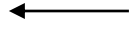


Adınızı soyadınızı giriniz

Tez kabul edildikten sonra yapılan **sabit ciltte sırt yazısı** bu şablona göre yazılacak. Yazılar tek satır olacak
Cilt sırtı yazıların yönü yukarıdan aşağıya
(sol yandaki gibi) olacak .



Tez, Yüksek Lisans'sa, YÜKSEK LİSANS TEZİ;
Doktora ise DOKTORA TEZİ ifadesi kalacak



Tez Sınavının yapılacağı yılı yazınız

**T.C.
İSTANBUL ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

(DOKTORA TEZİ)

**KLEBSIELLA PNEUMONIAE KÖKENLERİNDE
KOLİSTİN DİRENCİNİN FENOTİPİK VE MOLEKÜLER
YÖNTEMLERLE ARASTIRILMASI.**

BARIŞ ATA BORSA

**DANIŞMAN
PROF. DR. ÖMER KÜÇÜKBASMACI**

**TIBBİ MİKROBİYOLOJİ ANABİLİM DALI
TIBBİ MİKROBİYOLOJİ PROGRAMI**

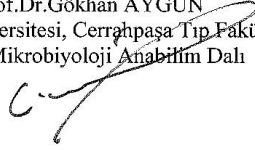
İSTANBUL-2018

TEZ ONAYI**DOKTORA TEZİ ONAYI**

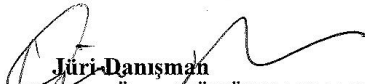
İstanbul Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Cerrahpaşa Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Mikrobiyoloji Programında Doktora öğrencisi Barış Ata BORSA tarafından Prof.Dr.Ömer KÜÇÜKBASMACI'nın danışmanlığında hazırlanan “*Klebsiella pneumoniae* Kökenlerinde Kolistin Direncinin Fenotipik ve Moleküler Yöntemler ile Araştırılması” başlıklı tez aşağıdaki jüri üyeleri tarafından 03/01/2018 tarihinde yapılan Tez Savunma Sınavında başarılı bulunmuş ve Doktora Tezi olarak kabul edilmiştir.

Jüri Başkanı

Prof.Dr.Gökhan AYGÜN
İstanbul Üniversitesi, Cerrahpaşa Tıp Fakültesi,
Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı

**Jüri-Danışman**

Prof.Dr. Ömer KÜÇÜKBASMACI
İstanbul Üniversitesi, Cerrahpaşa Tıp Fakültesi
Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı

**Jüri**

Prof.Dr.Kenan MİDİLLİ
İstanbul Üniversitesi, Cerrahpaşa Tıp Fakültesi
Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı

**Jüri**

Prof. Dr. Müzeyyen MAMAL TORUN
Bahçeşehir Üniversitesi Tıp Fak.
Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı

**Jüri**

Prof.Dr.Füsün CAN
Koç Üniversitesi, Tıp Fakültesi,
Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı



BEYAN

Bu tez çalışmasının kendi çalışmam olduğunu, tezin planlanmasından yazımına kadar bütün safhalarda etik dışı davranışımın olmadığını, bu tezdeki bütün bilgileri akademik ve etik kurallar içinde elde ettiğimi, bu tez çalışmayla elde edilmeyen bütün bilgi ve yorumlara kaynak gösterdiğimi ve bu kaynakları da kaynaklar listesine aldığımı, yine bu tezin çalışılması ve yazımı sırasında patent ve telif haklarını ihlal edici bir davranışımın olmadığı beyan ederim.

Barış Ata Borsa

ITHAF

Sevgili eşim Merve'ye ve oğullarım Sarper Emre ile Yıldırım Göksel'e ithaf ediyorum...

TEŞEKKÜR

Lisans öğrenimi yıllarımdan bu yana daima örnek aldığım, tez çalışmam dahil olmak üzere bilgi ve tecrübeleriyle her zaman bana destek olan değerli hocam İstanbul Üniversitesi Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı Başkanı Prof. Dr. Gökhan Aygün'e teşekkürlerimi sunarım.

Doktora eğitimim ve tez çalışmalarım süresince engin bilgi ve deneyimlerinden faydalandığım tez danışmanım değerli hocam Prof. Dr. Ömer Küçükbasmacı'ya teşekkürlerimi sunarım.

Tez izleme komitemde yer alan ve çalışmalarım süresince yardımlarını esirgemeyen değerli hocam Prof. Dr. Müzeyyen Mamal Torun'a, doktora eğitimim yanı sıra tezimin değerlendirilmesinde de büyük emekleri olan değerli hocalarım Prof. Dr. Kenan Midilli ve Prof. Dr. Nevriye Gönüllü'ye, vakit ayırarak tez jürimde yer alma nezaketini gösteren ve tezimi değerlendiren değerli hocalarım Prof. Dr. Füsün Can ve Doç. Dr. Çağatay Acuner'e, hem lisans eğitimim hem de tıpta uzmanlık ve doktora eğitimlerim süresince desteklerini hiçbir zaman esirgemeyen değerli hocalarım, Prof. Dr. Hırsı Bahar, Doç. Dr. Erdal Polat ve Doç. Dr. Veli Cengiz Özalp'e teşekkürü borç bilirim.

Tez çalışmalarım sırasında yardımlarını esirgemeyen değerli dostlarım Yard. Doç. Dr. Mehmet Demirci, Yard. Doç. Dr. İskender Karaltı, Yard. Doç. Dr. Asiye Karakullukçu, Dr. Hatice Yaşar Arsu ve MSc. Zeynep Güngördü Dalar ve Moleküler Biyolog Göktuğ Karabıyık'a, ayrıca tezimin istatistiksel çalışmaları aşamasında büyük emeği bulunan hocam Cengiz Beşoğlu'na teşekkür ederim.

Tez çalışmamı maddi olarak destekleyen İstanbul Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi'ne teşekkürlerimi sunarım.

Son olarak, bu zor dönemde sevgi ve desteğini her zaman hissettiğim sevgili eşim Merve Özkan Borsa'ya sonsuz teşekkür ederim...

Bu çalışma, İstanbul Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından desteklenmiştir. Proje No: 57713

İÇİNDEKİLER

TEZ ONAYI	ii
BEYAN.....	iii
İTHAF.....	iv
TEŞEKKÜR.....	v
İÇİNDEKİLER	vi
TABLolar LİSTESİ.....	viii
ŞEKİLLER LİSTESİ	x
SEMBOLLER / KISALTMALAR LİSTESİ	xi
ÖZET	xii
ABSTRACT.....	xiv
1. GİRİŞ VE AMAÇ.....	1
2. GENEL BİLGİLER	3
2.1. <i>Klebsiella pneumoniae</i>	3
2.2. Tedavi ve Direnç Sorunu	6
2.2.1. Beta-laktam antibiyotikler ve direnç sorunu	7
Ambler Sınıflandırması.....	9
2.2.2. Kolistin ve direnç sorunu	14
3. GEREÇ VE YÖNTEM.....	22
3.1. Bakteri kökenlerinin toplanması	22
3.2. Antibiyotik duyarlılık testleri.....	22
3.2.1. Sıvı mikrodilüsyon testi	22
3.2.2. VITEK 2 otomatize sistemi.....	23
3.2.3. Gradient strip testi	23
3.2.4. Disk difüzyon testi	23
3.3. Direncin moleküler temelini araştırılması	24
3.3.1. Bakteriyel DNA ve RNA izolasyonu.....	24
3.3.2. DNA ve RNA miktar tayini ve saflık derecesinin belirlenmesi.....	27
3.3.3. RNA örneklerinden komplementer DNA (cDNA) sentezi	27
3.3.4. <i>mgrB</i> geninin PCR amplifikasyonu	29
3.3.5. <i>mgrB</i> gen bölgesinin DNA dizileme çalışması	31

3.3.6. <i>mcr-1</i> ve <i>mcr-2</i> real-time PCR çalışması.....	32
3.3.7. <i>pmrA</i> , <i>pmrB</i> , <i>pmrC</i> , <i>pmrD</i> , <i>pmrE</i> , <i>pmrK</i> , <i>phoQ</i> ve <i>phoP</i> genlerinin ekspresyon düzeylerinin saptanması.....	34
4. BULGULAR.....	39
4.1. Fenotipik antibiyotik duyarlılık testleri	39
4.2. Direncin moleküler temelini araştırılması	42
5. TARTIŞMA	54
KAYNAKLAR	64
HAM VERİLER	82
FORMLAR	120
ETİK KURUL KARARI	121
PATENT HAKKI İZNİ	122
TELİF HAKKI İZNİ.....	123
İNTİHAL RAPORU İLK SAYFASI.....	124
ÖZGEÇMİŞ	125

TABLOLAR LISTESİ

Tablo 1. *K. pneumoniae*, *K. oxytoca*, *Enterobacter* ve *Serratia* cinsi bakterilerin bazı biyokimyasal özellikleri.

Tablo 2. *mgrB* gen bölgesi amplifikasyonu için kullanılan primerler.

Tablo 3. *mgrB* için PCR reaksiyon karışımı.

Tablo 4. *mgrB* için PCR reaksiyon şartları.

Tablo 5. *mcr-1* ve *mcr-2* real-time PCR çalışmalarında kullanılan primer dizileri.

Tablo 6. *mcr-1* kantitatif real time PCR çalışmalarında bir reaksiyon için hazırlanması gereken karışım miktarları.

Tablo 7. *mcr-2* kantitatif real time PCR çalışmalarında bir reaksiyon için hazırlanması gereken karışım miktarları.

Tablo 8. *mcr-1* ve *mcr-2* kantitatif real time PCR çalışma prosedürü.

Tablo 9. *pmrA*, *pmrB*, *pmrC*, *pmrD*, *pmrE*, *pmrK*, *phoQ* ve *phoP* genlerinin ekspresyon analizleri için kullanılan oligonukleotid primerler.

Tablo 10. *pmrA*, *pmrB*, *pmrC*, *pmrD*, *pmrE*, *pmrK*, *phoQ*, *phoP* ve *rpsL* genleri için kantitatif real time PCR çalışmalarında bir reaksiyon için hazırlanması gereken karışım miktarları.

Tablo 11. *pmrA*, *pmrB*, *pmrC*, *pmrD*, *pmrE*, *pmrK*, *phoQ*, *phoP* ve *rpsL* genleri için PCR çalışma prosedürü.

Tablo 12. Kolistine dirençli kökenlerin fenotipik duyarlılık test sonuçları ve yorumları.

Tablo 13. Klinik örneklerden izole edilen kolistine duyarlı kontrol kökenlerinin fenotipik duyarlılık test sonuçları ve yorumları.

Tablo 14. Sıvı mikrodilüsyon testi ile kıyaslandığında diğer fenotipik testlerin büyük hata (BH) ve çok büyük hata (ÇBH) oranları.

Tablo 15. *mgrB* gen mutasyonu analizi sonuçları.

Tablo 16. *mcr-1* ve *mcr-2* gen analizi sonuçları.

Tablo 17. Kökenlerin *pmrA* gen ekspresyon analizi sonuçları.

Tablo 18. Kökenlerin *pmrB* gen ekspresyon analizi sonuçları.

Tablo 19. Kökenlerin *pmrC* gen ekspresyon analizi sonuçları.

Tablo 20. Kökenlerin *pmrD* gen ekspresyon analizi sonuçları.

Tablo 21. Kökenlerin *pmrE* gen ekspresyon analizi sonuçları.

Tablo 22. Kökenlerin *pmrK* gen ekspresyon analizi sonuçları.

Tablo 23. Kökenlerin *phoP* gen ekspresyon analizi sonuçları.

Tablo 24. Kökenlerin *phoQ* gen ekspresyon analizi sonuçları.

Tablo 25. Kolistine duyarlı (Du) ve dirençli (Di) kökenlerin ekspresyon düzeyleri araştırılan genler için aykırı değer analizi sonrası ortalama $2^{-\Delta\Delta C_q}$ değerleri.

Tablo 26. 2016 yılı sonu itibariyle *mcr-1* pozitif *Enterobacteriaceae* türlerinin insan örneklerinden izole edildiği çalışmalar.

ŞEKİLLER LİSTESİ

Şekil 1. Test kökenlerinden elde edilen *mgrB* gen bölgesi sekansının “PhoP/PhoQ regulator *mgrB*” gen bölgesi ile (Accession: WP_080853197) uyumu.

Şekil 2. *mcr-1* negatif kökenlerden bazılarının jel elektroforezi görüntüleri.

Şekil 3. Kolistine duyarlı ve dirençli kökenlerin *pmrA*, *pmrB*, *pmrE*, *phoP* ve *phoQ* genleri için tespit edilen ortalama $2^{-\Delta\Delta C_q}$ değerleri.

Şekil 4. Kolistine duyarlı ve dirençli kökenlerin *pmrC*, *pmrD* ve *pmrK* genleri için tespit edilen ortalama $2^{-\Delta\Delta C_q}$ değerleri.



SEMBOLLER / KISALTMALAR LISTESİ

1. ATCC : American type culture collection
2. BH : Büyük hata
3. BOS : Beyin omurilik sıvısı
4. cDNA : Complementary deoksiribonükleik asit
5. CFU : Colony forming unit
6. Cp : Crossing point
7. Ct : Cycle treshold
8. ÇBH : Çok büyük hata
9. DDH₂O : Double distilled H₂O
10. Di : Dirençli
11. DNA : Deoksiribonükleik asit
12. Du : Duyarlı
13. EARS-Net : European Antimicrobial Resistance Surveillance Network
14. EDTA : Etilendiamin tetraasetik asit
15. EUCAST : European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing
16. GSBL : Genişlemiş spektrumlu beta-laktamaz
17. KOAH : Kronik obstruktif akciğer hastalığı
18. L-Ara4N : 4-amino-4-deoxy-L-arabinose
19. MİK : Minimal inhibitör konsantrasyon
20. MRSA : Metisilin-dirençli *Staphylococcus aureus*
21. NCCLS : National Committee for Clinical Laboratory Standarts
22. NCBI : National Center for Biotechnology Information
23. PBP : Penisilin bağlayıcı protein
24. PCR : Polymerase chain reaction
25. PEtN : Fosfoetanolamin
26. RNA : Ribonükleik asit
27. UAMDSS : Ulusal Antimikrobiyal Direnç Surveyans Sistemi
28. UV : Ultraviyole
29. VRE : Vankomisin dirençli enterokok

ÖZET

Borsa, B.A. (2017). *Klebsiella pneumoniae* kökenlerinde kolistin direncinin fenotipik ve moleküler yöntemlerle araştırılması. İstanbul Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Cerrahpaşa Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji ABD. Doktora Tezi. İstanbul.

Antimikrobiyal direnç, son yılların en önemli sağlık sorunlarından birisi olmakla beraber önemi her geçen gün artmaktadır. Antibiyotiklere dirençli bakterilerin hastane ortamlarında kolonize olmak suretiyle uzun süreler yaşamlarını sürdürebildikleri ve özellikle yatan hastalarda hayatı tehdit eden ciddi enfeksiyonlar oluşturabildikleri bilinmektedir. Artan direnç oranları, özellikle de karbapenem direncinin küresel çapta yayılması, nedeniyle *K. pneumoniae* de dahil olmak üzere bazı gram-negatif bakterilerin neden olduğu enfeksiyonlarda son tedavi seçeneklerinden birisi olarak kolistin kullanılmaktadır. Ancak görülen o ki, artan kolistin kullanımı da tıpkı diğer antibiyotiklerde olduğu gibi direnç gelişimini beraberinde getirmektedir. Günümüz itibarıyla, *K. pneumoniae* ve *A. baumannii* başta olmak üzere en önemli hastane enfeksiyonu etkenlerinde kolistin direncinin artmasının ise ciddi mortalite artışına neden olduğu belirlenmiştir. Uzun süredir sadece kromozomal mutasyonlar neticesinde gerçekleştiği düşünülen kolistin direncine neden olan ve plazmidler tarafından kodlanan *mcr-1* geninin varlığının 2016 yılı itibarıyla duyurulmuş olması ise, plazmid kökenli direncin daha hızlı yayılabilmesi nedeniyle, soruna farklı bir boyut kazandırmıştır. Bir antibiyotiğe karşı gelişen direncin önlenmesinde, direncin doğru tanımlanması ve moleküler mekanizmalarının bilinmesi kritik önem taşımaktadır. Bu tezin amacı da, kolistin direncinin belirlenmesinde kullanılabilecek antimikrobiyal duyarlılık testlerinin standart yöntem ile karşılaştırılması yanı sıra, dirence neden olan moleküler mekanizmaların aydınlatılmasıdır. Çalışma neticesinde, denenen farklı antimikrobiyal duyarlılık testlerinin performansının standart yöntem olan sıvı dilüsyon yönteminden oldukça uzak olduğu, bununla beraber kolistin hedefi olan lipopolisakkarit tabakanın modifikasyonundan sorumlu olabileceği düşünülen *pmrA*, *pmrB*, *pmrD*, *pmrK*, *phoP* ve *phoQ* genlerinin ekspresyon düzeylerindeki artışın dirençten sorumlu olabileceği saptanmıştır. Kolistin direnci ile sıklıkla ilişkili olduğu düşünülen ve mutasyon varlığı

araştırılan *mgrB* geni açısından tüm kökenler doğal tip bulunmuş olup, plazmid aracılı kolistin direncini gösteren *mcr-1* ve *mcr-2* genlerinin varlığına rastlanmamıştır.

Anahtar Kelimeler: *Klebsiella pneumoniae*, kolistin, antimikrobiyal direnç, direnç mekanizmaları, *mcr-1*.

Bu alışma, İstanbul Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından desteklenmiştir. Proje No: 57713



ABSTRACT

Borsa, B.A. (2017). Investigation of colistin resistance among *Klebsiella pneumoniae* strains by using phenotypic and molecular methods. Istanbul University, Institute of Health Science, Cerrahpaşa Medical Faculty, Department of Medical Microbiology. Doctorate Thesis. İstanbul.

Antimicrobial resistance is one of the most significant health care issues of recent years with an increasing importance. Antibiotic resistant bacteria have ability to cause life-threatening infections particularly among hospitalized patients by colonizing the hospital environment. Because of the increasing level of resistance, mainly global distribution of carbapenemases, colistin is commonly used as a last resort drug to treat infections caused by gram-negative bacteria including *K. pneumoniae*. However, increased usage of colistin also cause an emerging resistance as we have experienced in other antibiotics before. Recently, hospital-acquired infections caused by colistin resistant bacteria such as *K. pneumoniae* and *A. baumannii* are also found being responsible for the increased mortality rates. It was believed that only chromosomal mutations are responsible for colistin resistance until the first appearance of a plasmid-borne resistance gene, *mcr-1*, in China by the year 2016 which makes that issue is more problematic mainly because of the plasmid-borne resistance usually disseminates rapidly. The accurate assessment of antimicrobial susceptibility tests and to understand molecular mechanisms of the resistance are essential for the prevention of resistance. The aim of this study is to compare different susceptibility testing methods with the standart method, broth dilution, and also clarify the molecular mechanism of colistin resistance. As a result of the study, none of the tested methods were found compatible with the standart method. Moreover, increased expression levels of the *pmrA*, *pmrB*, *pmrD*, *pmrK*, *phoP* ve *phoQ* genes were observed. All colistin resistant strains were found wild type for the *mgrB* gene which is thought may be responsible for colistin resistance. Also, no *mcr-1* or *mcr-2* genes which are responsible for plasmid mediated colistin resistance have been detected in any of the strains.

Key Words: *Klebsiella pneumoniae*, colistin, antimicrobial resistance, resistance mechanisms, mcr-1.

The present work was supported by the Research Fund of Istanbul University. Project No. 57713



1. GİRİŞ VE AMAÇ

Bu tez, yazıldığı dönemde tüm dünyada sağlık sisteminin en önemli sorunlarından birisi olan çoklu ilaca dirençli bakterilerin neden olduğu enfeksiyonların tedavisinde çoğu zaman son seçenek olarak kullanılmakta olan kolistin antibiyotiğine karşı gelişmekte olan direncin tespit yöntemleri ve moleküler mekanizmalarının aydınlatılması amacıyla yapılmıştır. Antibiyotiklerin ilk kullanıma girdiği dönemden bu yana, bakterilerin bu antibiyotiklere karşı direnç geliştirebileceği tahmin edilmesine rağmen, hayati önem taşıyan bu ilaçların amacı dışında kullanımı süregelmiştir. Antibiyotiklerin ilk kullanılmaya başlandığı 1940'lı yılların sonlarından bu yana gelinen noktada, evrimin bir gereği olarak, artık antibiyotiklere direnç kazanmış olan bakterilerin neden olduğu enfeksiyon hastalıklarını tedavi etmek amacıyla kullanılabilir ilaç seçenekleri oldukça azalmıştır. Buna ek olarak, özellikle 1980'li yıllardan bu yana hızla büyüyen antibiyotik sektörü ve keşfedilen yeni antibiyotiklerin sayısında da ciddi bir azalma olduğu göze batmaktadır. Dünya Sağlık Örgütü'nün 2014 yılında yayınlamış olduğu tahmini veriler, önlem alınmadığı takdirde 2050 yılında sadece antibiyotiklere dirençli bakterilerin neden olduğu enfeksiyonlara atfedilecek 10.000.000 ölüm vakası görüleceğini göstermektedir. Bu veriler de göstermektedir ki, antibiyotik direncine karşı global seviyede önlemler alınması gerekliliği kaçınılmazdır. Alınabilecek önlemlerin başında ise antibiyotiklerin gereksiz kullanımının önlenmesi yanı sıra bakterilerin antibiyotiklere nasıl direnç kazandıklarının anlaşılması ve direncin yayılımının önüne geçilmesi gelmektedir. Bakteriler antibiyotiklere çok farklı mekanizmalar kullanarak direnç kazanabilmekle beraber, dirençli kökenler incelendiğinde, belirlenen antibiyotik için bu mekanizmalardan biri ve/veya birkaçına sahip oldukları tespit edilebilmektedir. Özellikle, insanda hastalığa neden olabilen en önemli patojenlerden olan *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae* ve *Pseudomonas aeruginosa* gibi bakteriler birden çok direnç mekanizmasını aynı anda barındırarak, farklı gruplardan antibiyotiklere direnç geliştirebilmektedirler. Son yıllarda, ülkemiz de başta olmak üzere birçok ülkede çoklu antibiyotik direncine sahip *K. pneumoniae* kökenleri ciddi sorun oluşturmaktadır. *K. pneumoniae* kökenleri için genişlemiş spektrumlu beta-laktamaz üretimi ile kendini gösteren direnç sorunu, karbapenem direnci ve son olarak kolistin direncinin yayılmaya başlaması ile korkutucu boyutlara ulaşmıştır. Tıp dünyası, karbapenem dirençli *K.*

pneumoniae ile mücadeleye başladıktan sadece birkaç yıl sonra, bu konuda en önemli silahlarından birisi olan kolistini de direnç sorunu nedeniyle kaybetme tehlikesiyle karşı karşıya kalmıştır. Ayrıca, son dönemde ortaya çıkan ve özellikle bazı ülkelerde hızla artmaya başlayan kolistin direncine neden olan mekanizmalar da, araştırmalar neticesinde ortaya çıkan bazı veriler olsa bile, henüz net olarak aydınlatılabilmiş değildir. Nitekim, başlangıçta sadece kromozomal olarak geliştiği düşünülen dirence neden olduğu saptanan *mcr-1* genini taşıyan bir plazmidin son dönemde Çin’de ortaya çıkması büyük yankı uyandırmıştır. Buradan da anlaşılabileceği gibi, söz konusu direnç mekanizmalarının ortaya çıkarılması gerek direncin yayılım hızının tahmini, gerekse de alınabilecek önlemlerin belirlenmesi açısından büyük önem taşımaktadır. Nitekim bu tez de, ülkemizin en büyük hastanelerinden olan İstanbul Üniversitesi Cerrahpaşa Tıp Fakültesi’nde yatan hastalardan elde edilmiş kolistin dirençli kökenler üzerinde yapılacak çalışmalar neticesinde, dirençli bakterilerin en doğru şekilde tespit edilebileceği yöntemleri belirlemeyi ve direncin moleküler temelini aydınlatmayı amaçlamaktadır.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. *Klebsiella pneumoniae*

Klebsiella cinsi adını 19. Yüzyılın sonlarında Alman mikrobiyolog Edwin Klebs'ten almıştır. Bakteri ilk olarak Carl Friedlander tarafından tanımlanması nedeniyle uzun yıllar Friedlander basili olarak da adlandırılmıştır. *Klebsiella* cinsi; *K. pneumoniae*, *K. oxytoca*, *K. granulomatis*, *K. variicola*, *K. singaporensis*, and *K. alba*. *K. pneumoniae* olmak üzere altı türü barındırmaktadır.

