarafından yayımlanan bir çalışmada, kedi ve köpeklerden toplanan 68 GSBL pozitif *E. coli* suşunda % 19.1 oranında OXA-48 genine rastlanmıştır (135). Fransa’da 2014 yılında Liapis ve ark. tarafından yayımlanan bir çalışmada OXA-48 üreten 53 *K. pneumoniae* izolatının % 93 ‘ü ertapenem, % 17’si meropenem, % 23’ü ise imipenem dirençli olarak bulunmuştur. Bu suşların %79’unun GSBL pozitif olduğu rapor edilmiştir (136).

Karbapenem dirençli suşlardaki OXA-48 gen yüzdesi çalışmamızla uyumlu çıkmıştır. Yapılan çalışmalara baktığımızda ertapenem dirençli suşlardaki OXA-48 varlığı meropenem ve imipenem dirençli suşlardaki OXA-48 gen varlığına göre daha yüksektir. GSBL pozitif *K. pneumoniae* suşlarındaki OXA-48 varlığı, *E. coli* suşlarına göre daha fazladır. Yakın tarihli yayımlanan çalışmalarda GSBL pozitif *K. oxytoca* suşlarındaki OXA-48 gen varlığına ilişkin bir çalışmaya rastlanmamıştır. Bizim çalışmamızda *K. oxytoca* suşlarında OXA-48 geni saptanmamıştır.

Kolistin direncine sebep olan yeni bir mekanizma kolistin direnciyle ilgili tüm düşünceleri değiştirmiş ve global bir kaygıya sebep olmuştur. Son birkaç yıla kadar kolistin direnci yatay geçiş olasılığı olmayan kromozomal bir direnç mekanizması ile bağlantılı iken, 2016’de Çin’de hayvan kaynaklı bir *E. coli* suşunda plazmid aracılı P_{ETN}’yi kodlayan mcr-1 geni belirlenmiştir. Daha sonra ise yatan bir hastadaki *K. pneumoniae* suşunda mcr-1 genine rastlanmıştır (78).

2016 boyunca dünyanın birçok bölgesinden mcr-1 geninin sık sık CTX-M tip beta-laktamazlar ile kombinasyon oluşturduğu, izolatların sefalosporinler ve kolistine dirençli oldukları rapor edilmiştir. Çoklu direnç (co-resistance), karbapenemlere karşı da bulunmuştur (137). Ülkemizde Kürekçi ve ark.’ın 2018’de yayımladıkları bir çalışmada besin kaynaklı *E. coli* suşlarında mcr-1 geni saptanmıştır (138). Fransa’da Caspar ve ark.’ın 2017 yılında yayımladıkları bir çalışmada GSBL pozitif bir *K. pneumoniae* suşunda mcr-1 genine rastlanmıştır (139). Yeni Kaledonya’da Robin ve ark. 2016 yılında yayımladıkları bir çalışmada 48 GSBL pozitif *E. coli* izolatında 2 suşta mcr-1 geni (%)

4.2) saptanmıştır (140). Finlandiya’da Gröndahl ve ark. tarafından ilk kez 2016 yılında GSBL pozitif 1 *E. coli* suşunda mcr-1 genine rastlanmıştır (141). Bizim çalışmamızda mcr-1 direnç genine rastlanmamıştır. mcr-1 geni nadiren izole edilmemesine rağmen toplumda görülme sıklığı giderek artmaktadır.



6. SONUÇ VE ÖNERİLER

Sonuç olarak; OXA-48 ve diğer yaygın karbapenemazlar ile ilgili çalışmalar yaygınlaştırılmalı ve karbapenem direnci üzerindeki etkileri araştırılmalıdır. Ayrıca yapılacak çalışmalarda kolistin direncinin plazmid aracılı yayılımına neden olan diğer mcr genleri de araştırılmalıdır. Kolistin direncinin durumunu anlamak için sadece insanlar ve çiftlik hayvanlarındaki değil su ürünleri sektöründeki mcr genlerinin yayılımına da bakılmalı ve bunların arasındaki ilişki sorgulanmalıdır. mcr-1 geninin ticaret ve seyahat yoluyla yayılımı gösterilmeli ve mcr genlerinin başlangıcı araştırılmalıdır.

Temosilin ülkemizde klinik olarak kullanımda olmadığı için pek fazla araştırılmamıştır. Bu çalışma yakın çevremizde temosilin direncinin araştırıldığı ilk çalışmadır.

K. oxytoca ile ilgili çalışmalar oldukça kısıtlıdır. Çalışmamızda *K. oxytoca* da çalışılmıştır ve direnç oranlarıyla ilgili bir öngörü sahibi olmamız amaçlanmıştır.

Çalışmamız, son çare antibiyotikler olarak nitelendirilen antibiyotiklerin bölgemizdeki direnç profilini ortaya çıkarmayı amaçlamıştır. Böylece ilgili kurum ve hastanelerin, antibiyotik direnci ile ilgili gereken tedbirleri alırken çalışmamızın güncel verilerinden faydalanmaları umulmaktadır.