Mikrobiyoloji laboratuvarında, katı besiyerlerinde mukoid yapıda geniş koloniler görüldüğünde genellikle *Klebsiella* cinsi bir bakterinin üremiş olduğu düşünülmektedir. Bu kökenler, MacConkey agar'da tipik olarak geniş ve mukoid, aynı zamanda laktoz fermentasyonunu gösteren şekilde pembe-mor renkte koloniler oluştururlar. Birçok *Klebsiella* türü hareketsiz olmakla beraber, üreyi yavaş hidroliz ederek Christensen's üre agarda açık pembe renk oluşumuna neden olurlar. Triptofandan indol oluşturma özelliği iki önemli tür olan *K. pneumoniae* ve *K. oxytoca*'nın ayırımında önemli bir özelliktir. *K. pneumoniae*, *K. oxytoca* ve bunlarla benzer özelliklere sahip *Enterobacter* ve *Serratia* cinsi bakterileri ayırmakta kullanılabilecek bazı biyokimyasal özellikler Tablo 1'te gösterilmektedir (1).

Tablo 1. *K. pneumoniae*, *K. oxytoca*, *Enterobacter* ve *Serratia* cinsi bakterilerin bazı biyokimyasal özellikleri.

Biyokimyasal Test	Klebsiella		Enterobacter		Serratia	
	<i>K. pneumoniae</i>	<i>K. oxytoca</i>	<i>E. aerogenes</i>	<i>E. cloaceae</i>	<i>S. marcescens</i>	<i>S. liquefaciens</i>
İndol	N	P	N	N	N	N
Hareket	N	N	P	P	P	P
Lizin	P	P	P	N	P	P
Arjinin	N	N	N	P	N	N

Ornitin	N	N	P	P	P	P
Dnaz	N	N	N	N	P	V (85)
Jelatinaz	N	N	N	N	P	P
Laktoz	P	P	P	P	N	N
Sükroz	P	P	P	P	P	P
Sorbitol	P	P	P	P	P	P
Adonitol	P	P	P	V (25)	V (40)	N
Arabinoz	P	P	P	P	N	P

Bu bölümde bu türler arasında insanda hastalığa en sık neden olan ve son yıllarda özellikle antibiyotik direnci ile ön plana çıkan *K. pneumoniae* üzerinde durulacaktır;

K. pneumoniae, klinik örneklerden sıklıkla izole edilen bir bakteri olmakla beraber, özellikle pnömoninin önemli bir etkenidir. Normal kişilerin nazofarinkslerinde kolonize olabilmekle beraber (%1-6), yatan hastalarda kolonizasyon oranları %20'lere kadar çıkabilmektedir. Bu kolonizasyon, hastanede yatan ve özellikle alkolizm, diabetes mellitus ve KOAH gibi altta yatan hastalıkları olan kişiler için solunum yolu enfeksiyonu için kaynak teşkil edebilmektedir (1). Benzer şekilde, yatan hastaların değişen oranlarda görülebilen rektal kolonizasyonu ve hastane personelinin elleri de hastane enfeksiyonları için ciddi bir kaynak oluşturmaktadır. Bu bakterinin, özellikle de çoklu ilaca dirençli kökenlerin, neden olduğu hastane enfeksiyonları korkutucu boyutlara ulaşmıştır (2).

Bakterinin neden olduğu pnömoni; mukoid ve jelimsi bir balgam oluşumu ile sonuçlanan geniş çapta nekroz ve hemorajiye neden olma ve eğilimindedir. Ağır olgularda akciğer apseleri, kronik kaviter hastalık, hemoraji ve hemoptizi de görülebilmektedir. Hastaların yaklaşık %80'inde görülen plöretik ağrının varlığı, plöritin sık olduğunu göstermektedir. *K. pneumoniae* aynı zamanda sepsisemi, üriner sistem enfeksiyonları, özellikle bebeklerde menenjit gibi ekstrapulmoner enfeksiyonlara da neden olabilmektedir (1).

Bakterinin neden olduğu enfeksiyonlarda virölans faktörlerinin ciddi katkısı bulunmaktadır. *Klebsiella* türlerinin genellikle asidik polisakkaritlerden oluşan belirgin bir kapsülü vardır. Kapsüller, yapısında 4-6 şeker ve sıklıkla üronik asit bulunan tekrarlayan alt ünitelerden oluşmuştur ve 77 serolojik tipi vardır. Kapsüler form, bakterinin yüzeyini kalın bir tabaka halinde kaplamakla beraber, bakteriyi bir yandan fagositozdan korurken diğer tarafından bakterinin bakterisidal serum faktörleri tarafından öldürülmesini engellemektedir. Kapsül polisakkaridlerinin antifagositik aktivitelerinin yanı sıra in-vitro olarak makrofajların fonksiyonel kapasitelerini ve farklılaşmalarını engelledikleri de rapor edilmiştir. Farelerde deneysel olarak oluşturulan deri lezyonlarında *Klebsiella* K1, K2, K3 serotiplerinin diğer kapsül tiplerine göre daha fazla virülan oldukları tespit edilmiş olmakla beraber, dünyada insan klinik örneklerinden en sık izole edilen serotipin ise K2 olduğu bildirilmiştir (2).

Enfeksiyon sürecindeki ilk kritik basamak, mikroorganizmanın konak mukoza yüzeyine tutunması ile sağlanmaktadır. *K. pneumoniae* dahil olmak üzere *Enterobacteriaceae* kökenlerinde tutunma, bakterinin yüzeyindeki nonflageller filamentoz oluşumlar olan değişik türdeki pililer (fimbrialar) yardımıyla gerçekleşmektedir. Bunlardan Tip 1 fimbria, primer olarak alt üriner sistem enfeksiyonlarının patogenezi ile ilgili olsa da aynı zamanda piyelonefrit sırasında da proksimal tubulus hücrelerine bağlandıkları gösterilmiştir. Tip 1 fimbria aynı zamanda idrarda veya tükrükte bulunan Tamm-Horsfall proteini gibi çözünür mannozil içeren glikoproteinlere bağlanma yeteneğine de sahiptir. Bu bulgular, Tip 1 fimbrianın bakterinin ürogenital ve solunum sistemine kolonizasyonunda rol oynadığını ortaya koymaktadır. Bir diğer tutunma elemanı olan Tip 3 fimbrianın da endotelial hücrelere, solunum sisteminin epiteline ve üroepitelial hücrelere tutunmayı sağladığı, böbreklerde ise tübüler bazal membrana, Bowman kapsülüne ve renal damarlara tutunmaya aracılık ettiği saptanmıştır (2).

Birçok bakteri ihtiyacı olan demiri siderofor adı verilen konak proteinlerine bağlı demiri alabilen yüksek duyarlıklı, düşük molekül ağırlıklı şelatlar ile sağlar. Demir, elektron transportunda redoks katalizörü olarak görev yapan, bakterilerin üremesi için gerekli temel bir faktördür. *Enterobacteriaceae* türleri farklı iki kimyasal gruba ait sideroforlar sentezlerler. Bunlardan biri fenolat-tip, diğeri ise hidroksimat-tip sideroforlardır. Bunlardan fenolat-tip sideroforların en çok bilineni enterobaktindir. Bu

siderofor, bakterinin temel demir alım sistemini oluşturmakta olup, klinik örneklerden elde edilen birçok *E. coli* ve *Salmonella* kökenlerinde saptanmıştır. Hidroksimat-tip sideroforlar arasında ise aerobaktin en önemlileri olarak göze çarpmaktadır. Aerobaktinin gerek stabilitesi, gerekse de daha iyi eriyebilirliği ile enterobaktinden daha etkili olduğu gösterilmiştir. Ayrıca, enterobaktin demir eldesinden sonra bir esteraz ile hidrolize olurken, aerobaktinin her demir transportundan sonra tekrar kullanılabilir olması da bir diğer avantajıdır. Enterobaktin ve aerobaktin yapımı *Klebsiella* türlerinde de gösterilmiştir (2).

2.2. Tedavi ve Direnç Sorunu

K. pneumoniae söz konusu olduğunda, özellikle çoklu ilaca dirençli kökenlerin neden olduğu epidemik hastane enfeksiyonlarından korkulmaktadır. 1970’li yıllarda sorun aminoglikozid dirençli *Klebsiella* kökenleri iken, 1982’den itibaren geniş spektrumlu sefalosporinlere karşı da direnç neden olan genişlemiş spektrumlu beta-laktamaz (GSBL) üreten kökenler ortaya çıkmıştır. GSBL’ler genellikle plazmid kaynaklı olmakla beraber, bu plazmidlerin kolay geçiş gösterebiliyor olması direncin hızlı yayılımı açısından önem arz etmektedir (2). Son yıllarda ise, *Enterobacteriaceae* üyelerinde, özellikle de *K. pneumoniae* kökenlerinde, hızla yayılmakta olan karbapenem direnci günümüzün en büyük sağlık sorunlarından birisi haline gelmiştir. Karbapenem dirençli kökenlerin çoğunlukla birçok antibiyotiğe de dirençli bulunuyor olması, tedavide ciddi sorunları da beraberinde getirmiştir. Gelineen noktada, bu kökenlerin neden olduğu enfeksiyonların tedavisinde sıklıkla kullanılan yaklaşımlardan birisi de eski antibiyotiklerin yeniden kullanılması olmuştur. Uzun süredir çeşitli nedenlerle yaygın olarak kullanılmayan antibiyotiklerin, direncin görece az olması nedeniyle, yeniden kullanılması fikri kapsamında en önemli yeri edinmiş olan antibiyotik ise kolistin olmuştur. Kolistin, bir süredir başta karbapenem dirençli *K. pneumoniae* olmak üzere, çoklu ilaca dirençli gram-negatif bakterilerin neden olduğu enfeksiyonların tedavisinde başarı ile kullanılmaktadır. Ancak artmakta olan kolistin direnci, özellikle de 2016 yılında direnç gelişimine neden olan bir plazmidin Çin’de ortaya çıkışından sonra, yakın zamanda bu seçeneği de tüketme potansiyeli taşımaktadır.

Bu bölümde, *K. pneumoniae*’nin neden olduğu enfeksiyonlarda sık kullanılan antibiyotikler olan sefalosporinler ve karbapenemlere karşı gelişen direnç kısaca

özetlenecek olup; sonrasında ise çalışmaya konu olan kolistin direncinin tespiti ve moleküler mekanizmaları üzerinde durulacaktır.

2.2.1. Beta-laktam antibiyotikler ve direnç sorunu

Beta-laktam antibiyotikler, geniş etki spektrumları ve güvenli olmaları nedeniyle de dünyada yaygın olarak kullanılmakta ve antibiyotik kullanımının yaklaşık %60'ını oluşturmaktadır (3). Kimyasal yapılarındaki beta-laktam halkası nedeniyle bu şekilde adlandırılmış olan bu grup, etkilerini hücre duvar sentezinde görevli olan, penisilin bağlayan proteinler de denen, transpeptidaz ve karboksipeptidazları inhibe ederek gösterirler (4). Beta-laktam antibiyotiklerin penisilin bağlayan proteinlere bağlanmasının, bakteriyel otolizinlerin endojen inhibitörlerini inaktive ettiği ve bu otolizinlerin sentezlenmiş hücre duvarındaki kovalan bağları parçalayarak bakteri lizisine yol açtığı düşünülmektedir (5). Beta-laktam antibiyotikler arasında penisilinler, sefalosporinler, monobaktamlar ve karbapenemler yer almaktadır. Bunlardan sefalosporinler ve GSBL üreten kökenlerin yaygınlaşmasıyla beraber de karbapenemler *K. pneumoniae*'nin neden olduğu enfeksiyonların tedavisinde sık kullanılan antibiyotiklerdendir.

Sefalosporinler halen kullanımda olan en geniş antibiyotik gruplarından biri olmakla beraber, uzun yıllardan bu yana geliştirilen ilaçlar birinci, ikinci, üçüncü, dördüncü ve yakın zamanda piyasaya sürülen grup ile beraber beşinci jenerasyon sefalosporinler olarak adlandırılmışlardır. Birinci jenerasyon sefalosporinler daha çok gram-pozitif bakteriler üzerinde etkili olacak şekilde görece dar etki spektrumuna sahiptirler. İkinci jenerasyon sefalosporinler ise gram-negatif bakteriler üzerinde de etkili olmaları nedeniyle daha geniş etki spektrumuna sahiplerdir. Bu grubun üyesi olan sefamisinler, başta sefoksitin olmak üzere, anti-anaerobik etkinliğe de sahiptirler. Üçüncü jenerasyon sefalosporinler de geniş etki spektrumuna sahip olmakla beraber, bakterilerin ürettiği beta-laktamaz enzimlerine de oldukça dayanıklıdır. Bu grupta ayrıca seftazidim ve sefotaksim gibi *P. aeruginosa*'ya karşı da etkili, anti-pseudomonal, sefalosporinler bulunmaktadır. Dördüncü jenerasyon ise en geniş spektrumlu sefalosporinlerdir. Hem gram-negatif hem de gram-pozitif bakteriler üzerinde oldukça etkili olmakla beraber, çoğu beta-laktamaza karşı da dirençlidirler. Beşinci jenerasyon sefalosporinler ise, diğer grupların sahip olmadığı şekilde, metisiline-dirençli *Staphylococcus aureus* (MRSA) kökenlerine karşı etkilidir. Bu grubun üyeleri olan

seftarolin ve seftobiprol MRSA dahil olmak üzere dirençli gram-pozitiflerin neden olduğu enfeksiyonların tedavisinde kullanılabilmektedir (6).

Karbapenemlerin yapıları ise penisilin ve safalosporinlerden az da olsa farklıdır (7). Bu grubun en eski temsilcilerinden imipenem, diğer beta-laktam antibiyotikler gibi beta-laktam halkası içermekle beraber, 1. pozisyonundaki karbon atomu sülfür ile değişmiştir ve 5. pozisyonunda çift bağ vardır. İmipenemin hidroksimetil yan zincirinin diğerlerinden farklı olarak “trans” pozisyonunda olması, bu ilacın beta-laktamazlara dirençli olmasını sağlamaktadır. Karbapenemlerin diğer bir üyesi meropenem ise *P. aeruginosa*’ya imipeneme oranla 2-4 kat daha etkili olmakla beraber, konvülsiyon yan etkisinin imipeneme göre daha az olması nedeniyle sıklıkla tercih edilmektedir (8). Karbapenemler, şu ana kadar mevcut olan en geniş etki spektrumuna sahip beta-laktam antibiyotiklerdir. Bu geniş antibakteriyel spektrum, temel olarak gram-negatif bakteri hücre duvarından hızlı penetrasyon, PBP’lere seçici afinite ve çoğu beta-laktamazlara karşı görülen dirençten kaynaklanmaktadır (5). Gerek gram-pozitif gerekse de gram-negatif aerob ve anaerob bakterilere karşı etkilidirler. Ancak, insan hücresine penetrasyonları iyi olmadığı için intrasellüler patojenlere bağlı enfeksiyonların tedavisinde kullanılmazlar. Karbapenemlerin gram-pozitif bakterilere etkinliği tıpkı penisilinler ve birinci kuşak sefalosporinler gibi oldukça fazla olmakla beraber, MRSA kökenleri karbapenemlere de dirençlidirler (5,7).

Beta-laktam antibiyotiklere karşı direnç, başlıca beta-laktamazlar adı verilen, beta-laktam halkasındaki karbonil grubu ile bir ester köprüsü kurarak siklik amid bağını bozan ve antibiyotiğin etkisini ortadan kaldıran enzimler nedeniyle oluşmaktadır. Beta-laktamazlar hem gram-negatif hem gram-pozitif bakteriler tarafından üretilmekle beraber, özellikle *Enterobacteriaceae* ailesi üyeleri olmak üzere gram-negatif bakterilerin beta-laktam direncinde en önemli mekanizmadır. Beta-laktamaz genleri bakteri kromozomunda ve/veya plazmid, transpozon, integron gibi mobil genetik elemanlarda bulunabilirler. Bu enzimler, gram-pozitif bakterilerde doğrudan dış ortama salınırken, gram-negatiflerde periplazmik aralıkta bulunmaktadır (4). Bu enzimlerin sayısı ve çeşitliliğindeki artış gruplandırılmalarını zorunlu hale getirmiştir. Beta-laktamazların sınıflandırılmasında en çok moleküler yapılarına göre yapılan Ambler sınıflandırması veya biyokimyasal özellikleri ve substrat profillerine göre yapılan Bush-Jacoby-Medeiros sınıflandırması kullanılmaktadır (9). Bu bölümde, sözü edilen

sınıflandırmalar üzerinden, gram-negatif bakterilerin neden olduğu enfeksiyonların tedavisinde ciddi sorunlara yol açan beta-laktamazlar yakından incelenecektir. Bu çalışmada kullanılan kökenlerin çoğunun, beta-laktamazlar aracılığı ile karbapenemler dahil neredeyse tüm beta-laktam antibiyotiklere dirençli olmaları, kolistin direncinin önemini daha da arttırmakla beraber, beta-laktamazları daha iyi anlama gerekliliğini doğrulamaktadır.

Ambler Sınıflandırması

Bu sınıflandırmaya göre beta-laktamazlar, sınıf A, B, C ve D olmak üzere 4 gruba ayrılmışlardır;

Sınıf A beta-laktamazlar; aktif bölgelerinde bir serin aminoasidi bulunan ve öncelikli substratları penisilinler olan enzimlerdir (10). Bunlardan özellikle 2001 yılında tanımlanmış olan KPC tipi enzimler, karbapenemleri de hidroliz edebilme yeteneğine de sahip olmakla beraber, ABD başta olmak üzere bazı ülkelerde karbapenem direncinin önde gelen nedeni olmaya devam etmektedirler (11).

Sınıf B beta-laktamazlar; aktif bölgelerinde Zn^{+} bağımlı bir tiol grubu bulunan metallo-enzimler olmakla beraber, bunların çoğu karbapenemaz aktivitesi göstermektedir. B sınıfı enzimler üç alt gruba ayrılmaktadır (12). Bunlardan B1 ve B3 grubu enzimler geniş etki spektrumuna sahip iken B2 grubu enzimler zayıf etki spektrumuna sahiplerdir (13). B1 alt sınıfı en çok bilinen metallo-beta-laktamazları içermektedir. Bunların arasında *Bacillus cereus* ve diğer *Bacillus* türlerinde bulunan BcII enzimi, *Bacterioides fragilis*'te bulunan CcrA enzimi, *Chryseobacterium meningosepticum*'da bulunan BlaB enzimi, *Chryseobacterium indologenes*'te bulunan IND-1 enzimi, bazı *P. aeruginosa*, *A. baumannii*, *K. pneumoniae* ve *S. marcescens* klinik izolatlarında bulunabilen IMP ve VIM tipi enzimler yer almaktadır. B2 alt sınıfı, çeşitli *Aeromonas* türlerinde rastlanan CphA, ImiS ve CphA2 gibi enzimler ile *S. fonticola*'nın Sfh-1 enzimini içermektedir. Son olarak B3 alt sınıfında ise *S. maltophilia*'nın L-1 enzimi, *C. meningosepticum*'un GOB enzimi, *Legionella gormanii*'nin FEZ-1 enzimi ve *Janthinobacterium lividum*'un THIN-B enzimi bulunmaktadır (14). İlk olarak 2008 yılında tanımlanmış olan NDM tipi enzimler ise geniş hidroliz profilleri nedeniyle ciddi sorun yaratmaktadır. Ülkemiz de dahil olmak üzere birçok ülkede oranı gittikçe artmakta olan NDM tipi enzimler, halen karbapenem direncinin en ciddi nedenlerinden birisi olmaya devam etmektedir (15,16).

Sınıf C beta-laktamazlar; aktif bölgelerinde serin aminoasidi taşıyan ve öncelikle sefalosporinlere karşı etkili enzimlerden oluşan bir gruptur. Kromozomal *AmpC* geni tarafından kodlanmaları nedeniyle AmpC tipi enzimler olarak da adlandırılmaktadırlar (10).

Sınıf D beta-laktamazlar ise aktif bölgelerinde serin aminoasidi taşıyan ve oksasilini hidroliz eden beta-laktamazlardır (10). Buna ek olarak, son yıllarda zayıf da olsa karbapenemaz aktivitesine de sahip D sınıfı beta-laktamazlar ortaya çıkmıştır. Bunlardan ilk olarak, ülkemizde izole edilen bir *K. pneumoniae* kökeninde tanımlanmış olan OXA-48 tipi enzimler halen Türkiye’de karbapenem direncinin en önemli nedenlerinden olmakla beraber, birçok ülkede de görülmeye devam etmektedir (17,18)

Bush-Jacoby-Medeiros Sınıflandırması

Bush ve ark. tarafından 1995 yılında yapılmış olan bu sınıflandırma 2010 yılında aynı araştırmacılar tarafından güncellenmiş olup, ilk halinde 4 ana gruba ayrılmış olan beta-laktamazlar, 3 ana grup ve birçok alt gruplar içerisinde sınıflandırılmıştır;

Grup 1; *Enterobacteriaceae* üyeleri başta olmak üzere gram-negatif bakterilerin çoğunda yaygın olarak bulunabilen ve sefalosporinleri hidroliz etme yeteneğine sahip bu kromozomal enzimler, Ambler sınıflandırmasında Sınıf C’de yer alırlar. Klavulanik asit ile inhibe olmazlar ve sefamisinler (örneğin; sefoksitin) üzerine etkilidirler. Birçok bakteri türünde genellikle düşük düzeyde üretilen, ancak beta-laktam varlığında indüklenabilen enzimlerdir. Çok büyük miktarlarda üretildiklerinde, ertapenem başta olmak üzere, karbapenem direncine de neden olabilmektedirler. Grup içerisinde plasmid kökenli enzimler de bulunmakla beraber, bunların önemi Grup 2’de yer alan GSBL’lerin yanında sınırlı kalmaktadır. Yeni alt grup olan 1e’de ise, genişlemiş spektrumlu AmpC olarak da adlandırılan, seftazidime karşı daha aktif olan enzimler yer almaktadır.

Grup 2; Ambler sınıflandırmasında A ve D sınıflarını içeren bu grup, özellikle GSBL tipi enzimlerin artışı ile birlikte en geniş grup halini almış olmakla beraber, birçok alt gruba da ayrılmıştır;

2a alt grubu, penisilini sefalosporinlerden daha etkili şekilde hidroliz eden penisilinazları içermektedir. Bu enzimler, gram-pozitif bakterilerin penisilinazlarının birçoğunu oluşturmaktadır.

2b alt grubu, klavulanik asit ve tazobaktam gibi beta-laktamaz inhibitörleri ile inhibe olan penisilinaz ve sefalosporinazları içermektedir. Plazmid kontrolünde olan TEM-1, TEM-2 ve SHV-1 enzimleri bu grupta yer almakla beraber (1995'te yapılan sınıflandırmanın ardından en ez 9 TEM ve 29 SHV tipi enzim daha bu gruba eklenmiştir), penisilinler yanı sıra dar spektrumlu sefalosporinlere de düşük düzey dirence neden olmaktadır. 2be alt grubu ise, klavulanik asit gibi beta-laktamaz inhibitörlerine duyarlı olan GSBL enzimlerini içermektedir. Bunların çoğu, TEM ve SHV enzimlerinde olan birkaç aminoasit değişikliği ile etki spektrumu genişlemiş olan yeni enzimler olmakla beraber, bunlara sefotaksimi seftazidimden daha iyi hidroliz etme yeteneğine sahip olan CTX-M grubu ve klinik önemi bu üç gruptan daha az olan BEL-1, BES-1, SFO-1, TLA-1, TLA-2 yanı sıra PER ve VEB ailelerinin bazı üyeleri de eklenmiştir. Bu enzimler; penisilinler, sefuroksim, sefotaksim, seftriakson, seftizoksim, seftazidim, sefpirom ve sefepim gibi oksiimino-aminotiazolil sefalosporinleri hidroliz etmekle beraber, karbapenemler ve sefamisinler bu enzimlerin etkisine dayanıklıdır. 2br alt grubu, TEM ve SHV enzimlerinin inhibitörlere dirençli alt tiplerini içermektedir. TEM grubunda yer alan 135 enzimin 35'i ve SHV grubunda yer alan 72 enzimin 9'u bu özelliği taşımakta iken, bu grupta herhangi bir CTX-M grubu enzim bulunmamaktadır. Bir başka alt grup olan 2ber ise, TEM-50 (CMT-1) gibi klavulanik aside görece dirençli kompleks mutant TEM enzimlerini içermektedir.

2c alt grubu, özellikle tikarsilin ve karbenisilini iyi hidroliz etme yeteneğine sahip, klavulanik asit ve tazobaktam gibi inhibitörlere duyarlı penisilinazları içermektedir. Yakın zamanda tanımlanmış olan 2ce alt grubu ise, RTG-4 (CARB-10) gibi sefepim ve sefpirom aktivitesi de bulunan genişlemiş spektrumlu karbenisilinazları içermektedir.

2d alt grubu, oksasilin ve kloksasilini penisilinden daha hızlı hidroliz eden ve OXA olarak adlandırılmış olan enzimleri içermektedir. Diğer Grup 2 enzimlerinden farklı olarak Ambler sınıflandırmasında D sınıfında yer alan bu enzimler, ikinci en geniş beta-laktamaz ailesini oluşturmaktadır. 2de alt grubunda, OXA-10 ve bundan sadece birkaç aminoasit farklılığı bulunan (örneğin; OXA-11, OXA-15), karbapenemleri

hidroliz etmeyen enzimler bulunmaktadır. Diğer bir yeni alt grup olan 2df'de ise karbapenemleri hidroliz edebilen enzimler bulunmaktadır. Bunlar, sıklıkla *A. baumannii*'de kromozomal olarak bulunabilen enzimler olmakla beraber, *Enterobacteriaceae* kökenlerinde plazmid aracılığı ile taşınan OXA-23 ve OXA-48 gibi enzimleri de içermektedir. OXA tipi karbapenemazlar karakteristik olarak zayıf hidroliz yeteneğine sahip olsalar da, bu enzimleri üreten kökenler genellikle karbapenemlere dirençli olarak görülmektedir. OXA tipi karbapenemazlar imipenemi meropenemden daha hızlı hidroliz etmekle beraber, klavulanik asit ile inhibe olmazlar. Bu aşamada, ülkemizde karbapenem direncinin en önemli nedenlerinin başında, bu grupta yer alan OXA-48 enziminin geldiğini tekrar belirtmek gerekir.

2e alt grubu, klavulanik asit ya da tazobaktam ile inhibe olan geniş spektrumlu sefalosporinazları içermektedir. *Proteae* ailesinin indüklenebilir kromozomal beta-laktamazları sıklıkla bu alt grupta yer almaktadır. Benzer direnç profillerinden dolayı AmpC ve/veya GSBL tipi enzimler ile karışabilmektedirler, ancak aztreonama düşük afiniteleri ile AmpC tipi enzimlerden ayrılabilirler.

2f alt grubu ise, Ambler sınıflandırmasında A sınıfında yer alan serin beta-laktamazlardır. Tazobaktam ile klavulanik aside oranla daha iyi inhibe olan bu grubun en önemli substratı ise karbapenemlerdir. Bu alt grupta SME ve IMI-1 gibi birçok kromozomal enzim bulunmakla beraber, KPC ve bazı GES tipleri gibi plazmidle kodlanan enzimlerin varlığı daha önemlidir. Özellikle KPC tipi enzimler, özellikle ABD'de, çoklu ilaca dirençli gram-negatiflerin neden olduğu hastane ilişkili salgınlarda önemli rol oynamakta ve gün geçtikçe tüm dünyada yaygın hale gelmektedir.

Grup 3; Ambler sınıflandırmasına göre B sınıfında yer almakla beraber, gerek aktif bölgelerinde Zn⁺ iyonu bulundurmaları nedeniyle yapısal olarak, gerekse de öncelikli olarak karbapenemleri hidroliz etmeleri açısından fonksiyonel olarak diğer beta-laktamazlardan ayrılırlar. Serin beta-laktamazlardan farklı olarak monobaktamlara karşı düşük hidrolitik kapasiteye sahiplerdir ve beta-laktamaz inhibitörleri ile inhibe olmazlar. Bununla birlikte, bu enzimler EDTA ve dipikolinik asit gibi metal şelatörleri ile inhibe olmaktadır. Başlangıçta, *S. maltophilia*'nın L-1 enzimi veya *B. fragilis*'in CcrA enzimi gibi kromozomal genler ile kodlanan enzimler olarak bilinmelerine rağmen, son yıllarda mobil genetik materyaller aracılığı ile kodlanan enzimlerin sayısında da artış tespit edilmiştir.

Bu enzimler iki fonksiyonel alt grupta toplanmıştır;

3a alt grubu; yukarıda da sözü edilen bazı kromozomal enzimler yanı sıra, IMP ve VIM gibi plazmid ile kodlanan, sıklıkla nonfermentatif bakterilerde olmakla beraber *Enterobacteriaceae* üyelerinde de görülebilen önemli enzim tiplerini içermektedir. Bunlar, monobaktamler hariç tüm beta-laktamlar için yükek hidroliz profiline sahip enzimlerdir.

3b alt grubu ise, penisilin ve sefalosporinlerden ziyade karbapenemleri hidroliz etme yeteneğine sahip küçük bir gruptur. *Aeromonas* türlerinin kromozomal metallo-beta-laktamazları bu grupta yer almaktadır.

Önceki sınıflandırmada yer alan Grup 4 ise, 2010 yılında yapılmış olan revizyonda bulunmamaktadır. Bu enzimlerin çoğu diğer güncel gruplar içerisinde yer almaktadır (19).

Bu bölümde, ülkemizde klinik örneklerden izole edilen gram-negatif bakterilerde görülen beta-laktam direnci, geniş kapsamda verilerin elde edilebileceği T.C. Sağlık Bakanlığı Türkiye Halk Sağlığı Kurumu Başkanlığı'nın yürütmekte olduğu Ulusal Antimikrobiyal Direnç Surveyans Sistemi'nin (UAMDSS) 2013 yılı verileri ve bu tarihten sonra yapılmış bazı geniş çaplı çalışmalar ışığında değerlendirilecektir.

UAMDSS 2013 yılı verileri, ülke çapında 56 laboratuvar tarafından gönderilen, kan ve BOS örneklerinden izole edilmiş, 11309 klinik izolatın analiz sonuçlarından oluşmaktadır. Bunların 3640 tanesini oluşturmakta olan invaziv *E. coli* kökenleri arasında imipenem direnci %1,8 oranında, meropenem direnci ise %3,9 oranında saptanmıştır. GSBL üretimi açısından test edilmiş olan 2138 köken arasında ise pozitiflik oranı %44,9 olarak belirlenmiştir. Çalışmaya dahil edilmiş olan izolatların 1655 tanesini oluşturmakta olan invaziv *K. pneumoniae* kökenleri arasında ise imipenem direnci %16, meropenem direnci ise %15,4 olarak tespit edilmiştir. GSBL üretimi bu kökenlerin 1156'sında test edilmiş olup %49,9 oranında pozitiflik saptanmakla beraber, 2012 yılına göre (%47,5) az da olsa artış olduğu raporlanmıştır. Çalışmaya dahil edilmiş olan 1172 *P. aeruginosa* kökeni arasında ise imipenem direnci %33,4 oranında iken, meropenem direnç oranı %26,1 olarak belirlenmiştir. Bu çalışmada anti-pseudomonal bir sefalosporin olan seftazidime karşı direnç oranı ise %39,9 olarak belirlenmiştir (20). Sonuç olarak, gram-negatif bakterilerin neden olduğu

invaziv enfeksiyonlar söz konusu olduğunda, ülkemizdeki beta-laktam antibiyotiklere karşı direnç oranlarının oldukça yüksek olduğu görülmektedir.

Ülkemizde beta-laktam antibiyotiklere dirence neden olan moleküler mekanizmaların değerlendirildiği geniş katılımlı çalışmalarda; hastane ilişkili *Enterobacteriaceae* kökenleri arasında GSBL enzimleri en sık tespit edilenlerin CTX-M (%71,4), TEM (%49,4) ve SHV (%46,7) türevleri; en sık saptanan CTX-M alt tipinin ise CTX-M-15 (%69,4) olduğu, bunu CTX-M-3 (%28,6) ve CTX-M-1 (%2) enzimlerinin izlediği görülmüştür. Karbapenemazlar arasında ise, ilk kez Türkiye’de tanımlanmış olan OXA-48’in ön plana çıktığı, bir metallo-enzim olan NDM-1’in ise giderek artan oranlarda görülmeye başlandığı bildirilmektedir (22,23).

2.2.2. Kolistin ve direnç sorunu

Polimiksinler, *Bacillus* cinsi bakteriler tarafından non-ribozomal olarak üretilen polipeptid yapıda ürünlerdir. Kimyasal olarak beş farklı bileşikten (polimiksin A-E) oluşmakla beraber, klinikte sadece polimiksin B ve polimiksin E (kolistin) kullanılmaktadır (23). 1947 yılında keşfedilen polimiksinler, 1960’lı yılların erken dönemlerine kadar ciddi gram-negatif bakteri enfeksiyonlarının tedavisinde kullanılmakta iken, 1980’li yılların başında nefrotoksik etkilerinin daha iyi anlaşılabilmesi sonucu daha çok rezerv konumunda tutulmaya başlanmış ve daha çok topikal ya da oral kullanım olarak tercih edilmişlerdir. Ancak son yıllarda gram-negatif bakterilerde artmakta olan antibiyotik direnci ve tedavide yaşanan sorunlar polimiksinlerin kullanımını tekrar gündeme getirmiştir (24).

Kolistin, dirençli mikroorganizmaların neden olduğu enfeksiyonların tedavisinde kullanılan eski, ancak önemi her geçen gün giderek artan antibiyotiklerden biridir. Kolistinin, kolistimetat sodyum (kolistin metan sülfat, pentasodyum kolistimetansülfat, kolistin sülfonil metat) ve kolistin sülfat olarak iki farklı ticari formu mevcuttur (23,24). Bunlardan kolistimetat sodyum görece daha az etkili olmakla beraber yan etkileri de daha azdır, ayrıca intravenöz, intramuskuler ve inhaler gibi parenteral formları da mevcuttur. Kolistin sülfat ise bağırsak dekontaminasyonu amacıyla oral yolla kullanılabilirdiği gibi, cilt enfeksiyonlarının tedavisinde kullanılabilen topikal formu da mevcuttur (23).

Kolistinin hedefi bakteri hücre membranıdır. Katyonik bir polipeptid olan kolistin, gram-negatif bakterilerin dış membranında bulunan anyonik

lipopolisakkaridlere bağlanmakta ve onları stabil halde tutan divalan katyonları (Ca^{+2} ve Mg^{+2}) lipid yapıdan ayırmak suretiyle dış membranda permeabilite artışına neden olmaktadır. Bu permeabilite artışı ise hücre içeriğinin dışarıya sızması ve nihayetinde hücre ölümü ile sonlanmaktadır. Kolistin, antibakteriyel etkisine ek olarak güçlü bir anti-endotoksik aktivite de göstermektedir. Bilindiği gibi gram-negatif bakterilerin endotoksik aktivitesi lipopolisakkarid moleküllerinin lipid A adı verilen kısmı ile ilişkilidir; kolistin ise bu yapıya bağlanmak ve nötralizan etki göstermek suretiyle endotoksik aktiviteyi azaltmaktadır.

Kolistin; *Acinetobacter* spp., *Pseudomonas aeruginosa*, *Klebsiella* spp., *Enterobacter* spp., *Escherichia coli*, *Shigella* spp., *Salmonella* spp., *Citrobacter* spp., *Haemophilus influenzae*, *Yersinia pseudotuberculosis* ve *Bordetella pertussis*'e karşı mükemmel bakterisidal etkinlik göstermektedir. *Stenotrophomonas maltophilia*'nın neden olduğu enfeksiyonlarda da genellikle etkin olmakla birlikte, duyarlılığının değişken olabileceği unutulmamalıdır. Bununla beraber, kolistinin bazı mikobakteriler (*Mycobacterium intracellulare*, *Mycobacterium tuberculosis*, *Mycobacterium xenopi*, *Mycobacterium fortuitum*, *Mycobacterium phlei* ve *Mycobacterium smegmatis*) üzerinde de etkili olabileceği gösterilmiştir. Başta gram-pozitif ve anaerob bakteriler olmak üzere bazı bakterilerde ise (*Burkholderia cepacia*, *Burkholderia pseudomallei*, *Proteus mirabilis*, *Providencia* spp., *Morganella morganii*, *Neisseria* spp., *Brucella* spp. ve *Moraxella catarrhalis*) kolistine karşı doğal direnç görülmektedir.

Kolistin in vitro duyarlılık testleri için standartlar ilk olarak 1970 yılında National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS) tarafından belirlenmiş, ancak bu tarihlerden sonra ilacın kullanımı kısıtlı kaldığı için uzun süre güncellenmemiştir. Kolistin kullanımının tekrar yaygınlaşması ile beraber duyarlılık testleri ile ilgili çalışmalar hız kazanmış, ilk dönemlerde duyarlılık testleri 10 µg kolistin içeren diskler kullanılarak disk difüzyon yöntemi ile yapılmıştır. Sonrasında yapılan çalışmalar, yalancı duyarlı sonuçlar nedeniyle, disk difüzyon testi sonuçlarının bir dilüsyon yöntemi ile doğrulanması gerektiğini ortaya koymuştur (23). Bu çalışmanın planlandığı dönemde in-vitro kolistin duyarlılığının belirlenmesinde disk difüzyon ve gradient strip yöntemleri halen yaygın olarak kullanılıyor olmakla beraber; son dönemde EUCAST, kolistin duyarlılığının sadece sıvı dilüsyon testi ile belirlenmesini ve bunun katyon ayarlı Mueller Hinton broth besiyerinde yapılmasını önermiştir (25).

Bu çalışmanın amaçlarından birisi de, sıvı dilüsyon testi referans yöntem olarak kabul edildiğinde diğer sık kullanılan yöntemlerin performanslarının saptanmasıdır.

Kolistine karşı kazanılmış direnç, temel olarak antibiyotiğin hedefi olan hücre membranında bulunan lipopolisakkaritlerin yapılarında meydana gelen değişiklikler ile olmaktadır. Yakın zamana kadar bu değişikliklerden sadece kromozomal genlerde olan bazı mutasyonların sorumlu olduğu düşünülmekte iken, 2016 yılında Çin’de tanımlanan ve plazmid aracılığı ile kodlanan *mcr-1* adlı bir genin de kolistin direncine neden olduğu saptanmıştır (26).

Kolistin direncinde ana moleküler mekanizmanın, hücre membranında bulunan lipopolisakkarit tabakanının lipid A kısmına fosfoetanolamin (PEtN) veya 4-amino-4-deoxy-L-arabinose (L-Ara4N) eklenmesi yanı sıra deasetilasyon veya hidroksilasyon gibi kovalent değişiklikler olduğu düşünülmektedir. Bunun dışında, kapsül oluşumu ve efflux pompalarının da etkili olabileceğini öngören çalışmalar mevcuttur (27). En sık karşılaşılan lipopolisakkarit değişimi L-Ara4N eklenmesi yoluyla gerçekleşen katyonik değişim olmaktadır ki bu durum lipid A’nın net negatif yükünü 0’a düşürmektedir. İkinci sıklıkta görülen değişiklik olan PEtN eklenmesi ise net negatif yükü -1/-1,5 civarına düşüren bir modifikasyona yol açmaktadır (28). Bu mekanizmalar ile lipopolisakkaritin negatif yükündeki azalma, kolistinin hücre membranına bağlanmasını zorlaştırmakta ve direnç gelişimine neden olmaktadır.

Genel olarak, *phoP/phoQ* ve *pmrA/pmrB* gibi hücre membranı üzerinde etkili olan regülatuar sistemlerinde çevresel ya da spesifik mutasyonel etkenlerle gerçekleşen aktivasyon artışının, lipopolisakkarit modifiye eden genlerin ekspresyonunda da artışa neden olduğu gözlenmiştir. Örneğin, *pmrA/pmrB* regülatuar sisteminin aktivasyonunun sırasıyla PEtN ve L-Ara4N moleküllerinin sentezi ve lipid A’ya transferini sağlayan *pmrCAB* ve *arnBCADTEF-pmrE* (diğer adıyla *pmrHFIJKLM-ugd*) operonlarının upregülasyonuna neden olduğu; *phoP/phoQ* regülatuar sisteminin aktivasyonunun ise *pmrA/pmrB* regülatuar sistemini *pmrD* üzerinden indirekt olarak aktive ettiği ve dirence katkıda bulunduğu saptanmıştır (27). Ancak, farklı bakteri gruplarında kolistin direnci gelişimine neden olan farklı genetik modifikasyonlar olduğunu da belirtmek gerekir. Özellikle *Enterobacteriaceae* üyeleri ve nonfermentatif bakterilerdeki kazanılmış direnç mekanizmalarında farklılıklar bulunmaktadır. Bu bölümde, farklı bakteri türlerinde

kolistin direnci üzerine yapılmış çalışmalardan elde edilen veriler özetlenecek, özellikle de çalışmanın konusu olan *K. pneumoniae* üzerinde durulacaktır.

Salmonella enterica serovar Typhimurium, kolistin dahil olmak üzere katyonik antimikrobiyal peptidlere karşı direnci araştırmada model olarak kullanılan bir mikroorganizmadır. Bugün birçok farklı bakteri türünde kolistin direncinden sorumlu tutulan PEtN ve L-Ara4N modifikasyonları ilk olarak bu tür üzerinde tanımlanmıştır (29). Bu modifikasyonlara, *phoP/phoQ* ve *pmrA/pmrB* gibi regülatuar sistemlerde gerçekleşen mutasyonların neden olduğu ise sonrasında ortaya çıkmıştır (30,31). *Salmonella* türlerinde kolistin direncinin, neden olduğu enfeksiyonlarda bu antibiyotığın kullanılmaması nedeniyle, klinik anlamı olmamakla beraber, yapılan çalışmalar diğer gram-negatiflerin nasıl direnç kazandığına ışık tutma özelliği taşımaktadır (27).

Son yıllarda çoklu ilaca dirençli kökenlerinin neden olduğu hastane enfeksiyonları sebebiyle *K. pneumoniae*'de görülen kolistin direnci klinik açıdan büyük önem arz etmektedir. Bu bakteri üzerinde yapılan çalışmalar, dirençli bakterilerin lipid A yapısında 5 kat daha fazla L-Ara4N bulunduğunu göstermiştir (32). Sonrasında bu kökenlerde de *phoP/phoQ* ve *pmrA/pmrB* regülatuar sistemlerinde gerçekleşen mutasyonların, *pmrC* ve *arnBCADTEF* operonlarının upregülasyonuna neden olarak lipid A yapısının PEtN ve L-Ara4N ile modifikasyonlarına yol açtığı gösterilmiştir (33).

K. pneumoniae kökenlerinde son dönemde kolistin direnci ile ilişkilendirilmiş olan başka bir mutasyon ise *phoP/phoQ* regülatuar sistemine negatif feedback sağlamakla görevli olan bir transmembran proteinini kodlayan kromozomal bir gen olan *mgrB*'de saptanmıştır (34,35). *mgrB* mutasyonlarının, *pmrA* ve/veya *phoP*'nin fosforillenmesi yoluyla, *arnBCADTEF* operonunun upregülasyonuna neden olarak lipid A yapısına L-Ara4N eklenmesine yol açtığı gösterilmiştir (33,36). Bunlara ek olarak, kapsül sentezi ile ilişkili bir gen olan *rscB* geninin de *phoP/phoQ* sistemini baskılayıcı etkisi olduğu, dolayısıyla bu gendeki mutasyonların da *phoP/phoQ* sisteminin aktivasyonu yoluyla kolistin direncine neden olabileceği gösterilmiştir.

Antimikrobiyal direncin ciddi sorun teşkil ettiği bir diğer enterik bakteri olan *E. coli* kökenlerinde de polimiksin direncinin, lipid A'nın L-Ara4N veya 2-aminoethanol molekülleri ile modifikasyonu ile ilişkili olduğu gösterilmiştir (37). Daha az sayıda da olsa, lipid A'nın PEtN ile modifiye olduğunu gösteren çalışmalar da mevcuttur (38).