Çalışmamızın kısıtlayıcı tarafları; çalışılan örnek grubunun yeterince geniş olmaması, özellikle de *K. oxytoca* suş sayısının yetersiz olmasıdır. Bu durum direnç yüzdelerinin yüksek çıkmasına neden olmuştur. Ayrıca otomatize antibiyogram testlerinin sonuçlarının doğruluğu konusunda birtakım kaygılar bulunmaktadır. Ancak çalışmamızda bu test sonuçlarının ek bir antibiyogram testi ile doğrulaması yapılmamıştır. Temosilin için uluslararası standardizasyonu bulunan mikrodilüsyon yöntemi yerine disk difüzyon yönteminin kullanılması, karbapenem direncindeki karbapenemaz etkisini anlamak için diğer karbapenemazların ve kolistin direncindeki gen etkisini anlamak için diğer mcr genlerinin çalışmamıza dahil edilmemesi çalışmamızın diğer eksik taraflarındandır.

7. KAYNAKLAR

- 1- World Health Organization. World Health Statistics, 2014.
- 2- Sougakoff W, Goussard S, Courvalin P. The TEM-3 beta-lactamase, which hydrolyzes broad-spectrum cephalosporins, is derived from the TEM-2 penicillinase by two aminoacid substitutions. *FEMS Microbiol Lett* 1988;56:343-8.
- 3- Bush K. New beta-lactamases in gram negative bacteria. Diversity and impact on the selection of antimicrobial therapy. *Clin Infect Dis* 2001;32:1085-9.
- 4- Vercauteren E, Descheemaeker P, Ieven M, Sanders CC, Goossens H. Comparison of screening methods for detection of extended-spectrum beta-lactamases and their prevalence among blood isolates of *Escherichia coli* and *Klebsiella* spp. in a Belgian Teaching Hospital. *J Clin Microbiol* 1997;35:2191-7.
- 5- Sanders CC, Sanders WE Jr. Beta-lactam resistance in gram-negative bacteria: global trends and clinical impact. *Clin Infect Dis* 1992;15:824-39.
- 6- Gürlü N. Poliklinik Hastalarının Çeşitli Klinik Örneklerinden Etken Olarak İzole Edilen *Escherichia coli* ve *Klebsiella* cinsi Bakterilerde Genişlemiş Spektrumlu Beta Laktamaz Varlığının Araştırılması. İstanbul Tıp Fakültesi, Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı. Yüksek Lisans Tezi, İstanbul: İstanbul Üniversitesi, 2007.
- 7- Ndugulile F, Jureen R, Harthug S, Urassa W, Langeland N. Extended spectrum β -lactamases among gram-negative bacteria of nosocomial origin from an intensive care unit of a tertiary health facility in Tanzania. *BMC Infect Dis* 2005;5:86
- 8- Lee NY, Lee CC, Huang WH, Tsui KC, Hsueh PR, Ko WC. Carbapenem therapy for bacteremia due to extended-spectrum- β -lactamase-producing *Escherichia coli* or *Klebsiella pneumoniae*: implications of ertapenem susceptibility. *Antimicrob Agents Chemother* 2012;56(6):2888-93.
- 9- Ku YH, Lee MF, Chuang YC, Chen CC, Yu WL. In vitro activity of colistin sulfate against Enterobacteriaceae producing extended spectrum β -lactamases. *Journal of Microbiology, Immunology and Infection* 2013;48(6):699-702.
- 10- Schultz C, Geerlings S. Plasmid-mediated resistance in Enterobacteriaceae: changing landscape and implications for therapy. *Drugs* 2012;72: 1–16.
- 11- Poirel L, Jayol A, Nordmann P. Polymyxins: Antibacterial activity, susceptibility testing, and resistance mechanisms encoded by plasmids or chromosomes. *Clinical Microbiology Reviews* 2017;30(2):557-96.
- 12- Livermore DM, Tulkens PM. Temocillin revived. *J Antimicrob Chemother.* 2009;63(2):243–5.
- 13- Pulcini C, Bush K, Craig WA, Fridmott-Møller N, Grayson ML, Mouton JW et al. Forgotten antibiotics: an inventory in Europe, the United States, Canada, and Australia. *Clin Infect Dis.* 2012;54(2):268–74.
- 14- Bilgehan H. *Enterobacteriaceae, Klinik Mikrobiyolojik Tanı* 4. Baskı. Ankara: Barış Yayınları Fakülteler Kitabevi; 2004, 425-454.