E. coli kökenlerinde polimiksin direncinden sorumlu olabileceği düşünülen başka bir mekanizma ise diğer enterik bakterilerde korunmuş bir gen olan *mgrR* genindeki mutasyonlarıdır. Bu genin, lipid A'nın PEtN ile modifiye olmasında görevli *eptB* geninin negatif regülatörü olduğu ortaya konmuştur. Dolayısı ile *mgrR* mutasyonlarının lipid A modifikasyonuna ve kolistin direncine neden olabileceği düşünülmektedir (39,40). Ayrıca, *mgrR* geninin *phoP/phoQ* sistemi tarafından da regüle edilmekte olduğunun gösterilmiş olması, bu regülatuar sistemdeki mutasyonların da aynı yol üzerinden kolistin direncine neden olabileceğini göstermektedir (41). Bununla beraber, *E. coli* kökenlerinde *phoP/phoQ* sisteminin regülasyonunun, özellikle *phoP*'nin baskılanması yoluyla, *micA* geni tarafından yapılıyor olması, bu gendeki mutasyonların da kolistin direncinden sorumlu olabileceğinin göstergesidir (42).

Günümüzde antibiyotik direncinin en ciddi boyutlara ulaştığı bakterilerden birisi olan *A. baumannii* kökenlerinde kolistin direncine neden olduğu düşünülen iki farklı mekanizma tanımlanmıştır; *pmrA/pmrB* regülatuar sisteminde görülen mutasyonlar neticesinde Lipid A yapısına PEtN eklenmesi ve lipid A sentezinden sorumlu olan genlerin mutasyonlar veya insersiyonel inaktivasyonlar nedeniyle tamamen kaybı (43).

A. baumannii, L-Ara4N biyosentezi için gerekli genetik mekanizmalara sahip olmadığı için direnç PEtN üzerinden gerçekleşmektedir. Enterik bakterilere benzer olarak, *A. baumannii*'de de *pmrA* ve/veya *pmrB* geninde görülen mutasyonlar, lipid A'nın PEtN ile modifikasyonuna ve kolistin direncine neden olmaktadır. Bu mutasyonların en sık *pmrB* geninde görüldükleri düşünülmekle beraber, genlerin değişik bölgelerinde görülebildikleri bildirilmiştir. Çalışmaların çoğunda, bu mutasyonlar neticesinde kolistin MİK'lerinin 4-256 µg/ml arasında değişmekte olduğu gösterilmiştir (27). Öte yandan, kolistine dirençli *A. baumannii* kökenlerinde, *eptA* adı verilen *pmrC*-benzeri bir fosfoetanol transferaz geninin ekspresyon seviyelerinin de anlamlı derecede artmış olduğunu tespit eden çalışmalar mevcuttur. İlginç olarak, bu genin lokasyonunun mobil genetik elementlere yakın oluşu horizontal geçiş olasılığını da düşündürmektedir (44,45).

A. baumannii kökenlerinde saptanan bir diğer direnç mekanizması ise, lipid A sentezinden sorumlu *lpxA*, *lpxC* ve *lpxD* genlerinde görülen nükleotid değişimi, delesyonlar ya da bu genlere ISAb11 elementinin insersiyonu neticesinde sentezin bozulması ve/veya lipopolisakkaritlerin tamamen kaybı olarak belirlenmiştir. Bu

mutasyona sahip kökenler genellikle kolistin için $>128 \mu\text{g/ml}$ MİK değerlerine sahip olmakla beraber, antibiyotiğin hedefi olan lipid A molekülünün bulunmaması nedeniyle yüksek düzey direnç gösterirler. Ayrıca, moleküler mekanizmaları tam olarak bilinmemekle beraber, *A. baumannii* kökenlerinde kolistin heterodirencinin de yaygın olduğu ve bu dirençli subpopülasyonların varlığının direnç oranlarının artması yanı sıra tedavi başarısızlıklarına da neden olduğu düşünülmektedir (43).

Kolistin direncinin *A. baumannii* kökenlerinde üreme güçlüğü yanı sıra virülansta ve invaziv hastalık yapma yeteneğinde de azalmaya neden olabildiği gösterilmiştir (46,47,48,49). Son olarak Bacceiro ve ark., *lpx* mutasyonuna sahip kökenlerin *pmrA/pmrB* mutasyonuna sahip kökenlere oranla daha ciddi virülans kayıpları yaşadıklarını göstermiştir (50).

P. aeruginosa kökenlerinde ise kolistin direncinden sorumlu mekanizmalar, *A. baumannii*'den çok enterik bakterilere benzemektedir. Bu bakterinin kolistin direncinden sorumlu 5 farklı regülatuar sistem tespit edilmiştir; *pmrA/pmrB* (51,52,53,54), *phoP/phoQ* (55,56,57,58), *parR/parS* (59,60), *colR/colS* ve *cprR/cprS* (61). Kolistin dirençli *P. aeruginosa* kökenleri ile yapılmış çalışmaların çoğunda, dirence neden olan mutasyon *pmrB* geninde tespit edilmiş olup, *pmrA* mutasyonlarına nadiren rastlanmaktadır (62). Bu mutasyonların *P. aeruginosa* kökenlerinde $4->512 \mu\text{g/ml}$ arasında MİK değerlerine sebep olduğu belirtilmiştir. Öte yandan Moskowitz ve ark. yaptıkları çalışmada, *P. aeruginosa* kökenlerinde lipid A modifikasyonunun, penta- ya da hekza-asetilli lipid A yapısı oluşturacak şekilde, daha büyük farklılıklara da neden olabileceğini göstermişlerdir (53).

Enterik bakterilerden farklı olarak, *P. aeruginosa*'da *phoP/phoQ* regülatuar sistemindeki mutasyonlardan kaynaklanan değişiklikler *pmrA/pmrB* sisteminden bağımsız olarak gerçekleşmektedir. Bununla beraber, özellikle *pmrB* ve *phoQ* mutasyonlarının beraber görüldüğü kökenlerin daha dirençli olma eğiliminde olduğu da bildirilmiştir (63).

P. aeruginosa kökenlerinde *colR/colS* ve *cprR/cprS* regülatuar sistemlerinin de kolistin direncine direkt ya da indirekt katkıda bulunduğu düşünülmektedir. Özellikle *phoQ* mutantlarında bu iki sistemde görülen mutasyonların yüksek oranda dirence neden olduğu tespit edilmiştir (61). Öte yandan, *cprR/cprS* ve *parR/parS* regülatuar

sistemlerinin, kolistin yanı sıra diğer antimikrobiyal peptidlerin varlığı ile de aktive olarak lipopolisakkarit modifikasyonlarına neden oldukları saptanmıştır (59).

Ülkemizdeki klinik örneklerden izole edilen farklı kökenlerin kolistin direnç oranları ve direnç mekanizmalarına ilişkin veriler üzerinde tezin tartışma bölümünde durulacaktır.

Gerek gelişmekte olan kolistin direncinin önüne geçmek, gerekse de antibiyotiğin bakterisidal etkisini arttırmak amacıyla kolistin içeren kombinasyon terapileri sıklıkla kullanılmaktadır. Kolistin rifampin başta olmak üzere birçok antibiyotik ile sinerjistik etkisi olduğu çeşitli çalışmalarda gösterilmiştir. Bu çalışmalarda time-kill assay, checkerboard assay ve gradient strip yöntemleri sıklıkla kullanılmakla beraber, time-kill assay altın standart olarak kabul edilmektedir (64). Kolistin rifampin dışında, karbapenemler, sulbaktam, minosiklin, glikopeptidler, tigesiklin ve diğer bazı antibiyotikler ile kombinasyonunun etkinliğini gösteren çalışmalar da bulunmaktadır (65,66,67,68,69)

Kolistin, çoklu ilaca dirençli gram-negatiflerin neden olduğu enfeksiyonlarda, özellikle de kolistin dışındaki diğer tüm antibiyotiklere direnç varlığında ya da in vitro olarak duyarlı bulunan antibiyotikler ile tedaviye klinik yanıt alınamadığında, uygun antimikrobiyal duyarlılık testi sonuçları ışığında kullanılmalıdır. Kolistin intravenöz kullanımının yanı sıra, inhaler ve intratekal formlarının da olması klinik kullanım spektrumunu arttırmaktadır. Özellikle inhaler kullanım konusunda, kistik fibrozlu hastalar üzerinde ciddi deneyim elde edilmiş olmakla beraber, özellikle *P. aeruginosa* kökenleri için direnç gelişiminin de oldukça yavaş olduğu belirtilmiştir (23). Kolistin, aynı zamanda çoklu ilaca dirençli gram-negatif bakterilerin neden olduğu ventilatör ilişkili pnömoni olgularında da monoterapi veya kombine olarak kullanılmakla beraber, yanık enfeksiyonlarında ve ventrikülit olgularında (intratekal olarak) kullanıldığı çalışmalar da bulunmaktadır (64). Ülkemizde, Nisan 2010 tarihinde ruhsat almış kolistimetat sodyum içeren preparat mevcut olup, çoklu ilaca dirençli gram-negatiflerin neden olduğu enfeksiyonlarda, özellikle de karbapenem direncinin yaygın olduğu merkezlerde, sıklıkla kullanılmaktadır.

Polimiksinlerin en sık karşılaşılan yan etkileri nefrotoksisite ve nörotoksisite olmaktadır. Toksisitenin moleküler mekanizması tam olarak bilinmemekle beraber, doza bağımlı ve geri dönüşümlü olduğu bilinmektedir. Total kümülatif kolistimetat

sodyum dozu nefrotoksisiteyle ilişkili bulunmakla beraber, tedavi sürelerinin kısaltılması toksisiteyi azaltmaktadır (64). Renal toksisitenin başlıca, kreatin klerensinde azalma ve görüldüğü bilinmektedir. Nörotoksisite ise nefrotoksisite kadar sık olmamakla beraber yaklaşık %7 civarında olguda görüldüğü tespit edilmiştir. Bu hastalarda görülen başlıca semptomlar ise baş dönmesi, güçsüzlük, fasyal ve periferik parestezi, vertigo, görme bozuklukları, ataksi, konfüzyon ve solunum yetmezliğine neden olabilen nöromusküler blokaj şeklindedir (23). Gerek bu yan etkileri, gerekse de geniş etki spektrumu ile dirençli bakterilerin neden olduğu enfeksiyonlarda son seçenek antibiyotiklerden biri olarak kullanılıyor olması nedeniyle kolistin direnci ve bu dirence neden olan mekanizmaların anlaşılması büyük önem arz etmektedir.



3. GEREÇ VE YÖNTEM

Çeşitli kültürlerden izole edilen *K. pneumoniae* kökenlerinin kolistin duyarlılığı; sıvı mikrodilüsyon, disk difüzyon ve gradient strip test yöntemleri ile belirlenmiştir. Buna göre dirençli bulunan kökenlerde, dirençten sorumlu mekanizmalar moleküler yöntemler ile araştırılmıştır.

3.1. Bakteri kökenlerinin toplanması

İstanbul Üniversitesi Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Tıbbi Mikrobiyoloji Laboratuvarı'na gönderilen çeşitli kültürlerde üreyen; kolistin tedavisine yanıt alınamayan hastalardan izole edilen ve referans yöntem olan sıvı mikrodilüsyon testi ile kolistin direcinin doğrulandığı 20 *K. pneumoniae* kökeni yanı sıra 20 adet kolistine duyarlı *K. pneumoniae* kökeni kontrol amacıyla çalışmaya alınmıştır.

3.2. Antibiyotik duyarlılık testleri

K. pneumoniae kökenlerinin kolistin duyarlılıklarını belirlemek amacıyla sıvı mikrodilüsyon yöntemi kullanılmış, bu yöntem referans alınarak diğer duyarlılık test yöntemlerinden disk difüzyon, gradient strip ve VITEK 2 otomatize sisteminin performansları değerlendirilmiştir. Tüm fenotipik duyarlılık testlerinde *E. coli* ATCC 25922 kökeni kontrol olarak kullanılmıştır (25).

3.2.1. Sıvı mikrodilüsyon testi

EUCAST önerileri doğrultusunda katyon ayarlı Mueller Hinton broth (Biolife, İtalya) besiyerine, üretici firma önerileri doğrultusunda uygun çözücüler ile çözünmüş ve 0,25 - 128 µg/ml konsantrasyonları arasında 2 kat seri dilüsyonlar halinde sulandırılmış kolistin sülfat (Sigma Aldrich, ABD) eklenerek oluşturulan ortama test edilecek kökenlerin koyun kanlı agar besiyerine (Salubris, Türkiye) yapılmış taze pasajlarından hazırlanan 0,5 Mc Farland ($1,5 \times 10^8$ CFU/ml) bulanıklığında bakteri süspansiyonunun 1/300 sulandırılmış hali (5×10^5 CFU/ml) ekilmiş; 16-20 saat $35 \pm 1^\circ\text{C}$ 'de inkübe edilmiştir (70). İnkübasyon süresi sonunda gözle görülen bir bulanıklığın bulunmadığı tüpte bulunan ilaç konsantrasyonu MİK değeri olarak kabul edilmiş ve EUCAST kriterlerine göre yorumlanmıştır.

3.2.2. VITEK 2 otomatize sistemi

Test edilecek mikroorganizmaların 0,5 Mc Farland bulanıklığındaki süspansiyonu, üretici firma önerileri doğrultusunda identifikasyon amacı ile VITEK 2 GN Card ve antimikrobiyal duyarlılık belirlenmesi amacı ile VITEK 2 AST Card (bioMérieux, Fransa) inokülasyon kartlarına dağıtılmış ve VITEK 2 otomatize identifikasyon ve antibiyotik duyarlılık testi cihazına (bioMérieux, Fransa) yerleştirilmiştir. İnkübasyon süresi sonunda elde edilen bakteri türleri belirlenmiş ve MİK değerleri EUCAST kriterlerine göre yorumlanmıştır.

3.2.3. Gradient strip testi

Bu test amacıyla MIC Test Strip (Liofilchem, İtalya) kullanılmış, üretici firma önerileri doğrultusunda Mueller Hinton agar besiyerine (Biolife, İtalya) test edilecek kökenlerin 0,5 McFarland bulanıklığında hazırlanan süspansiyonu ekilmiştir. 16-20 saat $35\pm 1^{\circ}\text{C}$ 'de yapılan inkübasyon neticesinde strip üzerinde oluşan inhibisyon elipsinin test sribi ile kesiştiği en yüksek ilaç konsantrasyonu MİK değeri olarak belirlenmiş ve EUCAST kriterlerine göre yorumlanmıştır .

3.2.4. Disk difüzyon testi

Test edilecek mikroorganizmaların 0,5 Mc Farland bulanıklığındaki süspansiyonu, Mueller Hinton Agar besiyerine ekilmiş, ardından 10µg ve 50µg kolistin içeren antibiyotik diskleri (Oxoid, Fransa) besiyeri üzerine eklenerek $35\pm 1^{\circ}\text{C}$ 'de 16-20 saat inkübe edilmiştir. İnkübasyon süresi sonunda antibiyotik diskinin etrafında oluşan zon çapı ölçülmüş; 10µg kolistin içeren disk ile elde edilen zon çapları Gales ve ark.'nın da kullanmış olduğu şekilde Clinical Laboratory Standarts Institute kurumunun *P. aeruginosa* için belirlemiş olduğu kriterlere göre, 50µg kolistin içeren disk ile elde edilen zon çapları ise Fransız Mikrobiyoloji Cemiyeti olan Société Française de Microbiologie kurumunun *Enterobacteriaceae* grubu üyeleri için belirlemiş olduğu kriterlere göre değerlendirilmiştir. Buna göre 10 µg kolistin içeren disk etrafında 10 mm ve altında zon çapı oluşturan bakteriler dirençli kabul edilirken, 11 mm ve üzerinde zon çapı oluşturan bakteriler duyarlı kabul edilmiştir. 50 µg kolistin içeren disk etrafında ise 14 mm ve altında zon çapı oluşturan bakteriler dirençli kabul edilirken, 15 mm ve üzerinde zon çapı oluşturan bakteriler ise duyarlı kabul edilmiştir (71,72).

3.3. Direncin moleküler temelinin araştırılması

Altın standart olarak kabul edilen sıvı mikrodilüsyon testi neticesinde kolistine dirençli ve duyarlı bulunan 20'şer köken direncin moleküler temelinin araştırılması amacıyla çalışmaya alınmıştır. Bu aşamada, literatürde kolistin direncinden sorumlu olabileceği bildirilmiş olan *mgrB* gen mutasyonları, *mcr-1* ve *mcr-2* plazmidlerinin varlığı yanı sıra *pmrA*, *pmrB*, *pmrC*, *pmrD*, *pmrE*, *pmrK*, *phoP* ve *phoQ* genlerinin ekspresyon düzeyleri incelenmiştir. Tüm moleküler çalışmalarda kolistine duyarlı *K. pneumoniae* ATCC 700603 kökeni kontrol olarak kullanılmıştır.

3.3.1. Bakteriyel DNA ve RNA izolasyonu

DNA izolasyonunun gerçekleştirileceği kökenlerin koyun kanlı agardaki taze pasajlarından öze ile alınan koloniler, bulanıklığı 0,5 McFarland olacak şekilde steril distile su ile sulandırılmıştır. Bu karışımın 200 µl'si High Pure PCR Template Preparation Kit (Roche Diagnostics GmbH, Mannheim, Almanya) kullanılarak üretici firma direktifleri doğrultusunda DNA izolasyonu için kullanılmıştır. Gen ekspresyonu çalışmaları amacıyla RNA izolasyonunun gerçekleştirileceği kökenlerin koyun kanlı agardaki taze pasajlarından öze ile alınan koloniler, bulanıklığı 0,5 McFarland olacak şekilde Luria Bertani broth besiyerine ekilmiş ve 8 saat 35±2 °C'de inkübe edilmiştir. İnkübasyon süresi sonunda logaritmik fazda olan bakteriler 2000 xg'de 5 dakika santrifüj edilmek suretiyle toplanmış ve High Pure RNA Isolation Kit (Roche Diagnostics GmbH, Mannheim, Almanya) kullanılarak üretici firma direktifleri doğrultusunda RNA izolasyonu gerçekleştirilmiştir.

DNA izolasyonu için aşağıdaki aşamalar gerçekleştirilmiştir;

High Pure PCR Template Preparation Kit ile çalışmaya başlamadan önce kuru ısı bloğu açılarak 70 °C'ye getirilmiştir. Ekstraksiyon kitinin içinde bulunan Proteinaz K, 4,5 ml distile su ile çözülmüştür. Bu solüsyon küçük parçalara ayrılarak ependorflara ayrılmış ve -20±5 °C'de saklanmıştır. İşlemler sırasında kullanmak amacıyla yeterli miktar dışarı çıkarılarak çözülmüştür. Ekstraksiyon kitinin içinde bulunan inhibitör removal buffer 20 ml saf etanol ile çözülmüş ve hafifçe karıştırılmıştır. Daha sonra ekstraksiyon kitinin içinde bulunan wash buffer 80 ml saf etanol ile karıştırılmıştır.

Ekstraksiyon kitinin içinde bulunan elution buffer ise 2 tane 1,5 ml'lik ependorf tüpüne konulmuş ve 70 °C'ye ayarlanmış kuru ısı bloğuna yerleştirilmiştir. Daha sonra gerçekleştirilen aşamalar aşağıdaki gibidir:

1. Bakteri çözeltisinden 200'er µl ayrı ependorflara alınmış ve üzerlerine 200'er µl Tissue Lysis Buffer ve 40'ar µl proteinaz K eklenmiştir.
2. En az 55°C'da 1 saat inkübe edilmiş ve numunenin erimesi sağlanmıştır.
3. Tüplerin kapakları tek tek açılarak 200'er µl lysis binding buffer ilave edilmiştir.
4. Tüpler vortekslenmiş ve kuru ısı bloğunda 70°C'de 10 dakika inkübe edilmiştir.
5. İnkübasyon sonrası tüm tüplerin kapakları tek tek açılarak 100'er µl isoproponol ilave edilmiştir.
6. Tüpler vortekslenmiş ve ependorflardaki tüm miktar daha önce ayarlanmış olan kolleksiyon tüpü içindeki high pure filtre ihtiva eden kolonların içerisine eklenmiştir.
7. 1 dakika 8000 xg'de santrifüj edilmiş, sonrasında kolonun altındaki kolleksiyon tüpü atılmış ve yeni kolleksiyon tüp takılmıştır.
8. Tüplerin kapakları tek tek açılarak 500'er µl inhibitör removal buffer ilave edilmiştir.
9. 1 dakika 8000 xg'de santrifüj edilmiş, sonrasında kolonun altındaki kolleksiyon tüpü atılmış ve yeni kolleksiyon tüpü takılmıştır.
10. Tüplerin kapakları tek tek açılarak 500 µl wash buffer ilave edilmiştir.
11. 1 dakika 8000 xg'de santrifüj edilmiş, sonrasında kolonun altındaki kolleksiyon tüpü atılmış ve yeni kolleksiyon tüpü takılmıştır.
12. Tüplerin kapakları tek tek açılarak 500 µl wash buffer ilave edilmiştir.
13. 1 dakika 8000 xg'de santrifüj edilmiş, sonrasında kolonun altındaki kolleksiyon tüpü atılmış ve yeni kolleksiyon tüpü takılmıştır.
14. 1 dakika 13000 xg'de santrifüj edilmiş, sonrasında kolonun altındaki kolleksiyon tüpü atılmış ve kolon 1,5 ml'lik steril ependorf tüplerin içine konulmuştur.

15. Daha öncesinde kuru ısı bloğunda 70°C’de bekleyen elüsyon buffer’dan 200 µl tüm tüplerin kapakları tek tek açılarak ilave edilmiştir.
16. 1 dakika 8000 xg’de santrifüj edilmiş, sonrasında ependorf içindeki kolon atılmıştır.
17. Bu aşamada DNA elde edilmiş olmakla beraber, elüe edilmiş DNA -20±5°C’de saklanmıştır.

RNA izolasyonu için aşağıdaki aşamalar gerçekleştirilmiştir;

1. Bakteri çözeltisinden 2’şer ml ayrı ependorflara alınmış ve 2000 xg’de 5 dakika santrifüj edilmiştir.
2. Santrifüj sonrası supernatant atılmış ve pelletlerin üzerine 200 µl 10 mM Tris (pH:8) ilave edilmiştir. Sonrasında 4 µl lizozim (50 mg/ml) eklenerek 37 °C’de 10 dakika inkübasyona bırakılmıştır.
3. İnkübasyon sonrası tüplerin kapakları tek tek açılarak 400’er µl lysis binding buffer ilave edilmiştir.
4. Tüpler vortekslenmiş ve ependorfdaki tüm miktar daha öncesinde ayarlanmış olan kolleksiyon tüpü içindeki high pure filtre ihtiva eden kolonların içerisine eklenmiştir.
5. 15sn 8000 xg’de santrifüj edilmiş, sonrasında kolonun altındaki kolleksiyon tüpü atılmış ve yeni kolleksiyon tüpü takılmıştır.
6. Üzerlerine 90’ar µl DNase inkübasyon buffer ve 10’ar µl Dnase I eklenmiştir.
7. Oda ısısında en az 15 dakika inkübe edilmiştir.
8. Tüplerin kapakları tek tek açılarak 500’şer µl wash buffer I ilave edilmiştir.
9. 15sn 8000 xg’de santrifüj edilmiş, sonrasında kolonun altındaki kolleksiyon tüpü atılmış ve yeni kolleksiyon tüpü takılmıştır.
10. Tüplerin kapakları tek tek açılarak 500’şer µl wash buffer II ilave edilmiştir.