- 15-Brooks GF, Butel JS, Morse SA. Enterobacteriaceae. In: Al Kobaisi MF (ed). *Jawetz, Melnick, &Adelberg's Medical Microbiology*. Boston: The McGraw – Hill Companies; 2004, 248-262.
- 16- B Bauman. The Enterobacteriaceae: An Overview, in B Bauman (ed). *Microbiology*, 2004: San Francisco: Pearson Education;2004,571-576.
- 17- Hariharan H, Weinstein RA. Enterobacteriaceae. In: Mayhall CG (ed). *Hospital Epidemiology and Infection Control*. Baltimore, Maryland: Williams&Wilkins;1996, 345-363.
- 18- PR Murray, K.S. Rosenthal, MA Pfaller. *Medical Microbiology* 6. Baskı. Philadelphia: Atlas Yayınevi;2009,301.
- 19- Unat EK *Escherichia coli*. İçinde: EK Unat (ed). *Tıp Bakteriyolojisi ve Virolojisi* 1, 2. Baskı. İstanbul: Dergah Tıp Yayınları;1986,546.
- 20- *Escherichia-mikrobiyoloji.org*. 16 Ağustos 2020.
- 21- Biberoglu İ, Ünal S. Üriner Sistem infeksiyonları. İçinde: Biberoglu İ, Ünal S (eds). *İç Hastalıkları* 2. Baskı. Güneş Kitabevi;2003,3015-3020.
- 22- Murray PR, Rosenthal KS, Pfaller MA. İçinde: Başustaoğlu AC (ed). *Tıbbi Mikrobiyoloji* 6. Baskı. Ankara: Atlas Kitapçılık;2014,303-306.
- 23- Ustaçelebi Ş. *Escherichia coli*. İçinde: Mutlu G, İmir T, Cengiz T, Ustaçelebi Ş, Tümbay E, Mete Ö (eds). *Temel ve Klinik Mikrobiyoloji* 1. Baskı. Ankara: Güneş Kitabevi; 1999, 480-485.
- 24- Brisse S, Fevre C, Passet V, Issenhuth-Jeanjean S, Tournebize R, Diancourt L et al. Virulent clones of *Klebsiella pneumoniae*: identification and evolutionary scenario based on genomic and phenotypic characterization. *PloS One* 2009;4(3):4982.
- 25- Podschun R, Ullmann U. *Klebsiella* spp. as nosocomial pathogens: epidemiology, taxonomy, typing methods, and pathogenicity factors. *Clinical microbiology reviews* 1998;11(4):589-603.
- 26- https://tr.wikipedia.org/wiki/Klebsiella_pneumoniae 24 Mayıs 2020.
- 27- Bilgehan H. Enterobacteriaceae Familyası. İçinde: Bilgehan H Klinik Mikrobiyoloji Özel Bakteriyoloji ve Bakteri Enfeksiyonları 10. Baskı. İzmir: Barış Yayınları Fakülteler Kitabevi; 2000, 1-103.
- 28- *Klebsiella – mikrobiyoloji.org* 24 Mayıs 2020.
- 29- Tärnberg, M. Extended-spectrum beta-lactamase producing Enterobacteriaceae: aspects on detection, epidemiology and multi-drug resistance. Linköping University medical dissertations. Linköping: Linköping University, 2012.
- 30- Cortés G, Álvarez D, Saus C & Albertı S. Role of lung epithelial cells in defense against *Klebsiella pneumoniae* pneumonia. *Infect Immun* 2002;70(3):1075–1080.
- 31- Flügge C. Die Mikroorganismen. In: bacteriology Leipzig: Verlag von F.C.W. Vogel, 1886.

- 32- Brisse S, Grimont F, Grimont PAD. Prokaryotes. In: bacteria. New York, NY: Springer New York;2006,159–196.
- 33- Lowe C, Willey B, O’Shaughnessy A, Lee W, Lum M et al. Outbreak of extended-spectrum β -Lactamase-producing *Klebsiella oxytoca* infections associated with contaminated handwashing sinks. *Emerg Infect Dis* 2012;18(8):1242–1247.
- 34- <http://www.bode-science-center.com/center/relevant-pathogens-from-a-z/klebsiella-oxytoca.html> 24 Mayıs 2020.
- 35- Gülay Z. Hücre duvar sentezini etkileyen antibakteriyeller. *ANKEM Derg* 2003;17(3):192-204.
- 36- Livermore DM, Woodford N. The β -lactamase threat in Enterobacteriaceae, Pseudomonas and Acinetobacter. *Trend in Microbiology* 2006;14(9):413-420.
- 37- Opal SM, Mayer KH, Medeiros AA. Mechanisms of antibiotic resistance, In: Mandell GL, Bennett JE, Dolin R (eds). Principles and Practice of Infectious Diseases 5th ed. New York: Churchill Livingstone; 2000,236-252.
- 38- Gür D. Bakterilerde antibiyotiklere karşı direnç. In: Topçu AW, Söyletir G, Doğanay M (eds). Enfeksiyon Hastalıkları ve Mikrobiyolojisi. İstanbul: Nobel tıp kitabevleri; 2002, 182-93.
- 39- Temiz H, Özbek E, Gür Vural D, Özekinci T. Klebsiella izolatlarının antimikrobiyal direnç oranlarının değerlendirilmesi. *Türk Mikrobiyol Cem Derg* 2015;45(2):68-74.
- 40- Öztürk R. Antimikrobik İlaçlara Karşı Direnç Gelisme Mekanizmaları ve Günümüzde Direnç Durumu. Akılcı Antibiyotik Kullanımı ve Eriskinde Toplumdan Edinilmiş Enfeksiyonlar Sempozyum Dizisi. 2002;31:83-100.
- 41- Mutlu G, İmir T, Cengiz AT, Ustaçelebi Ş, Tümbay E, Mete Ö. Antimikrobiyal İlaçlara Direnç. İçinde Ustaçelebi Ş. (ed) Temel ve Klinik Mikrobiyoloji Ankara: Güneş Kitabevi; 1999,1(9):91-109.
- 42- Bal Ç. Beta Laktamazlar: Güncel Durum. *Flora Dergisi* 2003;8(2):111-123.
- 43- Naas T, Oueslati S, Bonnin RA, Dabos LM, Zavala A, Dortet L et al. Beta-lactamase database (BLDB) – structure and function. *J Enzyme Inhib Med Chem* 2017;32(1):917-919.
- 44- Bush K. Past and present perspectives on B-lactamases. *Antimicrob Agents Chemother* 2018;62:10.
- 45- Paterson DL, Bonomo RA. Extended-spectrum beta-lactamases: A clinical update. *Clin Microbiol Rev* 2005;18(4):657–686.
- 46- Bush K, Jacoby GA. Updated functional classification of β -Lactamases. *Antimicrob. Agents and Chemother* 2010;54(3):970.
- 47- Alışkan HE, Çolakoğlu Ş, Turunç T, Demiroğlu YZ. GSBL Pozitif Enterobacteriaceae ve Vankomisine Dirençli Enterokokların İdrar Kültürlerinden Erken Tespitinde ChromID ESBL Agarın Değerlendirilmesi. 3. Türkiye EKMUD Kongresi. Ankara, 2010.