11. 15sn 8000 xg'de santrifüj edilmiş, sonrasında kolonun altındaki kolleksiyon tüpü atılmış ve yeni kolleksiyon tüpü takılmıştır.
12. Tüplerin kapakları tek tek açılarak 200'er µl wash buffer II ilave edilmiştir.
13. 2 dakika 13000 xg'de santrifüj edilmiş, sonrasında kolonun altındaki kolleksiyon tüpü atılmış ve kolon 1,5 ml'lik steril ependorf tüplerin içine konulmuştur.
14. Tüm tüplerin kapakları tek tek açılarak elüsyon buffer'dan 100'er µl ilave edilmiştir.
15. 1 dakika 8000 xg'de santrifüj edilmiş ve sonrasında ependorf içindeki kolon atılmıştır.
16. Bu aşamada RNA elde edilmiş olmakla beraber, elüe edilmiş RNA -80 °C'de saklanmıştır.

3.3.2. DNA ve RNA miktar tayini ve saflık derecesinin belirlenmesi

Bakteri kökenlerinden elde edilen DNA ve RNA örneklerinin miktar tayini ve saflık derecesi, elde edilen nükleik asitlerin 1 µl'si kullanılarak NanoDrop 2000 Spectrophotometer (Thermo Fisher Scientific, ABD) cihazında üretici direktifleri doğrultusunda yapılmıştır. 260 nm dalga boyunda ölçülen absorpsiyon değerleri (A260) DNA solüsyonu içerisindeki DNA ve RNA miktarını; 280 nm dalga boyunda ölçülen absorpsiyon değerleri (A280) ise protein miktarını göstermekle beraber, DNA ve RNA örneğinin saflık derecesi 260 ve 280 nm dalga boylarında okunan değerler arasındaki oran (A260/A280) hesaplanarak belirlenmiştir (73). A260/A280 değeri 2 ve üzeri olan örnekler saf olarak kabul edilmiş, diğer örnekler için izolasyon işlemleri tekrar edilmiştir.

3.3.3. RNA örneklerinden komplementer DNA (cDNA) sentezi

RNA izolasyonunun gerçekleştirilmesinin ardından, komplementer DNA (cDNA) sentezi Transcriptor High Fidelity cDNA Synthesis Kit (Roche Diagnostics GmbH, Mannheim, Almanya) kullanılarak üretici firma direktifleri doğrultusunda aşağıdaki aşamalar izlenerek gerçekleştirilmiştir;

1. T100 Termal Cycler (Bio-Rad, Fransa) cihazının açılıp 65 °C'ye gelmesi sağlanmıştır.
2. Kit içerisinde bulunan kimyasallar çözölmüş ve kısa süreli santrifüj (spin) edilerek tekrar buz içerisine yerleştirilmiştir.
3. Her örnek için hazırlanan tüplere 400 ng RNA içerecek ve toplam hacim 11,4 µl olacak şekilde Template-Primer Mix hazırlanmıştır. Mix hazırlanırken Random Hexamer Primer, 600 pmol/ml (şişe 6)'den 2 µl, 400 ng RNA içerecek hacimde RNA örneği ve buna uygun olarak 11,4 µl olan toplam hacmi tamamlayacak kadar Water, PCR Grade (şişe 8) eklenmiştir.
4. Her örnek için yukarıdaki şekilde ayrı ayrı hazırlanan karışımlar kısa süreli santrifüj (spin) edildikten sonra 65 °C'de 10 dakika T100 Thermal Cycler'da inkübasyona bırakılmıştır.
5. Termal Cycler'dan alınan tüpler vakit kaybetmeden soğuk blok üzerine dizilmiştir.
6. Ters transkripsiyon işlemi için gerekli karışım (x örnek sayısı +1 olacak şekilde) farklı bir tüp içerisinde aşağıdaki sırayla hazırlanmıştır;

Transcriptor High Fidelity Reverse Transcriptase Reaction Buffer (şişe 2)	4µl
Protector RNase Inhibitor (şişe 3)	0,5µl
Deoxynucleotide Mix (şişe 4)	2µl
DDT (şişe 7)	1 µl
Transcriptor High Fidelity Reverse Transcriptase (şişe 1)	1,1µl

7. Hazırlanan bu karışımdan her örnek içerisine 8,6 µl pipetlenmiştir (her örnek için toplam hacim 20 µl olmuştur).
8. Tüpler kısa süreli santrifüj (spin) edilmiş ve Termal Cycler cihazına yerleştirilmiştir.
9. T100 Termal Cycler kullanılarak aşağıdaki termal profilde çalışılmıştır;
 - 10 dakika 29 °C
 - 60 dakika 48 °C

5 dakika 85 °C

10. Elde edilen cDNA'lar çalışma yapıncaya kadar -20°C'de muhafaza edilmiştir.

3.3.4. *mgrB* geninin PCR amplifikasyonu

mgrB geni için polimeraz zincir reaksiyonu işlemleri 0,5 ml'lik PCR tüplerinde T100 Thermal Cycler cihazı kullanılarak yapılmıştır. DNA örneklerinin *mgrB* genini kodlayan bölgesinin amplifikasyonu için Tablo 2'de belirtilen *mgrB_ext_F* ve *mgrB_ext_R* primerleri kullanılmıştır (74). PCR reaksiyonu için hazırlanan bütün stok solüsyonlar, otoklav edilmiş DDH₂O ile hazırlanmıştır. Stok solüsyonlar kontaminasyon riskine karşılık küçük miktarlarda (25-100 µl) steril eppendorflara bölünerek kullanıma kadar -18°C'de saklanmıştır. Hedef DNA bölgesinin amplifikasyonundan otomatik sekanslama aşamasına kadar olan tüm işlem basamakları aşağıda verilmiştir;

Tablo 2. *mgrB* gen bölgesi amplifikasyonu için kullanılan primerler.

Primer Adı	Oligonukleotid	Referans
<i>mgrB_ext_F</i>	AAGGCGTTCATTCTACCACC	Cannatelli et al, 2013 (74)
<i>mgrB_ext_R</i>	TTAAGAAGGCCGTGCTATCC	Cannatelli et al, 2013 (74)

Hazırlık aşaması

1. Primer stoklar (20 Mm, Invitrogen)

mgrB_ext_F (forward primer: *mgrB* geninin başlangıç bölgesine bağlanan primer, 5'- AAGGCGTTCATTCTACCACC-3')

mgrB_ext_R (reverse primer: *mgrB* geninin durdurma kodonu sonrasına bağlanan primer 5'- TTAAGAAGGCCGTGCTATCC-3')

2. dNTP mix stok (100 µl'lik stok solüsyonda her biri 25 mM olacak şekilde dATP, dCTP, dGTP ve dTTP karışımı, Promega)

3. Taq DNA polimeraz (HotStarTaq, QIAGEN), 10xTaq DNA polimeraz tampon (HotStarTaq, QIAGEN)

4. 5-10 µl elüsyon buffer içinde çözünmüş saf genomik DNA (50-300 ng)

Uygulama aşaması

1. Primer solüsyonları, dNTP mix, MgCl₂ ve 10xTaq tampon buz üzerinde çözülüş ve buzda tutulmaya devam edilmiştir. Taq DNA polimeraz ise gereksinim duyuluncaya kadar -18°C' de tutulmuştur.
2. PCR amplifikasyonu için kullanılan her bir örnek için 50 µl ölçüdeki reaksiyon karışımı (Taq DNA polimeraz ve DNA örnekleri hariç), örnek sayısına artırılarak 1,5 ml'lik steril eppendorf tüp içerisinde buz üzerine transfer edilmiştir.
3. Reaksiyon karışımından ayrı olarak, her bir örnek için DDH₂O ve DNA örnekleri toplam 10 µl olacak şekilde steril PCR tüpü içerisine transfer edilmiş ve T100 Thermal Cycler kullanılarak 95°C'de 5 dakika ön denatürasyona tabi tutulmuştur.
4. Ön denatürasyonu takiben, tüpler buz ortamına alınıp 5 dakika bekletilmiştir.
5. Taq DNA polimeraz -18°C'den alınarak, buzda bekletilen reaksiyon karışımına hızlı bir şekilde ilave edilmiştir.
6. Reaksiyon karışımı (Tablo 3), her bir örnek için toplam hacim 50 µl olacak şekilde buz üzerinde tüplere transfer edilmiştir.

Tablo 3. *mgrB* için PCR reaksiyon karışımı.

10xTaq tampon	5 µl
MgCl ₂ (25 mM)	1,5 µl
dNTP (25 mM)	1 µl
<i>mgrB_ext_F</i> (20 µM)	2,5 µl
<i>mgrB_ext_R</i> (20 µM)	2,5 µl

Taq DNA polimeraz (250 U) (HotStarTaq, QIAGEN)	0,25 µl
DNA (50-300 ng)	3 µl
DDH ₂ O	34,25 µl
Toplam hacim	50 µl

7. Transfer işleminden hemen sonra PCR reaksiyonu aşağıdaki şartlarda başlatılmıştır (Tablo 4);

Tablo 4. *mgrB* için PCR reaksiyon şartları.

Denatürasyon	Amplifikasyon			Bitiş	Soğuma
Denatürasyon	Bağlanma			Uzama	Uzama
95°C	95°C	54°C	72°C	72°C	4°C
10 dk	30 sn	30 dk	105 sn	10 dk	1 dk
1 döngü	35 döngü			1 döngü	1 döngü

3.3.5. *mgrB* gen bölgesinin DNA dizileme çalışması

PCR amplifikasyon ürünleri elde edildikten sonra izolatların *mgrB* gen bölgesinin saflaştırılması ve baz dizi analizi işlemleri gerçekleştirilmiştir. Baz dizileri MegaBACE 1000 otomatik baz dizileme cihazı (Amersham Biosciences, Birleşik Krallık) kullanılarak üretici direktifleri doğrultusunda okunmuş ve kromatogramları alınmıştır. *mgrB* gen dizileme analizinde de Tablo 2’de daha önce gösterilmiş olan primerler kullanılmıştır.

MegaBACE 1000 cihazından elde edilen kromatogram dosyaları fasta formatına dönüştürüldükten sonra, Sequencher 4.10.1, MEGA 4.1 ve Finch TV programları kullanılarak, iki farklı primerden elde edilen dizilerin birleştirilmesi ile *mgrB* gen

dizileri elde edilmiştir (75). Sonrasında, kolistin dirençli klinik kökenlerden elde edilen baz dizileri kolistine duyarlı *Klebsiella pneumoniae* ATCC 700603 kökeninden elde edilen baz dizisi ile karşılaştırılmıştır. Elde edilen baz dizileri ayrıca <https://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi> web adresi kullanılarak blastlanmış ve analiz edilmiştir.

3.3.6. *mcr-1* ve *mcr-2* real-time PCR çalışması

mcr-1 ve *mcr-2* çalışması Tablo 5’de görülen primerler (76,77) ve Light Cycler 480 SYBR Green I Master (cat no: 04707516001, Roche Diagnostics GmbH, Germany) kiti kullanılarak üretici direktifleri doğrultusunda Light Cycler 480 II (Roche Diagnostics GmbH, Germany) real-time PCR sisteminde gerçekleştirilmiştir.

Tablo 5. *mcr-1* ve *mcr-2* real-time PCR çalışmalarında kullanılan primer dizileri.

Primer adı	Oligonukleotid dizi	Referans
<i>mcr-1</i> -qF1	5-ACACTTATGGCACGGTCTATG-3	Bontron et al, 2016 (76)
<i>mcr-1</i> -qR1	5-GCACACCCAAACCAATGATAC-3	
<i>mcr-2</i> -F	5-ATGACATCACATCACTCTTGG-3	Liassine et al, 2016 (77)
<i>mcr-2</i> -R	5-TTACTGGATAAATGCCGCGC-3	

mcr-1 real-time PCR protokolü için Tablo 6., *mcr-2* real-time PCR protokolü için ise Tablo 7’de görülen PCR karışımları sterile ependorf tüplerinde hazırlanmıştır. Bu hazırlanan karışımlarından 15’er µl, LightCycler plate kuyucuklarına (cat no: 04729692001, Roche Diagnostics GmbH, Germany) pipetlenmiştir.

Tablo 6. *mcr-1* kantitatif real time PCR çalışmalarında bir reaksiyon için hazırlanması gereken karışım miktarları.

Komponent	Miktar
SYBR Green I master miks	10 µl
RNase/DNase içermeyen steril su	3 µl
<i>mcr-1</i> -qF1 (20 µM)	1 µl
<i>mcr-1</i> -qR1 (20 µM)	1 µl
Toplam	15 µl

Tablo 7. *mcr-2* kantitatif real time PCR çalışmalarında bir reaksiyon için hazırlanması gereken karışım miktarları.

Komponent	Miktar
SYBR Green I master miks	10 µl
RNase/DNase içermeyen steril su	3 µl
<i>mcr2</i> -F (20 µM)	1 µl
<i>mcr2</i> -R (20 µM)	1 µl
Toplam	15 µl

Mastermiks ihtiva eden uygun kuyucuklar üzerine bakteri kökenlerinden elde edilen DNA'lardan 5'er µl eklenmiş ve plate kapatıcı ile kapatılmıştır. Plate 1000 xg'de 1 dakika santrifüj edilerek karışımın çökmesi sağlanmıştır. Daha sonra, LightCycler 480 II sisteminde Tablo 8'deki kantitatif real time PCR protokolü kullanılarak çalışılmıştır;

Tablo 8. *mcr-1* ve *mcr-2* kantitatif real time PCR çalışma prosedürü.

Aşama		Siklus sayısı	Süre	Sıcaklık	Okuma
Enzim Aktivasyonu		1	10 dak	95 °C	-
Amplifikasyon	Denatürasyon	45	10 sn	95 °C	-
	Veri toplama		20 sn	60 °C	-
	Uzama		5 sn	72 °C	Tekli
Melting	Denatürasyon		5 sn	95 °C	-
	Bağlanma		60 sn	65 °C	-
	Çözülme		-	97 °C	Sürekli

3.3.7. *pmrA*, *pmrB*, *pmrC*, *pmrD*, *pmrE*, *pmrK*, *phoQ* ve *phoP* genlerinin ekspresyon düzeylerinin saptanması

Elde edilen RNA örneklerinden oluşturulan cDNA'lar ile *pmrA*, *pmrB*, *pmrC*, *pmrD*, *pmrE*, *pmrK*, *phoQ* ve *phoP* genlerinin gen ekspresyonlarının saptanması için Tablo 12'de belirtilen primerler (Integrated DNA Technologies, ABD) kullanılmıştır (74,79,80). Real-time PCR çalışması, iTaq Universal SYBR Green Supermix (Bio-Rad Laboratories, ABD) kiti kullanılarak üretici direktifleri doğrultusunda Bio-Rad CFX96 Real-Time PCR Detection System (Bio-Rad Laboratories, ABD) cihazında gerçekleştirilmiştir. Ekspresyon çalışmalarında *rpsL* geni housekeeping (referens) gen olarak kullanılmıştır. Tüm çalışmalar üç kez tekrar edilmiştir.

Tablo 9. *pmrA*, *pmrB*, *pmrC*, *pmrD*, *pmrE*, *pmrK*, *phoQ* ve *phoP* genlerinin ekspresyon analizleri için kullanılan oligonukleotid primerler.

Primer Adı	Oligonucleotid	Referans
<i>pmrA</i> int F	GAT GAA GAC GGG CTG CAT TT	Jayol et al, 2014 (79)
<i>pmrA</i> int R	ACC GCT AAT GCG ATC CTC AA	Jayol et al, 2014 (79)
<i>pmrB</i> int F	TGC CAG CTG ATA AGC GTC TT	Jayol et al, 2014 (79)
<i>pmrB</i> int R	TTC TGG TTG TTG TGC CCT TC	Jayol et al, 2014 (79)
<i>pmrC</i> int F	GCG TGA TGA ATA TCC TCA CCA	Jayol et al, 2014 (79)
<i>pmrC</i> int R	CAC GCC AAA GTT CCA GAT GA	Jayol et al, 2014 (79)
<i>pmrD</i> int F	GAT CGC AGA GAT TGA AGC CT	Jayol et al, 2014 (79)
<i>pmrD</i> int R	GCG TTG CGG ATC TTC AAA GT	Jayol et al, 2014 (79)
<i>pmrE</i> int F	GCA TAC CGT AAT GCC GAC TA	Jayol et al, 2014 (79)
<i>pmrE</i> int R	GGG TTG ATC TCT GTG ACA TC	Jayol et al, 2014 (79)
<i>pmrK</i> int F	AGT ATC GGT CAG TGG CTG TT	Jayol et al, 2014 (79)
<i>pmrK</i> int R	CCG CTT ATC ACG AAA GAT CC	Jayol et al, 2014 (79)
<i>phoP</i> F	TCT ACC GGG TCA GCG AAT AC	Lee and Ko, 2014 (80)
<i>phoP</i> R	GAT CAG GAT CGG GAA GGA CT	Lee and Ko, 2014 (80)
<i>phoQ</i> F	ATA TGC TGG CGA GAT GGG AAA ACGG	Cannatelli et al, 2013(74)
<i>phoQ</i> R	CCA GCC AGG GAA CAT CAC GCT	Cannatelli et al, 2013(74)
<i>rpsL</i> int F	CCG TGG CGG TCG TGT TAA AGA	Jayol et al, 2014 (79)
<i>rpsL</i> int R	GCC GTA CTT GGA GCG AGC CTG	Jayol et al, 2014 (79)

Real-time PCR protokolü için Tablo 10'daki karışım hazırlanmış ve her kuyucuğa 18'er μl olacak şekilde (*pmrC* geni için 4 μl cDNA kullanılacak olması nedeniyle 16 μl) pipetlenmiştir.

Tablo 10. *pmrA*, *pmrB*, *pmrC*, *pmrD*, *pmrE*, *pmrK*, *phoQ*, *phoP* ve *rpsL* genleri için kantitatif real time PCR çalışmalarında bir reaksiyon için hazırlanan karışım. **pmrC* geni için 4 μl cDNA kullanılacağı için su 4 μl kullanılmak suretiyle toplam miks hacmi 16 μl olarak ayarlanmıştır.

Komponent	Miktar*
SYBR Green I master miks	10 μl
RNAse/DNAse içermeyen steril su	6 μl
Primer (20 μM)	1 μl
Primer (20 μM)	1 μl
Toplam	18 μl

Her bir örnek için toplam 20 μl içerisinde 400 ng RNA içerecek şekilde elde edilen cDNA'ların, hacim 80 μl 'ye tamamlanarak, 4 kat sulandırılması suretiyle elde edilen 5 ng/ μl konsantrasyonundaki örneklerden mastermiks ihtiva eden uygun kuyucukların üzerine, kuyucuklardaki son hacim 20 μl olacak şekilde, *pmrC* geni için 4'er μl (20 ng RNA eşdeğeri cDNA), diğer tüm genler için 2'şer μl (10 ng RNA eşdeğeri cDNA) eklenmiş ve plate kapatıcı ile kapatılmıştır. Sonrasında Bio-Rad CFX96 Detection System kullanılarak Tablo 11'deki kantitatif real time PCR protokolü ile çalışılmıştır;

Tablo 11. *pmrA*, *pmrB*, *pmrC*, *pmrD*, *pmrE*, *pmrK*, *phoQ*, *phoP* ve *rpsL* genleri için kantitatif real time PCR çalışma prosedürü.

Aşama		Siklus sayısı	Süre	Sıcaklık	Okuma
Enzim Aktivasyonu		1	3 dak	95 °C	-
Amplifikasyon	Denatürasyon	45	5 sn	95 °C	-
	Veri toplama		30 sn	55 °C	-
	Uzama		30 sn	72 °C	Tekli
Melting	Denatürasyon		5 sn	95 °C	-
	Bağlanma		5 sn	45 °C	-
	Çözülme		-	95 °C	Sürekli

Elde edilen floresans verileri real-time PCR cihazında otomatik olarak analiz edilmiştir. Amplifikasyon eğrileri kontrol edilerek anlamlı yükselme noktaları olan hedef (*pmrA*, *pmrB*, *pmrC*, *pmrD*, *pmrE*, *pmrK*, *phoQ* ve *phoP*) ve referans gen (*rpsL*) Cq değerleri analiz edilmiştir (81). Ayrıca tüm örnekler için erime eğrisi analizleri de yapılmış, erime eğrileri uyumsuz bulunan kuyucuklardaki örnekler tekrar çalışmaya alınmıştır. Buna göre her bir köken için hedef gen Cq değeri referans gen Cq değerinden çıkarılmak suretiyle test delta Cq değeri bulunmuştur. Ardından bu değerlerin her birinden kontrol kökeni (ATCC 700603) için elde edilmiş olan delta Cq değeri çıkarılmak suretiyle delta delta Cq değeri hesaplanmıştır. Son olarak ekspresyon düzeylerindeki artış oranları $2^{-\Delta\Delta Cq}$ formülü kullanılarak hesaplanmış ve istatistik analizine tabi tutulmuştur. İstatistiksel analiz amacıyla GraphPad Prism v.7.00 yazılımı kullanılmıştır. Değerler ortalama $\pm$ standart hata olarak belirlenmiş, aykırı değer analizi için ROUT yöntemi %1 hassasiyetle uygulanmıştır. Sonrasında D'Agostino & Pearson normalite testi kullanılarak değerlerin normal dağılımı kontrol edilmiştir. Test sonucunda *pmrA*, *pmrB*, *pmrD*, *pmrE* ve *phoP* genleri için elde edilen değerler her iki grupta da normal dağılırken; *pmrC*, *pmrE* ve *phoQ* genleri için en az bir grupta normal

dışında dağılım gözlenmiştir. İstatistiksel anlamlılık analizi amacıyla, hem duyarlı hem de dirençli bakteriler için normal dağılım gözlenen genler için bağımsız T-Test uygulanırken, diğer gruplar için Kolmogorov Smirnov testi uygulanmıştır. İstatistiksel anlamlılık olarak $p < 0,05$ değeri kabul edilmiştir.



4. BULGULAR

4.1. Fenotipik antibiyotik duyarlılık testleri

Çalışmada kullanılan kolistine dirençli *K. pneumoniae* kökenlerinin fenotipik duyarlılık testleri ile alınan sonuçlar ise Tablo 12’de, kolistine duyarlı *K. pneumoniae* kökenlerinin fenotipik duyarlılık testleri ile alınan sonuçlar ise Tablo 13’te, fenotipik testlerin büyük hata (BH) ve çok büyük hata (ÇBH) oranları ise Tablo 14’te gösterilmiştir.