- 48- Livermore DM, Williams JD. In: Beta lactams: mode of action and mechanisms of bacterial resistance, Lorian VL (ed). *Antibiotics in Laboratory Medicine* 4. Baskı. Baltimore: Williams and Wilkins;1996,502.
- 49- Thomson KS. Controversies about extended spectrum and AmpC beta-lactamases. *Emerg Infect Dis* 2001;7(2):333-336.
- 50- Gniadkowski M. Evolution and epidemiology of extended-spectrum β -lactamases (ESBLs) and ESBL producing microorganisms [review]. *Clin Microbiol Infect* 2001;7:597-608.
- 51- Petit A, Gerbaud G, Sirot D, Courvalin P, Sirot J. Molecular epidemiology of TEM-3 (CTX-1) beta-lactamase. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* 1990; 34:2, 219-224.
- 52- Liakopoulos A, Mevius D, Ceccarelli D. A review of SHV Extended-spectrum β -Lactamases: neglected yet ubiquitous. *Front Microbiol* 2016;7:1374.
- 53- Altınkanat G. Rutin Laboratuvarımızda İzole Edilen *Klebsiella pneumoniae*, *Escherichia coli* ve *Enterobacteriaceae cloacae* Kökenlerinde, Yeni Geniş Spektrumlu Beta-Laktamaz IBC-1'in Fenotipik ve Genotipik Yöntemlerle Saptanması. Marmara Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı Yüksek Lisans Tezi. İstanbul; Marmara Üniversitesi, 2006.
- 54- Hall LMC, Livermore DM, Gür D, Akova M, Akalın HE. OXA-11, an extended-spectrum variant of OXA-10 (PSE-2) β -Lactamase from *Pseudomonas aeruginosa*. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* 1993;37(8):1637-1644.
- 55- Evans BA, Amyes SGB. OXA β - Lactamases. *Clinical Microbiology Reviews* 2014;27(2):241-263.
- 56- Canton R, González-Alba JM, Galán JC. CTX-M enzymes: origin and diffusion. *Frontiers in Microbiology* 2012;3:110.
- 57- Mülazımoğlu L. 1986'dan günümüze karbapenemler. *ANKEM Derg* 2010;24(2):33-35.
- 58- Papp-Wallace KM, Endimiani A, Taracila MA, Bonomo RA. Carbapenems: past, present and future. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* 2011;55(1):4943-4960.
- 59- Shah PM. Parenteral carbapenems, *Clin Microbiol Infect* 2008;14(1):175-80.
- 60- Curran M, Simpson D, Perry C. Ertapenem: a review of its use in the management of bacterial infections. *Drugs* 2003;63(17):1855-78.
- 61- 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(4):904-8.
- 62- Edwards JR. Meropenem: a microbiological overview. *J Antimicrob Chemother* 1995;36(A):1-17.
- 63- Baldwin CM, Lyseng-Williamson KA, Keam SJ. Meropenem: a review of its use in the treatment of serious bacterial infections. *Drugs* 2008;68 (6):803-838.