Çalışmada kullanılan fenotipik testler ile alınan sonuçlar değerlendirildiğinde, altın standart olarak kabul edilen sıvı mikrodilüsyon testi kriter olarak alındığında, diğer tüm testlerin güvenilirliği oldukça düşük bulunmuştur. 10µg ve 50µg kolistin içeren diskler ile yapılan disk difüzyon testleri, MIC Test Strip yöntemi ve VITEK 2 otomatize sistemi ile yapılan testler değerlendirildiğinde çok büyük hata (dirençli olan bir kökenin duyarlı bulunması) oranları sırasıyla %40, %85, %40 ve %5; büyük hata (duyarlı olan bir kökenin dirençli bulunması) oranları ise sırasıyla %0, %0, %0 ve %10 olarak belirlenmiştir. Rutin laboratuvarlarda MİK belirlemek amacıyla sıklıkla kullanılan gradiyent strip yöntemi ve kullanımı gittikçe yaygınlaşan otomatize sistemlerden birisi olan VITEK 2 ile alınan hatalı sonuçlar dikkat çekicidir. Buna göre, özellikle çoklu ilaca dirençli gram-negatiflerin neden olduğu ciddi enfeksiyonların tedavisinde çok önemli yer tutan kolistine duyarlılığın, her ne kadar uygulanması diğer yöntemlere oranla daha zor olsa da, mutlaka sıvı dilüsyon testi ile belirlenmesi gerektiği görülmektedir. Aksi taktirde, duyarlılık testleri ile alınan sonuçlara güvenmek çok da mümkün olmayacağı gibi, istenmeyen tedavi başarısızlıkları ile karşılaşılma olasılığı da artacaktır.

Tablo 12. Kolistine dirençli kökenlerin fenotipik duyarlılık test sonuçları ve yorumları.
(Di: dirençli, Du: duyarlı)

Örnek	Sıvı Dilüsyon		VITEK 2		MIC Test Strip		Disk 10µg		Disk 50µg	
	MİK	Yorum	MİK	Yorum	MİK	Yorum	Değer	Yorum	Değer	Yorum
2404	16	Di	≥16	Di	1,5	Du	11	Du	18	Du
2533	>256	Di	≥16	Di	3	Di	7	Di	15	Du
2928	16	Di	≥16	Di	6	Di	12	Du	15	Du
3150	>32	Di	≥16	Di	4	Di	7	Di	16	Du
3742	>32	Di	≥16	Di	2	Du	12	Du	19	Du
3886	>32	Di	≥16	Di	6	Di	10	Di	15	Du
3905	>32	Di	≥16	Di	6	Di	8	Di	16	Du
3908	32	Di	≥16	Di	4	Di	13	Du	17	Du
3948	>32	Di	≥16	Di	2	Du	9	Di	16	Du
3969	32	Di	≥16	Di	4	Di	10	Di	14	Di
3989	16	Di	≥16	Di	1,5	Du	12	Du	17	Du
4022	>32	Di	≥16	Di	0,75	Du	12	Du	18	Du
4077	16	Di	≥16	Di	3	Di	10	Di	16	Du
4083	>32	Di	≥16	Di	3	Di	9	Di	16	Du
4109	>32	Di	≥16	Di	8	Di	6	Di	14	Di
4111	>32	Di	8	Di	1,5	Du	13	Du	17	Du
4114	32	Di	2	Du	1	Du	13	Du	17	Du
4423	>32	Di	≥16	Di	1	Du	8	Di	16	Du
4448	>32	Di	≥16	Di	16	Di	7	Di	10	Di
4482	>32	Di	≥16	Di	6	Di	6	Di	15	Du
ATCC 25922	1	Du	≤0,5	Du	0,75	Du	12	Du	20	Du

Tablo 13. Kolistine duyarlı kökenlerin fenotipik duyarlılık test sonuçları ve yorumları.
(Di: dirençli, Du: duyarlı)

Örnek	Sıvı Dilüsyon		VITEK 2		MIC Test Strip		Disk 10µg		Disk 50µg	
	MİK	Yorum	MİK	Yorum	MİK	Yorum	Değer	Yorum	Değer	Yorum
2028	1	Du	≤0,5	Du	0,75	Du	12	Du	16	Du
2320	1	Du	≤0,5	Du	0,75	Du	12	Du	16	Du
9567	1	Du	≤0,5	Du	1,5	Du	13	Du	17	Du
2773	1	Du	≤0,5	Du	0,75	Du	12	Du	16	Du
2711	1	Du	≤0,5	Du	1	Du	12	Du	16	Du
2708	1	Du	≤0,5	Du	1	Du	12	Du	16	Du
2322	1	Du	≤0,5	Du	1	Du	13	Du	17	Du
2223	1	Du	≤0,5	Du	0,75	Du	12	Du	16	Du
2022	1	Du	≤0,5	Du	1	Du	12	Du	16	Du
1956	1	Du	≤0,5	Du	0,75	Du	12	Du	16	Du
1511	1	Du	≤0,5	Du	0,75	Du	12	Du	16	Du
1423	1	Du	≤0,5	Du	0,75	Du	14	Du	17	Du
55	1	Du	≤0,5	Du	0,75	Du	12	Du	16	Du
50	1	Du	≤0,5	Du	1,5	Du	12	Du	16	Du
1287	1	Du	≤0,5	Du	1,5	Du	13	Du	16	Du
2388	1	Du	≤0,5	Du	0,75	Du	13	Du	17	Du
2399	1	Du	≤0,5	Du	1	Du	13	Du	17	Du
2717	1	Du	≥16	Di	0,75	Du	12	Du	16	Du
2274	1	Du	≤0,5	Du	0,75	Du	12	Du	16	Du
3701	1	Du	≥16	Di	1	Du	12	Du	16	Du
ATCC 25922	1	Du	≤0,5	Du	0,75	Du	12	Du	20	Du

Tablo 14. Sıvı mikrodilüsyon testi ile kıyaslandığında diğer fenotipik testlerin büyük hata (BH) ve çok büyük hata (ÇBH) oranları.

Hata oranları	10µg disk	50µg disk	MIC Test Strip	VITEK 2
BH	%0	%0	%0	%10
ÇBH	%40	%85	%40	%5

4.2. Direncin moleküler temelini araştırılması

Moleküler çalışmalar kapsamında, ilk olarak kolistin direncinden sorumlu olabileceği düşünülen *mgrB* geninde mutasyonu varlığı araştırılmıştır. Bu amaçla, kolistin dirençli klinik kökenlerden elde edilen baz dizileri kolistine duyarlı *Klebsiella pneumoniae* ATCC 700603 kökeninden elde edilen baz dizisi ile karşılaştırılmış ve herhangi bir mutasyona rastlanmamıştır. Ayrıca tüm kolistine dirençli kökenlerinden elde edilen 251 nükleotid uzunluğundaki baz dizisi <https://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi> web adresi kullanılarak blastlandığında PhoP/PhoQ regülör *mgrB* gen bölgesi ile (Accession:WP_080853197) %100 uyum göstermiştir (Şekil 1).

Şekil 1. Test kökenlerinden elde edilen *mgrB* gen bölgesi aminosit diziliminin “PhoP/PhoQ regülör *mgrB*” (Accession: WP_080853197) gen bölgesi ile uyumu.

PhoP/PhoQ regülör MgrB [<i>Klebsiella pneumoniae</i>]						
Sequence ID: WP_080853197.1 Length: 45 Number of Matches: 1						
Range 1: 2 to 45 GenPept Graphics			▼ Next Match ▲ Previous Match			
Score	Expect	Method	Identities	Positives	Gaps	Frame
89.4 bits(220)	4e-22	Compositional matrix adjust.	44/44(100%)	44/44(100%)	0/44(0%)	+1
Query 61	LRWLLIVIIAGCLLLWTQMLNVMCDQDVQFFSGICTINKFIPW					192
Sbjct 2	LRWLLIVIIAGCLLLWTQMLNVMCDQDVQFFSGICTINKFIPW					45

Kolistin direncinden sorumlu olduğu bilinen olan plazmid ilişkili *mcr-1* ve *mcr-2* genlerinin varlığı araştırılmış, elde edilen floresans verileri real-time PCR cihazında otomatik olarak analiz edilmiştir. Çalışmada negatif kontrol olarak kolistine duyarlı *Klebsiella pneumoniae* ATCC 700603 kökeni kullanılmıştır. İnceleme neticesinde kökenlerin hiçbirinde *mcr-1* ve *mcr-2* gen varlığına rastlanmamıştır.

Şekil 2. *mcr-1* negatif bulunan kökenlerden bazılarının jel elektroforezi görüntüleri*.



*3. kuyucukta pozitif olarak görünen bant, çalışmada kontrol olarak kullanılan ve *mcr-1* pozitif olduğu bilinen *Escherichia coli* kökeninden izole edilen örneğe aittir.

Literatürde ekspresyon düzeylerindeki artışların kolistin direncinden sorumlu olabileceği belirtilmiş olan *pmrA*, *pmrB*, *pmrC*, *pmrD*, *pmrE*, *pmrK*, *phoP* ve *phoQ* genlerinin ekspresyon düzeyleri incelenerek kolistine duyarlı kökenler ile karşılaştırıldığında, bunlardan *pmrA*, *pmrB*, *pmrD*, *pmrK*, *phoP* ve *phoQ* genlerinin ekspresyon düzeylerinde istatistiksel olarak anlamlı ($p < 0,05$) artış saptanmıştır. Sonuçların istatistiksel değerlendirilmesinde, sayısal değerlerin parametrik dağılım göstermiş olduğu *pmrA*, *pmrB*, *pmrD*, *pmrE* ve *phoP* genleri için t-test, nonparametrik dağılım saptanan *pmrC*, *pmrE* ve *phoQ* genleri için ise Kolmogorov Smirnov testi kullanılmıştır. *pmrA* geni için 55, 2022, 2274 ve 2322; *pmrB* geni için 4482; *pmrC* geni için 3908; *pmrD* geni için 1287 ve 4482; *pmrE* geni için 4482; *phoP* geni için 2711 ve *phoQ* geni için 55 numaralı örneklerin sonuçları aykırı değer analizi doğrultusunda istatistiksel değerlendirmeden çıkarılmıştır. Farklı genler için ekspresyon ölçüm sonuçları ve Tablo 17-24'te, duyarlı ve dirençli kökenler için bu sonuçların ortalama değerleri ise Tablo 25'te gösterilmiştir.

Tablo 17. Kökenlerin *pmrA* gen ekspresyon analizi sonuçları.

Duyarlı Kökenler				Dirençli Kökenler			
Örnek Numarası	pmrA Mean Cq	rpsL Mean Cq	2 ^{-ΔΔCq}	Örnek Numarası	pmrA Mean Cq	rpsL Mean Cq	2 ^{-ΔΔCq}
50	35,12	24,27	0,52	2404	29,44	23,54	20,20
55	28,09	23,61	43,36	2928	29,37	23,16	16,31
1287	32,67	22,05	0,61	3150	28,87	22,51	14,73
1423	32,13	22,98	1,70	3533	29,16	22,14	9,31
1511	30,98	22,29	2,34	3742	29,59	22,90	11,71
1956	32,95	22,33	0,61	3869	29,52	22,75	11,08
2022	29,83	23,59	12,79	3886	29,82	22,77	9,16
2028	32,35	23,04	1,53	3905	30,47	23,28	8,31
2223	32,67	23,33	1,48	3908	30,20	22,86	7,51
2274	30,55	24,78	17,63	3948	32,73	22,56	1,06
2320	34,13	22,52	0,31	3989	30,54	22,59	4,91
2322	30,92	23,70	6,46	4022	28,99	21,64	7,42
2388	32,90	24,62	3,11	4077	29,81	22,85	9,75
2399	32,58	23,82	2,23	4083	30,79	24,01	11,04
2708	33,60	24,57	1,84	4109	33,64	22,41	0,51
2711	35,73	21,94	0,07	4111	31,88	23,36	3,30
2717	34,01	23,83	0,83	4114	31,48	22,79	2,95
2773	32,73	22,92	1,08	4423	34,55	23,44	0,55
3701	33,49	24,22	1,57	4448	31,84	24,44	7,19
9567	34,41	23,22	0,41	4482	32,02	21,61	0,90
ATCC	32,79	22,87	1,00	ATCC	32,14	21,89	1,00

Tablo 18. Kökenlerin *pmrB* gen ekspresyon analizi sonuçları.

Duyarlı Kökenler				Dirençli Kökenler			
Örnek Numarası	pmrB Mean Cq	rpsL Mean Cq	2 ^{-ΔΔCq}	Örnek Numarası	pmrB Mean Cq	rpsL Mean Cq	2 ^{-ΔΔCq}
50	27,88	24,27	0,71	2404	25,46	23,54	2,96
55	27,24	23,61	0,70	2928	26,61	23,16	1,03
1287	27,71	22,05	0,17	3150	26,90	22,51	0,53
1423	28,43	22,98	0,20	3533	25,05	22,14	1,50
1511	27,34	22,29	0,26	3742	26,05	22,90	1,26
1956	27,39	22,33	0,26	3869	27,31	22,75	0,47
2022	27,04	23,59	0,79	3886	27,23	22,77	0,51
2028	28,35	23,04	0,22	3905	27,21	23,28	0,74
2223	28,38	23,33	0,26	3908	24,61	22,86	3,36
2274	29,77	24,78	0,27	3948	27,52	22,56	0,36
2320	30,55	22,52	0,03	3989	26,34	22,59	0,84
2322	27,52	23,70	0,61	4022	26,27	21,64	0,45
2388	28,47	24,62	0,60	4077	25,40	22,85	1,92
2399	27,84	23,82	0,53	4083	26,27	24,01	2,35
2708	28,18	24,57	0,71	4109	26,47	22,41	0,68
2711	31,19	21,94	0,01	4111	27,80	23,36	0,52
2717	28,09	23,83	0,45	4114	25,00	22,79	2,44
2773	28,80	22,92	0,15	4423	26,62	23,44	1,24
3701	28,43	24,22	0,47	4448	27,46	24,44	1,39
9567	28,45	23,22	0,23	4482	22,06	21,61	8,28
ATCC	25,98	22,87	1,00	ATCC	25,38	21,89	1,00

Tablo 19. Kökenlerin *pmrC* gen ekspresyon analizi sonuçları.

Duyarlı Kökenler				Dirençli Kökenler			
Örnek Numarası	pmrC Mean Cq	rpsL Mean Cq	$2^{-\Delta\Delta Cq}$	Örnek Numarası	pmrC Mean Cq	rpsL Mean Cq	$2^{-\Delta\Delta Cq}$
50	28,12	24,27	1440,42	2404	26,21	23,54	1656,56
55	27,43	23,61	1470,94	2928	27,33	23,16	584,57
1287	27,05	22,05	648,84	3150	27,82	22,51	265,21
1423	28,55	22,98	436,22	3533	25,45	22,14	1064,85
1511	27,83	22,29	446,67	3742	26,09	22,90	1160,91
1956	28,22	22,33	349,38	3869	29,83	22,75	77,85
2022	27,49	23,59	1385,88	3886	27,57	22,77	379,99
2028	28,50	23,04	471,46	3905	27,83	23,28	450,56
2223	32,42	23,33	37,94	3908	24,29	22,86	3918,32
2274	29,72	24,78	671,79	3948	27,64	22,56	312,90
2320	28,04	22,52	453,20	3989	27,35	22,59	390,55
2322	28,24	23,70	885,50	4022	27,18	21,64	227,09
2388	28,61	24,62	1306,31	4077	25,39	22,85	1820,60
2399	27,93	23,82	1198,79	4083	26,85	24,01	1478,08
2708	28,37	24,57	1491,81	4109	27,17	22,41	389,28
2711	27,72	21,94	376,12	4111	28,27	23,36	352,07
2717	29,43	23,83	425,18	4114	25,54	22,79	1576,38
2773	29,11	22,92	284,23	4423	26,48	23,44	1281,13
3701	28,24	24,22	1275,37	4448	27,46	24,44	1302,13
9567	28,94	23,22	394,31	4482	30,52	21,61	22,04
ATCC	37,21	22,87	1,00	ATCC	35,26	21,89	1,00

Tablo 20. Kökenlerin *pmrD* gen ekspresyon analizi sonuçları.

Duyarlı Kökenler				Dirençli Kökenler			
Örnek Numarası	pmrD Mean Cq	rpsL Mean Cq	2 ^{-ΔΔCq}	Örnek Numarası	pmrD Mean Cq	rpsL Mean Cq	2 ^{-ΔΔCq}
50	30,54	24,27	1341,70	2404	28,23	23,54	7185,81
55	29,79	23,61	1430,11	2928	28,67	23,16	4091,67
1287	27,40	22,05	2547,46	3150	27,96	22,51	4257,16
1423	30,79	22,98	463,78	3533	29,12	22,14	1476,40
1511	30,48	22,29	354,78	3742	28,70	22,90	3354,84
1956	30,79	22,33	296,00	3869	28,62	22,75	3191,66
2022	30,26	23,59	1020,50	3886	28,45	22,77	3629,85
2028	30,94	23,04	434,97	3905	29,38	23,28	2711,35
2223	30,97	23,33	520,15	3908	27,21	22,86	9178,82
2274	31,94	24,78	722,37	3948	28,84	22,56	2391,93
2320	32,54	22,52	99,73	3989	28,87	22,59	2404,48
2322	31,06	23,70	631,99	4022	28,33	21,64	1797,34
2388	31,95	24,62	644,81	4077	27,65	22,85	6712,02
2399	30,77	23,82	838,28	4083	29,46	24,01	4246,58
2708	31,65	24,57	764,59	4109	26,83	22,41	8706,63
2711	33,22	21,94	41,54	4111	28,17	23,36	6651,85
2717	31,76	23,83	423,55	4114	32,65	22,79	200,89
2773	30,65	22,92	487,13	4423	29,26	23,44	3297,35
3701	30,91	24,22	1004,02	4448	28,32	24,44	12727,73
9567	30,35	23,22	741,32	4482	24,45	21,61	26050,72
ATCC	39,53	22,87	1,00	ATCC	39,40	21,89	1,00

Tablo 21. Kökenlerin *pmrE* gen ekspresyon analizi sonuçları.

Duyarlı Kökenler				Dirençli Kökenler			
Örnek Numarası	pmrE Mean Cq	rpsL Mean Cq	2 ^{-ΔΔCq}	Örnek Numarası	pmrE Mean Cq	rpsL Mean Cq	2 ^{-ΔΔCq}
50	28,09	24,27	1,96	2404	26,99	23,54	4,56
55	33,45	23,61	0,03	2928	27,67	23,16	2,20
1287	33,83	22,05	0,01	3150	27,72	22,51	1,35
1423	25,70	22,98	4,21	3533	27,24	22,14	1,46
1511	26,16	22,29	1,90	3742	26,69	22,90	3,61
1956	26,50	22,33	1,54	3869	27,03	22,75	2,57
2022	25,33	23,59	8,33	3886	27,02	22,77	2,63
2028	28,49	23,04	0,64	3905	27,54	23,28	2,61
2223	26,34	23,33	3,44	3908	26,45	22,86	4,18
2274	31,04	24,78	0,36	3948	28,37	22,56	0,89
2320	31,99	22,52	0,04	3989	26,75	22,59	2,82
2322	34,03	23,70	0,02	4022	26,17	21,64	2,16
2388	27,40	24,62	4,03	4077	35,22	22,85	0,01
2399	26,70	23,82	3,76	4083	28,05	24,01	3,03
2708	26,08	24,57	9,74	4109	27,59	22,41	1,39
2711	33,58	21,94	0,01	4111	28,01	23,36	1,99
2717	26,63	23,83	3,98	4114	27,69	22,79	1,68
2773	25,92	22,92	3,46	4423	27,38	23,44	3,25
3701	26,84	24,22	4,50	4448	29,23	24,44	1,82
9567	25,73	23,22	4,89	4482	24,31	21,61	7,72
ATCC	27,67	22,87	1,00	ATCC	27,54	21,89	1,00

Tablo 22. Kökenlerin *pmrK* gen ekspresyon analizi sonuçları.

Duyarlı Kökenler				Dirençli Kökenler			
Örnek Numarası	pmrK Mean Cq	rpsL Mean Cq	2- $\Delta\Delta Cq$	Örnek Numarası	pmrK Mean Cq	rpsL Mean Cq	2- $\Delta\Delta Cq$
50	32,57	24,27	2,28	2404	26,69	23,54	1794,81
55	31,20	23,61	3,75	2928	27,06	23,16	1066,95
1287	31,94	22,05	0,76	3150	28,46	22,51	258,66
1423	31,83	22,98	1,57	3533	28,99	22,14	138,81
1511	32,01	22,29	0,86	3742	27,97	22,90	477,23
1956	31,84	22,33	0,99	3869	27,09	22,75	787,33
2022	31,83	23,59	2,38	3886	28,24	22,77	360,67
2028	31,48	23,04	2,08	3905	28,53	23,28	420,00
2223	30,39	23,33	5,41	3908	28,00	22,86	453,47
2274	31,62	24,78	6,27	3948	28,39	22,56	280,33
2320	30,23	22,52	3,43	3989	27,75	22,59	448,02
2322	31,78	23,70	2,66	4022	29,29	21,64	79,65
2388	33,36	24,62	1,68	4077	27,79	22,85	522,86
2399	30,62	23,82	6,47	4083	30,93	24,01	131,69
2708	34,83	24,57	0,59	4109	27,55	22,41	452,95
2711	29,61	21,94	3,53	4111	27,10	23,36	1197,80
2717	31,19	23,83	4,37	4114	29,96	22,79	111,81
2773	28,96	22,92	10,91	4423	28,65	23,44	430,87
3701	31,91	24,22	3,49	4448	28,51	24,44	952,67
9567	30,39	23,22	5,01	4482	25,56	21,61	1042,28
ATCC	32,36	22,87	1,00	ATCC	35,86	21,89	1,00

Tablo 23. Kökenlerin *phoP* gen ekspresyon analizi sonuçları.