- 64- Rodloff AC, Goldstein EJC, Torres A. Two decades of imipenem therapy. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy* 2006;58:916–929.
- 65- Codjoe FS, Donkor ES. Carbapenem resistance: a review. *Medical Sciences* 2017;6(1):1.
- 66- Meletis G. Carbapenem resistance: overview of the problem and future perspectives. *Ther Adv Infect Dis* 2016;3(1):1521.
- 67- Paterson DL. Resistance in Gram-negative bacteria: Enterobacteriaceae. *Am J Med.* 2006;119(6):20-28.
- 68- Nordmann P, Poirel L. The difficult-to-control spread of carbapenemase producers among Enterobacteriaceae worldwide. *Clin Microbiol Infect* 2014;20: 821-830.
- 69- Potron A, Poirel L, Rondinaud E, Nordmann P. Intercontinental spread of OXA-48 beta-lactamase producing Enterobacteriaceae over a 11-year period, 2001 to 2011. *Euro Surveill* 2013;18(31):20549.
- 70- Glupczynski Y, Huang T-D, Bouchahrouf W, Rezende de Castro R, Bauraing C, Gérard M et al. Rapid emergence and spread of OXA-48 producing carbapenem resistant Enterobacteriaceae isolates in Belgian hospitals. *Int J Antimicrob Agents* 2011;39(2):168–172.
- 71- Boisson M, Gregoire N, Couet W, Mimoz O. Colistin in critically ill patients. *Minerva Anesthesiol* 2013;79(2):200-208.
- 72- Falagas ME, Kasiakou SK. Colistin: the revival of polymyxins for the management of multidrug-resistant gram-negative bacterial infections. *Clin Infect Dis* 2005; 40(9):1333-1341.
- 73- Akalin H. Colistin. *Ankem* 2007;21(2):26-28.
- 74- Li J, Nation RL, Milne RW, Turnidge JD, Coulthard K. Evaluation of colistin as an agent against multi-resistant gram-negative bacteria. *Int J Antimicrob Agents* 2005;25(1):11-25.
- 75- Sümer Ş, Dikici N. Colistin. *Yoğun Bakım Dergisi* 2010;9(4):182-187.
- 76- World Health Organization (WHO). Critically Important Antimicrobials for Human Medicine, 3rd edn. Geneva, Switzerland: World Health Organization (WHO), 2012.
- 77- Baron S, Hadjadj L, Rolain J-M, Olumuyiwa Olaitan A. Molecular mechanisms of polymyxin resistance: knowns and unknowns. *Int J Antimicrob Agents* 2016;48(6):583-591.
- 78- Liu YY, Wang Y, Walsh TR, Yi L-X, Zhang R, Spencer J, et al. Emergence of plasmid-mediated colistin resistance mechanism mcr-1 in animals and human beings in China: a microbiological and molecular biological study. *Lancet Infect Dis* 2016;16(2):161–8.
- 79- Li Z, Cao Y, Yi L, Liu JH, Yang Q. Emergent Polymyxin Resistance: End of an era? *Open Forum Infect Dis.* 2019;6(10):368.

- 80- Özger HS, Karaşahin Ö, Telli G, Dizbay M, Gaygısız G, Civil F. Nozokomiyal Klebsiella türleri arasında karbapenem direnç sıklığı ve fenotipik yöntemlerle direncin değerlendirilmesi. *Flora* 2012;17(3):103-110.
- 81- Gharaibeh MH, Shatnawi SQ. An overview of colistin resistance, mobilized colistin resistance genes dissemination, global responses, and the alternatives to colistin: A review. *Vet World* 2019;12(11):1735-1746.
- 82- Falagas ME, Vouloumanou EK, Samonis G, Vardakas KZ. Fosfomycin. *Clinical Microbiology Reviews* 2016;29(2):321–347.
- 83- Bassetti, M., Graziano, E., Berruti, M., & Giacobbe, D. R. The role of fosfomycin for multidrug-resistant gram-negative infections. *Current Opinion in Infectious Diseases* 2019;32(6):617–625.
- 84- Falagas ME, Athanasaki F, Voulgaris GL, Triarides NA, Vardakas KZ. Resistance to fosfomycin: mechanisms, frequency and clinical consequences. *Int J Antimicrob Agents* 2019;53(1):22-28.
- 85- Michalopoulos AS, Livaditis IG, Gougoutas V. The revival of fosfomycin. *International Journal of Infectious Diseases* 2011;15(11):732-739.
- 86- Jandel FJ, Matesanz David M, Barberán J. New perspectives for reassessing fosfomycin: applicability in current clinical practice. *Rev Esp Quimioter* 2019;32(1):1-7.
- 87- Takahata S, Ida T, Hiraishi T, Sakakibara S, Maebashi K, Terada S, et al. Molecular mechanisms of fosfomycin resistance in clinical isolates of *Escherichia coli*. *Int J Antimicrob Agents* 2010;35(4):333-337.
- 88- Benzerara Y, Gallah S, Hommeril B, Genel N, Decré D, Rottman M, et al. Emergence of plasmid-mediated fosfomycin-resistance genes among *Escherichia coli* isolates, France. *Emerg Infect Dis* 2017;23:1564–7.
- 89- Sastry S, Doi Y. Fosfomycin: Resurgence of an old companion. *Journal of Infection and Chemotherapy* 2016;22(5):273–280.
- 90- SPILF. Diagnostic et antibiothérapie des infections urinaires bactériennes communautaires de l'adulte. 2015, Available at: http://www.infectiologie.com/UserFiles/File/spilf/recos/infections-urinaires-spilf_argumentaire.pdf.
- 91- Baron EJ, Peterson LR, Finegold SM. Enterobacteriaceae. In: Baron EJ, Peterson LR, Finegold SM (eds) *Bailey & Scott's Diagnostic Microbiology*, 9 edition. Baltimore: Mosby Year Book;1994,362-387.
- 92- Shah AA, Hasan F, Ahmed S, Hameed A. Characteristics, epidemiology and clinical importance of emerging strains of gram negative bacilli producing extended spectrum beta-lactamases. *Res Microbiol* 2004;155(6):409-421.
- 93- Stürenburg E, Mack D. Extended spectrum beta-lactamases implications for the clinical microbiology laboratory, therapy and infection control. *J Infect* 2003;47(4):273-295.

- 94- EUCAST Klinik ve/veya epidemiyolojik önemi olan direnç mekanizmaları ve direnç özelliklerini saptama kılavuzu. Versiyon 2.01; 2017, 20.
- 95- Towne TG, Lewis JS 2 nd, Herrera M, Wickes B, Jorgensen JH. Detection of SHV-type extended-spectrum β -lactamase in Enterobacter isolates. *J Clin Microbiol* 2010;48(1):298-9.
- 96- Stürenburg E, Sobottka I, Noor D, Laufs R, Mack D. Evulation of a new cefepime-clavulanate ESBL Etest to detect extended-spectrum β -lactamases in a Enterobacteriaceae starin cellation. *J Antimicrob Chemother* 2004;54(1):134-8.
- 97- Dağlar D, Öngüt G. Genişlemiş Spektrumlu Beta-Laktamazlar (GSBL) ve Tanı Yöntemleri (Derleme). *İnönü Üniversitesi Sağlık Bilimleri Dergisi* 2012;1:1-9.
- 98- Demir N. Gram negatif bakterilerde genişlemiş spektrumlu beta-laktamaz (GSBL) üretimine katkıda bulunan çeşitli risk faktörlerinin araştırılması. T.C. Sağlık Bakanlığı Dr. Lütfi Kırdar Kartal Eğitim ve Araştırma Hastanesi Enfeksiyon Hastalıkları ve Klinik Mikrobiyoloji Kliniği. Uzmanlık Tezi, İstanbul: 2006.
- 99- Shahid M, Malik A, Agrawal M, Singhal S. Phenotypic detection of extended spectrum and AmpC beta lactamases by a new spot-inoculation method and modified threedimensional extract test: comparison with the conventional three-dimensional extract test. *J Antimicrob Chemother* 2004;54:684-687.
- 100- Sipahi AB. Enterobacteriaceae Suşlarında Genişlemiş Spektrumlu Beta-Laktamazların (GSBL) Saptanmasında Kullanılan Bazı Yöntemlerin Karşılaştırılması ve GSBL Üretim Sıklığının Belirlenmesi. Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Ankara: Gazi Üniversitesi; Tıpta Uzmanlık Tezi, 2006.
- 101- Akyar I, Kocagöz S, Kocagöz T, Sarıgüzel Sar N, Gültekin M, Ercis S ve ark. Beş yılda izole edilen 15434 *Escherichia coli* ve 3178 *Klebsiella* spp. suşunda genişlemiş spektrumlu beta-laktamaz üretiminin yıllara, kliniklere ve örnek türlerine dağılımı, *ANKEM Derg* 2010;24(1):34-41.
- 102- Öcal D. Gram negatif bakterilerde antibakteriyal direncin fenotipik yöntemler ile tayin ve bildirimi (Derleme) *ANKEM Derg* 2012;26(3):154-164.
- 103- <https://www.biomerieux.com.tr/urun/vitekr-2> 26.05.2020.
- 104- Murray PR, Baron EJ, Jorgensen JH, Pfaller MA, Tenover FC, Tenover FC. Manual of Clinical Microbiology; 8 th edition 2003: 191-217.
- 105- Bradford PA. Extended spectrum beta lactamases in the 21st century: characterization, epidemiology, and detection of this important resistance threat. *Clinical Microbiology Reviews* 2001;14(4):933-951.
- 106- Ocak F, Cesur S, Kınıklı S. Genişlemiş spektrumlu beta-laktamaz üreten *E. coli* izolatlarının çeşitli antibiyotiklere duyarlılıklarının belirlenmesi. *Turk J Clin Lab.* 2019;10(3):384-387.
- 107- Ergin A, Kocagöz T, Us D. Evaluation of 120 mycobacterial strains isolated from clinical specimens to the species level by polymerase chain reaction-restriction enzyme analysis. *Scand J. Of Infect Dis.* 2000;32(6):657-662.