Duyarlı Kökenler				Dirençli Kökenler			
Örnek Numarası	phoP Mean Cq	rpsL Mean Cq	2 ^{-ΔΔCq}	Örnek Numarası	phoP Mean Cq	rpsL Mean Cq	2 ^{-ΔΔCq}
50	32,11	24,27	0,46	2404	32,02	23,54	1,38
55	31,34	23,61	0,50	2928	31,27	23,16	1,79
1287	31,78	22,05	0,12	3150	31,02	22,51	1,36
1423	32,00	22,98	0,20	3533	36,10	22,14	0,03
1511	31,18	22,29	0,22	3742	31,20	22,90	1,57
1956	32,41	22,33	0,10	3869	31,89	22,75	0,88
2022	30,68	23,59	0,77	3886	31,87	22,77	0,90
2028	31,34	23,04	0,33	3905	32,36	23,28	0,91
2223	31,46	23,33	0,37	3908	31,07	22,86	1,68
2274	33,19	24,78	0,31	3948	31,05	22,56	1,38
2320	30,72	22,52	0,36	3989	30,93	22,59	1,54
2322	31,47	23,70	0,48	4022	30,27	21,64	1,25
2388	31,93	24,62	0,66	4077	30,67	22,85	2,19
2399	33,19	23,82	0,16	4083	36,89	24,01	0,07
2708	31,47	24,57	0,88	4109	31,05	22,41	1,24
2711	24,56	21,94	17,09	4111	32,27	23,36	1,03
2717	32,26	23,83	0,30	4114	32,29	22,79	0,69
2773	30,41	22,92	0,58	4423	31,54	23,44	1,80
3701	31,91	24,22	0,51	4448	32,18	24,44	2,33
9567	31,46	23,22	0,35	4482	29,09	21,61	2,79
ATCC	29,59	22,87	1,00	ATCC	30,85	21,89	1,00

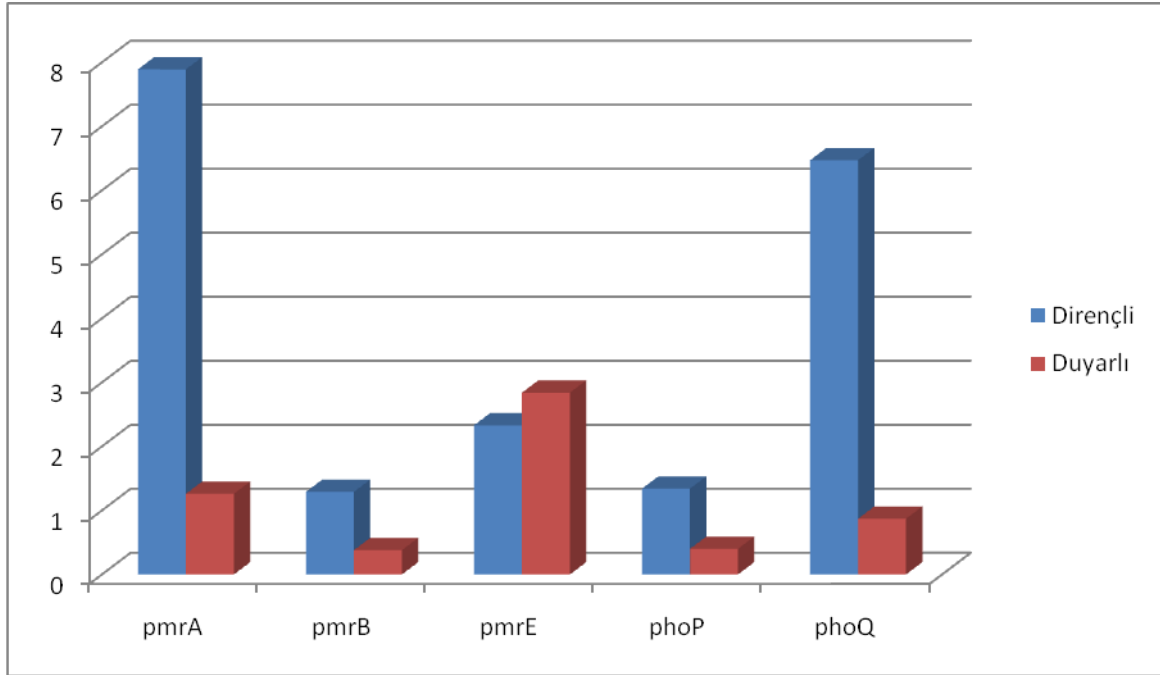
Tablo 24. Kökenlerin *phoQ* gen ekspresyon analizi sonuçları.

Duyarlı Kökenler				Dirençli Kökenler			
Örnek Numarası	phoQ Mean Cq	rpsL Mean Cq	2 ^{-ΔΔCq}	Örnek Numarası	phoQ Mean Cq	rpsL Mean Cq	2 ^{-ΔΔCq}
50	28,76	24,27	0,91	2404	27,03	23,54	7,52
55	25,95	23,61	4,05	2928	27,26	23,16	4,91
1287	26,80	22,05	0,76	3150	26,88	22,51	4,09
1423	27,58	22,98	0,84	3533	27,02	22,14	2,86
1511	27,31	22,29	0,63	3742	26,40	22,90	7,48
1956	27,89	22,33	0,44	3869	27,15	22,75	4,01
2022	27,25	23,59	1,63	3886	26,55	22,77	6,16
2028	28,11	23,04	0,61	3905	27,06	23,28	6,15
2223	28,07	23,33	0,77	3908	26,22	22,86	8,28
2274	28,57	24,78	1,48	3948	26,24	22,56	6,61
2320	31,55	22,52	,0,04	3989	26,43	22,59	5,92
2322	28,35	23,70	0,81	4022	26,86	21,64	2,26
2388	27,87	24,62	2,16	4077	25,61	22,85	12,54
2399	28,62	23,82	0,74	4083	27,94	24,01	5,56
2708	29,09	24,57	0,89	4109	26,60	22,41	4,65
2711	27,97	21,94	0,31	4111	27,21	23,36	5,86
2717	28,37	23,83	0,88	4114	29,02	22,79	1,13
2773	27,88	22,92	0,66	4423	27,21	23,44	6,18
3701	28,28	24,22	1,23	4448	27,26	24,44	11,99
9567	27,94	23,22	0,78	4482	24,09	21,61	15,23
ATCC	27,23	22,87	1,00	ATCC	28,30	21,89	1,00

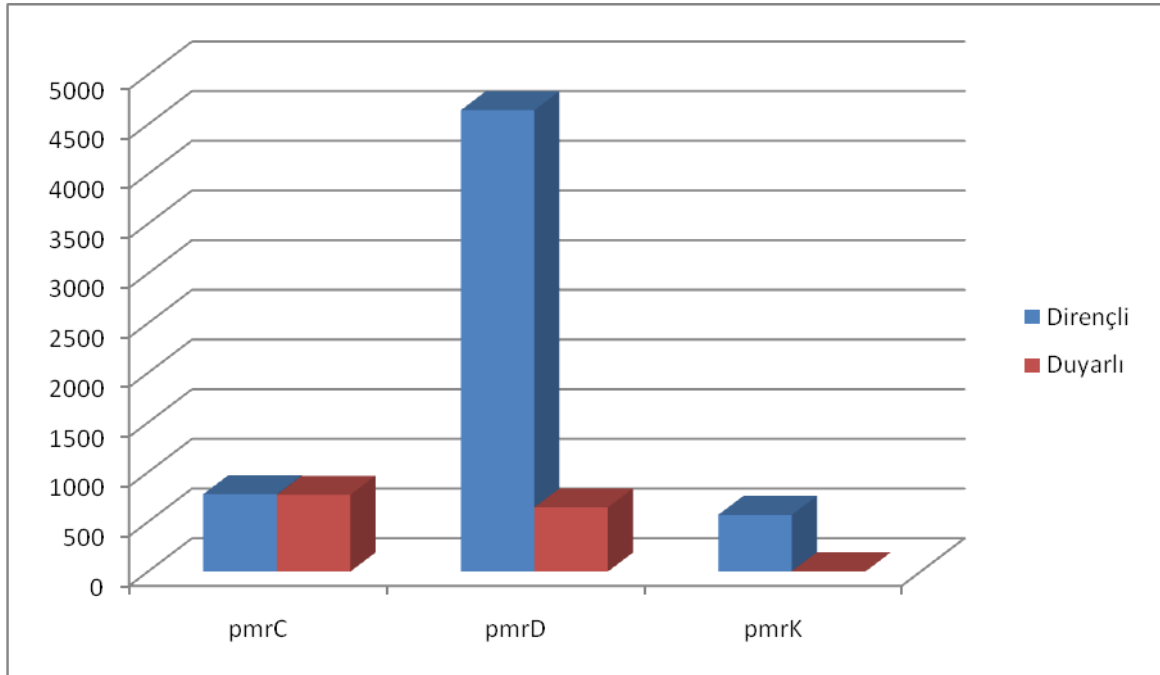
Tablo 25. Kolistine duyarlı (Du) ve dirençli (Di) kökenlerin ekspresyon düzeyleri araştırılan genler için aykırı değer analizi sonrası ortalama 2^{-ΔΔCq} değerleri.

Gen	pmrA	pmrB	pmrC	pmrD	pmrE	pmrK	phoP	phoQ
Di Ortalama	7,89	1,29	778,57	4642,86	2,33	570,44	1,34	6,47
Du Ortalama	1,26	0,38	772,52	645,33	2,84	3,42	0,4	0,87
Di/Du oranı	6,26	3,39	1,01	7,19	0,82	166,80	3,35	7,44

Şekil 3. Kolistine duyarlı ve dirençli kökenlerin *pmrA*, *pmrB*, *pmrE*, *phoP* ve *phoQ* genleri için tespit edilen ortalama $2^{-\Delta\Delta C_q}$ değerleri.



Şekil 4. Kolistine duyarlı ve dirençli kökenlerin *pmrC*, *pmrD* ve *pmrK* genleri için tespit edilen ortalama $2^{-\Delta\Delta C_q}$ değerleri.



Sonuç olarak, çalışmamıza dahil edilen kolistin dirençli kökenlerde araştırılan direnç mekanizmalarından bazıları tespit edilmiştir. Her ne kadar *mcrB* geninde mutasyon ve *mcr-1/mcr-2* genlerinin barındıran plazmidlerin varlığı saptanamamış olsa da, kolistin direnci ile sıklıkla ilişkilendirilen gen bölgelerinden *pmrA*, *pmrB*, *pmrD*, *pmrK*, *phoP* ve *phoQ* bölgelerinin ekspresyonlarında ise anlamlı dercede artış saptanmıştır (*pmrA* için $p<0,0001$, *pmrB* için $p=0,0001$, *pmrD* için $p<0,0001$, *pmrK* için $p<0,0001$, *phoP* için $p<0,0001$ ve *phoQ* için $p<0,0001$).



5. TARTIŞMA

Antimikrobiyal direnç sorununun, her ne kadar kompleks ve anlaşılması zor olsa da, son dönemde fark edilen çok önemli bir boyutu, dirençli bakterilerin ortaya çıkma ve yayılma hızının antibiyotiklerin geliştirilme hızını aşmış olmasıdır. Önceleri penisilin ve metisilin direnciyle gündeme gelen *S. aureus*, ardından vankomisin dirençli enterokoklar sorun oluştururken, günümüzde birçok antibiyotiğe birden dirençli gram-negatif bakterilerin neden olduğu enfeksiyonlar, neredeyse tedavi edilemeyecek kadar, büyük sorun oluşturmaktadır (82).

2015 EARRS-Net verileri incelendiğinde, antimikrobiyal direncin Avrupa ülkeleri arasında ciddi coğrafi farklılıklar göstermekte olduğu ifade edilmiştir. Genel olarak, Kuzey Avrupa ülkelerinde direnç oranları düşük iken, Güney ve Doğu Avrupa da yüksek oranda bulunmaktadır. Bu farklılığın büyük oranda antimikrobiyal kullanımı ve enfeksiyon kontrol önlemlerinin uygulanma şekillerine bağlı olduğu düşünülmektedir. Özellikle gram-negatif bakterilerdeki direnç sorununa bakıldığında, Avrupa'nın bazı ülkelerinde yüksek direnç oranları gözlenmekte iken, bazı ülkelerde ise direncin henüz artmakta olduğu görülmektedir. Raporda, özellikle 2012-2015 yılları arasında *E. coli* ve *K. pneumoniae* kökenlerinde görülen 3. kuşak sefalosporin direncinin ciddi şekilde arttığı ve bu direncin çoğu zaman kinolon ve aminoglikozid direnci ile beraber görülmekte olduğu belirtilmiştir. Ayrıca bu durumun karbapenem kullanımının artmasına neden olduğu ve sonuç olarak da karbapenem dirençli bakterilerin hızla yayılmaya başladığına dikkat çekilmiştir. Karbapenem direncinin Avrupa ülkeleri arasında yüzde 0-61 oranında değişkenlik gösterdiği, bununla beraber özellikle *K. pneumoniae* kökenlerinde görülen artışın dikkat çekici olduğu ifade edilmiştir. Bunun yanı sıra, karbapenem direncinin *Acinetobacter* ve *P. aeruginosa* kökenlerinde de oldukça yüksek olduğu ifade edilmekle beraber, özellikle bazı ülkelerde *Acinetobacter* kökenlerinde direnç oranlarının %80'lere ulaştığı bildirilmiştir. Karbapenem ve diğer önemli antibiyotik gruplarına dirençli bu bakterilerde, önemli bir tedavi seçeneği olan kolistin direncinin durumuna ilişkin, 2015 raporu itibarıyla, net bir veri olmamakla beraber, özellikle karbapenem direncinin yaygın olduğu ülkelerde kolistin direncinin de sorun teşkil etmekte olduğu bildirilmiştir (83).

Karbapenem direncinin en üst düzeylerde olduğu ülkelerden olan Türkiye’de kolistin direncini araştıran çok sayıda çalışma bulunmamakla beraber; yapılan en kapsamlı çalışmalardan birinde Ergönül ve ark., kan kültürlerinden izole edilen *K. pneumoniae* kökenlerinde kolistin direnç oranını %6 olarak tespit etmişlerdir (84). Bununla beraber, son dönemde gerek karbapenem dirençli gram-negatif bakterilerin neden olduğu enfeksiyonların oranındaki yükselme nedeniyle artan kolistin kullanımı, gerekse de plazmid kaynaklı direncin yayılma olasılığı ülkemizde direnç durumunun yakından takibini gerekli kılmaktadır. Ancak herşeyden önce, kolistin direncinin saptanma yöntemleri başlı başına ele alınması gereken bir konu olarak karşımıza çıkmaktadır. Ülkemizde antimikrobiyal direncin tespiti amacıyla sıklıkla disk difüzyon, MİK belirlenmesi gereken durumlarda ise genellikle gradient strip testleri kullanılmaktadır. Büyük kapasiteli bazı hastaneler, ancak son yıllarda, otomatize sistemler ile MİK belirlemeye başlamışlardır. Kolistin duyarlılığı söz konusu olduğunda, bu yöntemlerin tamamının güvenilirliği tartışmalıdır. Özellikle disk difüzyon testinin kolistin duyarlılığını belirlemede uygun olmadığı, gradient strip yönteminin ise yüksek oranda yalancı duyarlı sonuçlar verebildiği ortaya konmuştur. Bunlardan gradient strip testlerinin çok büyük hata (dirençli olan bir kökenin duyarlı bulunması) oranlarının oldukça yüksek bulunduğu çalışmalar mevcuttur. Dafopoulou ve ark., *K. pneumoniae* kökenleri için gradient strip yönteminin büyük hata oranını %2,4 olarak, çok büyük hata oranını ise %41,5 olarak tespit etmişlerdir (85). Yine benzer bir çalışmada Chew ve ark., gradient strip yönteminin büyük hata oranını %5,9 bulurken, çok büyük hata oranını ise %12 olarak belirlemişlerdir (86). Tüm bu verilere istinaden, antimikrobiyal duyarlılık testlerinin standardizasyonunda ülkemizde de sıklıkla takip edilen kurumlar olan EUCAST ve CLSI, kolistin duyarlılığının sıvı dilüsyon testi ile belirlenmesi gerektiğini açıklamışlardır (25,87). Bununla beraber, son yıllarda sıklıkla kullanılan otomatize sistemler ile alınan sonuçların güvenilirliğini tartışan çok sayıda çalışma mevcuttur. Özellikle *Enterobacteriaceae* kökenleri ile yapılan çalışmalara baktığımızda; Chew ve ark., sıvı dilüsyon yöntemini standart olarak kabul ettikleri çalışmada VITEK 2, Sensititre ve Microscan sistemlerinin çok büyük hata oranlarını sırasıyla %36, %4 ve %4 olarak; büyük hata oranlarını ise %0, %11,8 ve %15,8 olarak bulmuşlardır (86). Gattermann ve ark. tarafından 2017 ECCMID Kongresi’nde sunulan bildiride ise, VITEK 2 ve Micronaud sistemleri ile yapılan çalışmada sıvı dilüsyon ile karşılaştırıldığında çok büyük hata oranları sırasıyla %29,4 ve %4 olarak bulunmuştur

(88). Buna benzer birçok çalışma yayınlanmış olup, kolistin duyarlılığı için otomatize sistemler ile alınan sonuçların güvenilirliği halen tartışmalı olarak değerlendirilmektedir. Bu çalışmada da VITEK 2 otomatize sistemi ile elde edilen büyük hata oranı %10, çok büyük hata oranı ise %5 olarak belirlenmiş olmakla beraber; sıvı mikrodilüsyon yöntemi dışındaki yöntemlerin kolistin duyarlılığını belirlemede yeterli olmadıkları gözlenmiştir.

K. pneumoniae kökenlerinde kolistin direncine neden olan mekanizmaların incelendiği çalışmalara bakıldığında ise, en sık sorumlu tutulan mekanizmanın kromozomal genler üzerinde kodlanan *phoP/phoQ* ve *pmrA/pmrB* gibi hücre membranı üzerinde etkili regülatuar sistemlerde gerçekleşen mutasyonlar neticesinde kolistin hedefi olan lipopolisakkarit tabakanın modifikasyonu olduğu saptanmıştır. Örneğin, *pmrA/pmrB* regülatuar sisteminin aktivasyonunun sırasıyla PEtN ve L-Ara4N moleküllerinin sentezi ve lipid A'ya transferini sağlayan *pmrCAB* ve *arnBCADTEF-pmrE* (diğer adıyla *pmrHFIJKLM-ugd*) operonlarının upregülasyonuna neden olduğu; *phoP/phoQ* regülatuar sisteminin aktivasyonunun ise *pmrA/pmrB* regülatuar sistemini *pmrD* üzerinden indirekt olarak aktive ettiği ve dirence katkıda bulunduğu saptanmıştır (27). L-Ara4N, lipid A modifikasyonunda en önemli moleküllerden birisi olarak görülmekle beraber, Helander ve ark., bu molekülün kolistine dirençli kökenlerin lipid A yapısında 5 kat daha fazla bulunduğunu göstermişlerdir (32). 2009 yılında Lippa ve ark., 47 aminoasitten oluşan bir peptid kodlayan *mgrB* genindeki mutasyonların *phoP/phoQ* regülatuar sisteminin aktivasyonuna neden olduğunu göstermişler, 2013 yılında Cantanelli ve ark. ise bu durumun kolistin direnciyle ilişkili olduğunu ortaya koymuşlardır (34,35). Sonrasında, Cheng ve ark.'nın yanı sıra Kim ve ark.'nın yaptıkları çalışmalar ile *mgrB* mutasyonlarının, *pmrA* ve/veya *phoP*'nin fosforillenmesi yoluyla, *arnBCADTEF* operonunun upregülasyonuna neden olarak lipid A yapısına L-Ara4N eklenmesine yol açtığı gösterilmiştir (33,36). Bu çalışmanın neticelendiği tarih itibarıyla kolistin direncine neden olan kromozomal mutasyonlara ilişkin Türkiye'den yapılmış bildirim bulunmamakla beraber; bu çalışma ülkemizden kolistin dirençli *K. pneumoniae* kökenlerinde *pmrA*, *pmrB*, *pmrC*, *pmrD*, *pmrE*, *pmrK*, *phoP* ve *phoQ* gen bölgelerinin ekspresyonlarında anlamlı dercede artış saptandığını bildiren ilk çalışma olma özelliğini taşımaktadır.

2016 yılına gelindiğinde ise Liu ve ark., hayvan örnekleri üzerinde yaptıkları araştırmada izole ettikleri bir *E. coli* kökeninde, plazmid tarafından kodlanan *mcr-1* adlı bir genin kolistin direncine neden olduğunu ortaya koymuşlardır (26). Bu çalışma, plazmid kaynaklı direncin yayılma hızının kromozomal mutasyonlardan kaynaklanan dirençten çok daha yüksek olması nedeniyle büyük yankı uyandırmıştır. Nitekim sonrasında gerek hayvan örnekleri gerekse de klinik örnekler üzerinde yapılan çalışmalarda, dünyanın birçok bölgesinden *mcr-1* ilişkili kolistin direncine dair bildirimler ardı ardına gelmiştir. Tablo 26’da 2016 yılı itibariyle insan örneklerinden izole edilen *Enterobacteriaceae* türlerinde *mcr-1* geninin saptandığı çalışmalar görülmektedir. Her ne kadar sonrasında yapılan çalışmalar, *mcr-1* geninin farklı direnç mekanizmaları eşlik etmeksizin sadece düşük düzey kolistin direncine neden olduğu saptanmış olsa da, *mcr-1* ve son dönemde ortaya çıkan varyantları kolistin direncinin en ciddi endişe uyandıran kaynağı olarak görülmektedir (89).

Tablo 26. 2016 yılı sonu itibariyle *mcr-1* pozitif *Enterobacteriaceae* türlerinin insan örneklerinden izole edildiği çalışmalar.