- 108- Mathlouthi N, Al-Bayssari C, El Salabi A, Bakour S, Gwierif SB, Zorgani AA. Carbapenemases and extended-spectrum β -lactamases producing Enterobacteriaceae isolated from Tunisian and Libyan hospitals. *J Infect Dev Ctries* 2016;10(7):718-727.
- 109- Hembach N, Schmid F, Alexander J, Hiller C, Rogall ET and Schwartz T. Occurrence of the mcr-1 colistin resistance gene and other clinically relevant antibiotic resistance genes in microbial populations at different municipal wastewater treatment plants in Germany. *Front. Microbiol* 2017;8:1282.
- 110- Korten V, Ulusoy S, Zarakolu P, Mete B. Antibiotic resistance surveillance over a 4-year period (2000-2003) in Turkey: results of the MYSTIC Program. *Diagn Microbiol Infect Dis* 2007;59:453-7. Epub 2007.09.25.
- 111- Gur D, Hascelik G, Aydin N, Telli M, Gultekin M, Ogunc D, Arikan OA, Uysal S, Yaman A, Kibar F, Gulay Z, Sumerkan B, Esel D, Kayacan CB, Aktaş Z, Soyletir G, Altinkanat G, Durupinar B, Darka O, Akgun Y, Yayla B, Gedikoglu S, Sinirtas M, Berktaş M, Yaman G. Antimicrobial resistance in gram-negative hospital isolates: results of the Turkish HITIT2 Surveillance Study of 2007. *J Chemother* 2009;21:383-9.
- 112- (ECDC (European Centre for Disease Prevention and Control) European Antimicrobial Resistance Surveillance Network (EARS-Net) 97 <http://www.ecdc.europa.eu/en/activities/surveillance/EARSNet/Pages> 09/12/2015.
- 113- Duman Y, Kuzucu Ç, Çuğlan SS. Kan kültürlerinden izole edilen bakteriler ve antimikrobiyal duyarlılıkları. *Erciyes Tıp Derg.* 2011;33(3):189-196.
- 114- Eser KÖ, Uludağ HA, Ergin A, Boral B, Şener B, Hasçelik G. İnvasif enfeksiyonlara neden olan GSBL pozitif Enterobacteriaceae izolatlarında karbapenem direnci. *Mikrobiyol Bul.* 2014;48(1):59-69.
- 115- Aytar AA, Çalışkan E, Güven BG, Kaş E. 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. 2014;İstanbul,21,138.
- 116- Özçerezci Ö, Savcı Ü. Yenidoğan yoğun bakım ünitesinde preterm ve term bebeklerde genişlemiş spektrumlu beta-laktamaz üreten gram-negatif bakteri enfeksiyonlarının değerlendirilmesi. *J Pediatr Emerg Intensive Care Med* 2019;6:91-97.
- 117- Bayraktar B, Pelit S, Bulut ME, Aktaş E. Genişlemiş spektrumlu beta laktamaz üreten *Escherichia coli* ve *Klebsiella pneumoniae* kan dolaşımı enfeksiyonlarında antibiyotik direnç oranlarının yıllar içindeki değişimi. *Med Bull Sisli Etfal Hosp* 2019;53(1):70–75.
- 118- Moghadampour M, Rezaei A, Faghri J. The emergence of blaOXA-48 and blaNDM among ESBL-producing *Klebsiella pneumoniae* in clinical isolates of a tertiary hospital in Iran. *Acta Microbiol Immunol Hung* 2018;65(3):335–344.
- 119- Titelman E, Iversen A, Kahlmeter G, Giske CG. Antimicrobial susceptibility to parenteral and oral agents in a largely polyclonal collection of CTX-M-14 and CTX-M-15-producing *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae*. *APMIS* 2011;119(12):853-63.

- 120- Zykov IN, Sundsfjord A, Småbrekke L, Samuelsen O. The antimicrobial activity of mecillinam, nitrofurantoin, temocillin and fosfomycin and comparative analysis of resistance patterns in a nationwide collection of ESBL-producing *Escherichia coli* in Norway 2010–2011. *Infect Dis* 2016;48(2):99-107.
- 121- Ip M, Lai CK, Fung KSC, Wong K-T, Zhu C, Velde SV et al. 2017, Activity of temocillin and 15 other agents, including fosfomycin and colistin, against Enterobacteriaceae in Hong Kong. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 2017;36(12):2491–2494.
- 122- Ku YH, Chen CC, Lee MF, Chuang YC, Tang HJ et al. Comparison of synergism between colistin, fosfomycin and tigecycline against extended spectrum b-lactamase-producing *Klebsiella pneumoniae* isolates or with carbapenem resistance. *Journal of Microbiology, Immunol Infect* 2017;50(6):931-939.
- 123- Duployez C, Loïez C, Cattoen C, Wallet F, Vachée A. In vitro activity of temocillin against extended-spectrum beta-lactamase-producing *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae* strains isolated from urinary tract infections in France. *Med Mal Infect* 2019;49(1):47-53.
- 124- Aris P, Boroumand MA, Rahbar M, Douraghi M. The activity of fosfomycin Against extended-spectrum beta-lactamase-producing isolates of Enterobacteriaceae recovered from urinary tract infections: A Single-Center Study Over a Period of 12 Years. *Microbial Drug Resistance* 2018;24(5):607-612.
- 125 İrvem A, Küçük EV, Pala E, Çomoğlu Ş, Dede B, Karagöz G ve ark. Üriner sistem enfeksiyonlarından izole edilen *Escherichia coli* suşlarında fosfomisin trometamol duyarlılığının araştırılması. *Türk Mikrobiyol Cem Derg* 2015;45(2):88-91.
- 126- Durmaz S, Toka Özer T, Çelik H, Yula E. Toplum kökenli üriner sistem enfeksiyonlardan izole edilen *Escherichia coli* suşlarında fosfomisin trometamol ve bazı antibiyotiklerin in-vitro etkinliğinin araştırılması. *Abant Med J* 2015;4(4):351-354.
- 127- Sönmezer MÇ, Tülek N, Köksal E, Temoçin F, Ertem G, Erdiñ FŞ. Toplum kökenli üriner sistem enfeksiyonlarında etken olan genişlemiş spektrumlu beta-laktamaz üreten *Escherichia coli* izolatlarında fosfomisin trometamolün in vitro etkinliği *FLORA* 2016;21(4):153-158.
- 128- Şay Coşkun US. Fosfomycin and nitrofurantoin susceptibilities of *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae* isolates producing extended spectrum beta-lactamase causing urinary tract infections. *J Contemp Med* 2019;9(1):55-58.
- 129- Raja NS. Oral treatment options for patients with urinary tract infections caused by extended spectrum beta-lactamase (ESBL) producing Enterobacteriaceae. *Journal of Infection and Public Health* 2019;12:843–846.
- 130- Atmaca S, Yakut S, Özcan N, Özekinci T, Akpolat N, Gül K. Karbapenemlerden en az birine dirençli, GSBL pozitif ve negatif *Escherichia coli* ve *Klebsiella* spp. suşlarında fosfomisin duyarlılığı. *ANKEM Derg* 2018;32(3):87-93.
- 131- Alexandre K, Re'veillon-Istin M, Fabre R, Delbos V, Etienne M, Pestel-Caron M et al. Temocillin against Enterobacteriaceae isolates from community acquired urinary tract

infections: low rate of resistance and good accuracy of routine susceptibility testing methods. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy* 2018;73(7):1848-1853.

132- Eren Topkaya A, Aydın Kurç M, Tombak Ö, Gülen D. Kan kültürlerinde üreyen Enterobacteriaceae izolatlarında Genişlemiş spektrumlu beta-laktamaz sıklığı ve karbapenemaz varlığının araştırılması. *Namık Kemal Tıp Dergisi* 2018;6(3):88-95.

133- Archana Hegde M, Tejashree A, Shahnewaj M. Molecular detection of carbapenem resistant *Klebsiella pneumoniae* in intensive care units. *International Journal of Health Sciences & Research* 2018;8(11):88-96.

134- Assem M, Abdalla Wifi M-N, Elsherif R, Saad A, Kadry Ismail D, Ahmed Hasanin A et al. Emergence of gram-negative bacilli with concomitant blaNDM-1- and blaOXA-48-like genes in Egypt. *American Journal of Internal Medicine*. 2017;5(1):1-6.

135- Liu X, Thungrat K, Boothe DM. Occurrence of OXA-48 Carbapenemase and other β -lactamase genes in ESBL-producing multidrug resistant *Escherichia coli* from dogs and cats in the United States, 2009–2013. *Front Microbiol* 2016;7:1057.

136- Liapis E, Pantel A, Robert J, Nicolas- Chanoine MH, Cavalie L, Van der Mee-Marquet et al. Molecular epidemiology of OXA-48- producing *Klebsiella pneumoniae* in France. *Clin Microbiol Infect* 2014;20:1121–1123.

137- Schwarz S, Johnson AP. Transferable resistance to colistin: a new but old threat. *J Antimicrobial Chemotherapy* 2016;71(8):2066–70.

138- Kurekci C, Aydın M, Nalbantoğlu ÖÜ, Gündoğdu A. Mobil kolistin direncinin Türkiye rezistom ekosistemindeki ilk sinyalleri: besin kaynaklı *E. coli* suşlarında mcr-1 geninin tespiti 13. *Antimikrobik Kemoterapi Günleri*, 2018; İstanbul, TÜRKİYE, 88.

139- Caspar Y, Maillet M, Pavese P, Francony G, Brion JP, Mallaret M-R et al. Mcr-1 colistin resistance in ESBL-producing *Klebsiella pneumoniae*, France. *Emerg Infect Dis* 2017;23(5):874-876.

140- Robin F, Beyrouthy R, Colot J, Saint-Sardos P, Berger-Carbonne A, Dalmaso G et al. Mcr-1 in ESBL-producing *Escherichia coli* responsible for human infections in New Caledonia. *J Antimicrob Chemother* 2017; 72(3):946-947.

141- Gröndahl-Yli-Hannuksela K, Lönnqvist E, Kallonen T, Lindholm L, Jalava J, Rantakokko-Jalava K et al. The first human report of mobile colistin resistance gene, mcr-1, in Finland. *APMIS* 2018; 126(5):413–417.