Ülke	Örnek	Referans
ABD	İdrar	90
ABD	Dışkı	91
ABD	İdrar	92
ABD	İdrar	93
Almanya	Yara	94
Arjantin	Çeşitli örnekler	95
Bahreyn	İdrar ve yara	96
Birleşik Arap Emirlikleri	Kan	96
Çin	Çeşitli örnekler	97-103
Danimarka	Kan	104
Ekvator	Periton sıvısı	105
Güney Afrika	Çeşitli örnekler	106-107
Hindistan	Dışkı	108
Hollanda	Çeşitli örnekler	109
Hollanda	Dışkı	110
Hong Kong	Kan, idrar, dışkı	111
İtalya	Çeşitli örnekler	112
İngiltere ve Galler	Çeşitli örnekler	113

İspanya	Çeşitli örnekler	114
İsviçre	İdrar	115
İsviçre	Kan	116
İsviçre	Kan	117
Kamboçya	Dışkı	118
Kanada	İdrar	119
Kanada	Gastrostomi tüpü	120
Laos	Dışkı	121
Malezya	İdrar	122
Mısır	Balgam	123
Polonya	İdrar	124
Singapur	İdrar	125
Suudi Arabistan	Rektal sürüntü	126
Suudi Arabistan	Kan	96
Tayland	Dışkı	121
Tayvan	Çeşitli örnekler	127
Venezuela	Dışkı	128
Vietnam	Dışkı	129

2017 yılı içerisinde de birçok çalışmada özellikle klinik örneklerden üretilen *mcr-1* pozitif *E. coli* ve *K. pneumoniae* kökenlerinin sayısındaki artışın devam ettiği gözlenmektedir. Olgular en sık olarak, özellikle *mcr-1* taşıyan plazmidin ilk olarak ortaya çıktığı Çin başta olmak üzere, Asya kıtasından gelmeye devam etmektedir (130,131,132,133,134,135,136). Bunun yanı sıra, Avrupa kıtasında da Fransa, Belçika, Avusturya, Danimarka, İtalya, İspanya ve Portekiz'den bildirimler gelmiştir (137,138,139,140,141,142,143,144). Ayrıca; Güney Afrika, Umman, ABD, Brezilya, Avustralya gibi çok farklı coğrafi konuma sahip ülkelerden de yıl içerisinde ardı ardına gelen bildirimler bu geni taşıyan plazmidlerin ne kadar hızlı yayılabildiğini göstermektedir (145,146,147,148,149,150,151). Bunun yanı sıra, *Salmonella*, *Enterobacter* ve *Citrobacter* gibi türlerde de *mcr-1* saptandığını bildiren çalışmaların olması direncin diğer türlere de yayılabileceğinin açık bir göstergesidir (152,153,154). Bu verilerden de anlaşılacağı gibi, gerekli moleküler araştırma olanaklarına sahip, birçok ülkede *mcr-1* ile ilişkili kolistin direnci ile ilgili bildirimler yapılmaktadır. Bu denli hızlı yayılımın başlıca nedeni olarak ise, genin birden fazla plazmidde lokalize

olabilmesi olarak görülmektedir (155). Bu çalışmanın neticelendiği tarih itibariyle ülkemizden henüz *mcr-1* ile ilişkili kolistin direnci bildirilmemiş olmakla beraber, bu çalışmada da plazmid aracılı kolistin direncinin varlığı saptanamamıştır.

mcr ailesine ait yeni genler ve *mcr-1* varyantları ile ilgili ortaya çıkan son bulgular ise oldukça ilginçtir. 2016 yılında Belçika’da Xavier ve ark. tarafından hayvanlar üzerinde yapılan bir surveyans çalışmasında, kolistin-dirençli fakat *mcr-1* geni açısından negatif bulunan *E. coli* kökenleri incelendiğinde, *mcr-1*’den 9 baz daha kısa olacak şekilde 1617 bp uzunluğunda ve *mcr-1* ile %76,75 sekans uyumu gösteren *mcr-2* geni tanımlanmıştır (156). Aynı yılın Ağustos ayında ise yeni bir varyant, *mcr-1.2*, bu kez İtalya’da Di Pilato ve ark. tarafından, pediatrik onkoloji servisinde yatan bir çocuğun rektal sürüntü örneğinden 2014 yılında izole edilmiş olan çoklu ilaca dirençli ve KPC üreten bir *K. pneumoniae* kökeninde (ST512) tanımlanmıştır (157). 2017 yılında Çin’den yapılan iki yeni bildirinin ilkinde, Yang ve ark., tavuktan izole edilen ST155 klonuna ait bir *E. coli* kökeninde saptanan, IncI2 plazmidini taşıyan ve *mcr-1.3* adı verilen yeni bir varyantı tanımlamış, Lu ve ark.’nın yaptığı diğer bildirimde ise sağlıklı bir insandan izole edilmiş bir *Salmonella enterica* serovar Typhimurium kökeninde IncP plazmidini taşıyan yeni bir varyant, *mcr-1.6*, tanımlanmıştır (158,159). Son olarak, yine 2017 yılında Yi ve ark.’nın yaptığı çalışmada, sığırdan izole edilmiş olan bir *E. coli* kökeninde IncHI2 plazmidini taşıyan *mcr-3* geni tanımlanmıştır. Aynı çalışmada bu genin *mcr-1* ve *mcr-2* ile sekans uyumunun sırasıyla %45 ve %47 olduğu bildirilmiştir (160). Bu yeni genlerin klinik önemi henüz netlik kazanmamış olmakla beraber, 2017 yılı Temmuz ayında, Danimarka’da pyelonefrit tanısı ile hastaneye yatmış olan bir hastanın kan kültüründen izole edilen ST131 klonuna ait bir *E. coli* kökeninde *mcr-3*’ün tespit edilmiş olması dikkat çekicidir. *mcr-3* genini IncHI2 plazmidini taşıdığı belirlenen kökenin kolisitin MİK değeri 4 µg/ml olmakla beraber, aynı zamanda CTX-M-55 tipi GSBL ürettiği de saptanmıştır (161). Aynı dönemde, Litrup ve ark.’nın yine Danimarka’da 2009-2017 yılları arasında klinik örneklerden izole edilmiş *Salmonella* kökenleri üzerinde yaptıkları çalışmada, bir kökende yaptığı bir çalışmada klinik örneklerden izole edilen *mcr-1* ve *mcr-3* genlerinin beraner, 9 farklı olguda ise *mcr-3* geninin tek çasına saptandığı bildirilmiştir. Bu 10 hastadan 4’ünün Tayland, 1 tanesinin ise Vietnam’a hastalıklarından kısa süre önce seyahat ettiklerinin saptanmış olması, bu ülkelerin *mcr* ailesine ait genlerin sıklıkla saptandığı bölgeler olması nedeniyle son derece anlamlı bulunmuştur (162). Bu veriler,

özellikle Asya'ya seyahat öyküsü bulunan kişilerden izole edilen kolistin dirençli kökenlerde, yeni *mcr* genlerinin/varyantlarının da varlığının göz önünde bulundurulması gerektiğini göstermektedir.

Sonuç olarak, kolistin ve karbapenemler başta olmak üzere, hayatı tehdit eden enfeksiyonların tedavisinde kullanılan antibiyotiklere karşı direnç gelişimine neden olan, ve hızla yayılma kapasitesi taşıyan, bu mekanizmaların varlığı göz önüne alındığında, çoklu ilaca dirençli bakterilerin neden olduğu enfeksiyonlar ve bunların mortalite oranları için risk faktörlerinin belirlenmesi yanı sıra alınacak önlemlerin tespit edilmesinin de ne denli önemli olduğu görülmektedir. Bu bölümde, antimikrobiyal direncin olası sonuçları ve alınabilecek önlemler ile ilgili başlıca görüşler aktarılacaktır.

Çoklu ilaca dirençli gram-negatif bakteriler ile enfekte olan hastalarda saptanan risk faktörleri arasında; önceden ve/veya yakın zamanda antibiyotik kullanımı, uzun süreli hastane yatışı, yoğun bakımda yatma hikayesi, vücutta yabancı cisim varlığı, ileri yaş, solid organ veya kök hücre transplantasyonu ve bu bakterilerin endemik olduğu ülkelerde sağlık hizmeti almış olmak bulunmaktadır (163). Yılmaz ve ark.'nın Türkiye'de yaptıkları geniş katılımlı bir araştırmada, son üç ayda antibiyotik kullanımı yanı sıra son üç ayda kolistin, karbapenem veya kinolon kullanımının da kolistin dirençli gram negatif bakterilerin neden olduğu enfeksiyon riskini anlamlı derecede arttırdığı belirlenmiştir. Çalışmada bunların yanı sıra, hastanede yatış süresi ve yoğun bakımda yatma hikayesinin de kolistin direnci ile ilişkili olduğu belirlenmiştir (164). Giacobe ve ark. ise, kolistin dirençli ve aynı zamanda KPC üreten *K. pneumoniae* kökenlerinin neden olduğu kan-dolaşım yolu enfeksiyonları için risk faktörlerini araştırdıkları çalışmada, Charlson komorbidite skorunun ≥ 3 olması, nötropeni, önceden kolistin tedavisi almış olmak, hastane yatış veya KPC üreten *K. pneumoniae* ile kolonizasyon hikayesi anlamlı risk faktörleri olarak belirlemiştir. Aynı çalışmada, kontrol grubu olarak kolistine duyarlı KPC üreten *K. pneumoniae* kökenleri kullanıldığında ise bunlardan sadece Charlson komorbidite skorunun ≥ 3 olması, önceden kolistin tedavisi almış olmak ve KPC üreten *K. pneumoniae* ile kolonizasyon hikayesi anlamlı bulunmuştur (165). Öte yandan, Capone ve ark.'nın karbapenem dirençli *K. pneumoniae*'nin neden olduğu kan-dolaşım yolu enfeksiyonlarında mortalite için risk faktörlerini inceleyen çalışmasında ise; kronik böbrek hastalığı, Charlson komorbidite skoru ve enfeksiyonun yoğun bakımda başlamış olması anlamlı risk

faktörleri olarak belirlenmiştir (166). Sonuç olarak, çoklu ilaca dirençli gram-negatif bakterilerin neden olduğu enfeksiyonlar ve bu hastalardaki mortalite oranlarını etkileyecek birçok komorbidite ve demografik faktör mevcut olmakla beraber, merkezlerin bunları belirlemesi ve önlemlerini bu risk faktörlerini de göz önünde bulundurarak almaları gerekmektedir.

Hemen her zaman hastane ilişkili olarak gelişen ve tedavisi son derece zor olan bu enfeksiyonların önlenmesi, şüphesiz ki önde gelen yaklaşım olmalıdır. Burada öncelikle antibiyotik kullanımının yönetimi yoluyla bakterilerde antibiyotiklere karşı direnç gelişimini, sonrasında ise enfeksiyon kontrol önlemleri ile var olan dirençli bakterilerin özellikle hastane ortamlarında yayılmasını engellemek, aslında birbirini yakından etkileyen ve beraber değerlendirilmesi gereken, iki önemli yaklaşım olarak karşımıza çıkmaktadır.

Antibiyotiklerin gerek insan gerekse de hayvanlarda aşırı kullanımı, dirençli bakterilerin ortaya çıkmasını kaçınılmaz hale getirmektedir. Antibiyotik direnci ile aktif mücadele, antibiyotikleri reçete eden doktorlar yanı sıra bölgesel, ulusal ve uluslararası seviyede tartışılması gereken bir konu olarak değerlendirilmektedir. Herhangi bir antibiyotiğin aşırı kullanımı, doğal olarak, bakterilerin bu tehdite karşı direnç geliştirmesi ile sonuçlanma potansiyeli taşımaktadır. Sağlık çalışanları ve/veya hastaların antibiyotik kullanımı ile ilgili kişisel kararları ise çoğu zaman toplumsal bir bakış açısından uzak olabilmekle beraber, ortaya çıkan aşırı tüketim antinimikrobiyal direnç gelişmesine neden olmaktadır (167).

Antibiyotik kullanımının kısıtlanması ve geniş spektrumlu antibiyotiklerin enfeksiyon hastalıkları konsültanının onayı ile kullanılması, hem antibiyotik harcamalarında hem de direnç oranlarında azalmaya neden olmaktadır. Ülkemizde yapılan bazı çalışmalar, kısıtlama politikası sonrası kullanılan antibiyotik miktarlarındaki azalmayı ve direnç oranlarındaki düşmeyi açık olarak desteklemektedir (168,169,170). Antibiyotik kullanımı için yazılı protokollerin hazırlanması ve antibiyotiklerin kesilmesi için gerekli kuralların belirlenmesinin antibiyotiklerin kullanımının düzenlenmesi ve direncin önlenmesi konusunda oldukça yararlı olduğu gösterilmiştir. Antibiyotik kullanım stratejileri içerisinde farklı bir yaklaşım olan rotasyonel antibiyotik kullanımı, ampirik tedavide seçilecek antibiyotiğin rotasyon şeklinde periyodik olarak değiştirilmesi temeline dayanmaktadır. Bu uygulamada seçici baskının kaldırılması hedeflenmekle beraber, belirli bir antibiyotik sınıfı ya da bir

antibiyotiğin ampirik kullanımı bir süre için kaldırılmakta ve daha sonra tekrar kullanılmaya başlanmaktadır (171). Akalın ve ark.'nın çalışmasında, hastaların enfeksiyon hastalıkları konsültanı tarafından sürekli olarak izlenmesi ve siprofloksasinin ampirik tedavi şemasından çıkarılması yanı sıra sefoperazon/sulbaktam ile imipenemin ampirik tedavide hastadan hastaya sürekli değiştirilmesi sonucu mortalitede belirgin değişiklik olmaksızın antibiyotik direnç oranlarında anlamlı azalma saptanmıştır. Rotasyonel kullanımın, antibiyotik direncinde azalma, yoğun bakım enfeksiyonlarının insidansında azalma, enfeksiyonların ampirik tedavisi amacıyla antibiyotik kullanım oranlarında iyileşme, dirençli gram-negatif ve gram-pozitif bakterilerin neden olduğu enfeksiyonlarda azalma, enfeksiyonla ilişkili mortalitede azalma, tedavi maliyetlerinde azalma ve dirençli gram-negatif bakteriler ile kolonizasyonda azalma gibi olumlu sonuçlarının olduğu değişik çalışmalarda bildirilmiş olmakla beraber, bu stratejinin dirençli bakteriler ile kolonizasyonu ve enfeksiyonu azaltmadığını gösteren çalışmalar da mevcuttur (171).

Antimikrobiyal direncin önemli bir bileşeni olarak görülen diğer bir durum ise antibiyotiklerin hayvancılıkta kontrolsüz olarak kullanılıyor olmasıdır. Özellikle, hayvanlarda kullanılan antibiyotiklerin büyük kısmının insanlarda tıbbi amaçlarla kullanılanlar ile aynı olması direnç sorunu da beraberinde getirmektedir. Bununla beraber, son dönemde yapılan birçok çalışma, antibiyotik direnci taşıyan bakterilerin ve/veya ilişkili genlerin, karbapenemazlar ve *mcr-1* dde dahil olmak üzere, gerek çiftlik ve/veya kümes hayvanlarının çıkartılarında gerekse de bu hayvanların piyasaya sürülmüş olan ürünlerinde saptandığını ortaya koymuştur (172). Örneğin, Kanada'ya Çin'den ithal edildiği bildirilen deniz ürünlerinde Rubin ve ark. VIM-2 üreten bir *Pseudomonas* kökeni, benzer şekilde Morrison ve ark. ise OXA-48 ürettiği tespit edilen *Pseudomonas*, *Stenotrophomonas* ve *Myroides* türleri tespit ettiklerini bildirmişlerdir (173,174). Fischer ve ark.'da çiftlik hayvanlarında VIM tipi karbapenemaz üreten *E. coli* ve *Salmonella enterica* subsp. *enterica* kökenleri tespit ettiklerini bildirmişlerdir (175). Son dönemde ise, yine değişik hayvan ürünlerinde kolistin direncine neden olan genlerin tespit edildiği çalışmalar yayınlanmıştır. Örneğin, Irrang ve ark.'larının Almanya'da 2010-2015 yılları arasında hayvanlardan alınan dışkı örnekleri ve çeşitli hayvansal gıdalardan izole ettikleri 10.609 *E. coli* kökeninden 505'inin kolistine dirençli olduğu, bunlardan 402'sinde ise *mcr-1* geninin pozitif bulunduğu bildirilmiştir (176). Gerek antibiyotiklere dirençli bakterilerin, gerekse de direnç genlerinin hayvansal

insanlar tarafından sıklıkla tüketilen hayvansal ürünlerde tespit edildiği çalışmaların sayısı gün geçtikçe artmakta, buna istinaden de antibiyotiklerin hayvancılıkta kontrolsüzce kullanılmasının sonuçları açıklığa kavuşmaktadır. Konu ile ilgili yasal uygulamalar ise henüz küresel olarak istenilen seviyeye ulaşabilmiş değildir. İlk olarak 1986 yılında İsveç'te hayvanlarda antibiyotik kullanımı kısıtlanış olmakla beraber, sonrasında 1997 yılında avoparsin ile başlamak üzere Avrupa Birliği de birçok antibiyotiğin hayvanlarda nonterapötik amaçlı kullanımını kısıtlamıştır, ancak gerek ABD gerekse de diğer birçok ülkedeki düzenlemeler hayvancılıkta antibiyotiklerin aşırı kullanımının önüne geçmede yeterli değildir (177).

Antibiyotik direncinin önüne geçmede en önemli uygulamalardan birisi de, daha önce de belirtildiği gibi, enfeksiyon kontrolüdür. Konu ile ilgili birçok araştırma yapılmış olmakla beraber, bazı ana kurallar ve enfeksiyon tipine göre değişebilen uygulamalar belirlenmiştir. Ancak çok önemli bir konu ise bu uygulamaların doğru ve istikrarlı şekilde gerçekleştirilmesi ve kontrolüdür. Enfeksiyon kontrolü amacıyla belirlenmiş en temel uygulamaların başında ise el hijyeni ve enfeksiyon hastalıklarının aktif surveyans gelmektedir.

Tüm bu uygulamaların yanı sıra, antimikrobiyal direnç ile mücadele amacıyla, özellikle hızlı tanı ve dirençli bakteriler ile mücadelede etkili yeni antimikrobiyallerin geliştirilmesi konularında yapılan, araştırma-geliştirme faaliyetlerinin desteklenmesi büyük önem taşımaktadır. Gelecekte antimikrobiyallerin etkin olarak kullanıldığı bir dünyada mı yaşayacağımız, yoksa antibiyotik öncesi döneme geri mi döneceği şüphesiz ki devletlerin bu konuya verdikleri önem, yaptıkları liderlik ve katı uygulamalar yanı sıra bu konuda sarf edilecek koordineli çaba sonucunda belirlenecektir (167).

KAYNAKLAR

1. Procop GW, Church DL, Hall GS, Janda WM, Koneman EW, Schreckenberger PC et al. Chapter 6: Enterobacteriaceae. *Koneman's Color Atlas and Textbook of Diagnostic Microbiology*. Wolters Kluwer; 2017. pp. 213-303.
2. Aydogan H, Basustaoğlu A. Nozokomiyal patojen olarak *Klebsiella* türlerinin mikrobiyolojik, klinik ve epidemiyolojik özellikleri. *Hastan Enfeks Derg* 2000; 4: 135-43.
3. Livermore DM, Woodford N. The β -lactamase threat in *Enterobacteriaceae*, *Pseudomonas* and *Acinetobacter*. *Trends Microbiol* 2006; 14(9): 413-20.
4. Gülay Z. Beta-laktamlara direnç mekanizmaları. İçinde Ulusoy S, editör. *Beta Laktamazlar ve Klinik Önemi*. Bilimsel Tıp Yayınevi; 2005. pp. 9-34.
5. Topçu AW. Antibakteriyel ilaçlar. İçinde Topçu AW, Söyletir G, Doğanay M, editör. *Enfeksiyon Hastalıkları*. Nobel Tıp Yayınevi; 1996. pp.130-43.
6. Mehta D, Sharma AK. Cephalosporins: A review on imperative class of antibiotics. *Inventi Rapid: Molecular Pharmacology* 2015; 2016(1): 1-6.
7. Çolak D. Antimikrobik ilaçlar ve etki mekanizmaları. İçinde Ustaçelebi Ş, editör. *Temel ve Klinik Mikrobiyoloji*. Güneş Kitabevi; 1999. pp. 81-91.
8. Dreetz M, Hamacher J, Eller J, Borner K, Koeppe P, Schaberg T, et al. Serum bactericidal activities and comparative pharmacokinetics of meropenem and imipenem-cilastatin. *Antimicrob Agents Chemother* 1996; 40(1):105-109.
9. Gür D. Beta-laktamazlar. İçinde Ulusoy S, editör. *Beta-Laktamazlar ve Klinik Önemi*. Ankara Bilimsel TıpYayınevi; 2005. pp. 35-42.
10. Gür D. Beta-laktamazların sınıflandırılması. *Flora Derg* 1996; 1: 80-86.
11. Arnold RS, Thom KA, Sharma S, Phillips M, Johnson JK, Morgan DJ. Emergence of *Klebsiella pneumoniae* carbapenemase (KPC)-producing bacteria. *South Med J* 2011; 104(1): 40-45.
12. Garau G, Garcia-Saez I, Bebrone C, Anne C, Mercuri P, Galleni M ve ark. Update of the standart numbering scheme for class B β -lactamases. *Antimicrob Agents Chemother* 2004; 48(7): 2347-49.

13. Garau G, Di Guilmi AM, Hall BG. Structure-based phylogeny of the metallo- β -lactamases. *Antimicrob Agents Chemother* 2005; 49(7): 2778-84.
14. Galleni M, Lamotte-Brasseur J, Rosolini GM, Spencer J, Dideberg O, Frere JM. Standart numbering scheme for class B β -lactamases. *Antimicrob Agents Chemother* 2001; 45(3): 660-63.
15. Karabay O, Altindis M, Koroglu M, Karatuna O, Aydemir ÖA, Erdem AF. The carbapenem resistant *Enterobacteriaceae* threat is growing: NDM-1 epidemic at a training hospital in Turkey. *Ann Clin Microbiol Antimicrob* 2016; 15: 6.
16. Raghunath D. New metallo β -lactamase NDM-1. *Indian J Med Res* 2010; 132(5): 478-81.
17. Kilic A, Aktas Z, Bedir O, Gumral R, Bulut Y, Stratton C, et. al. Identification and characterization of OXA-48 producing, carbapenem-resistant *Enterobacteriaceae* isolates in Turkey. *Ann Clin Lab Sci* 2011; 41(2): 161-6.
18. Carrer A, Poirel L, Yilmaz M, Arikan Akan Ö, Feriha C, Cuzon G, et. al. Spread of OXA-48-encoding plasmid in Turkey and beyond. *Antimicrob Agents Chemother* 2010; 54(3): 1369–73.
19. Bush K, Jacoby GA. Updated functional classification of β -lactamases, 2010, 54(3), 969-76.
20. Ulusal Antimikrobiyal Direnç Surveyans Sistemi 2013 Yıllık Raporu. T.C. Sağlık Bakanlığı, Türkiye Halk Sağlığı Kurumu, Mikrobiyoloji Referans Laboratuvarları Daire Başkanlığı, Ankara, 2015.
21. Gülay Z. *Enterobacteriaceae* moleküler epidemiyolojisi. *ANKEM Derg* 2014; 28: 73-76.
22. Poirel L, Potron A, Nordmann P. OXA-48-like carbapenemases: the phantom menace. *J Antimicrob Chemother*, 2012; 67(7): 1597-606.
23. 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): 1333-41.
24. Öncül O. Kolistin: Endikasyon ve klinik kullanımı. *ANKEM Derg* 2012; 26: 12-18.
25. European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing. Clinical breakpoint table for bacteria v 7.1, 2017.

http://www.eucast.org/fileadmin/src/media/PDFs/EUCAST_files/Breakpoint_tables/v_7.1_Breakpoint_Tables.pdf

26. Liu YY, Wang Y, Walsh TR, Yi LX, 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: 161-8.
27. Olaitan, A.O., Morand S., Roland J.M., Mechanisms of polymyxin resistance: acquired and intrinsic resistance in bacteria. *Front Microbiol* 2014; 5: 643.
28. Nikaido H. Molecular basis of bacterial outer membrane permeability revisited. *Microbiol Mol Biol Rev* 2003; 67(4): 593-656.
29. Vaara M, Vaara T, Jensen M, Helander I, Nurminen M, Rietschel ET, et al. Characterization of the lipopolysaccharide from the polymyxin resistant pmrA mutants of *Salmonella typhimurium*. *FEBS Lett* 1981; 129:145–149.
30. Roland KL, Martin LE, Esther CR, Spitznagel JK. Spontaneous pmrA mutants of *Salmonella typhimurium* LT2 define a new two-component regulatory system with a possible role in virulence. *J Bacteriol* 1993; 175:4154-64.
31. Guo L, Lim KB, Gunn JS, Bainbridge B, Darveau RP, Hackett M, et al. Regulation of lipid A modifications by *Salmonella typhimurium* virulence genes phoP-phoQ. *Science* 1997; 276: 250-3.
32. Helander IM, Kato Y, Kilpelainen I, Kostianen R, Lindner B, Nummila K, et al. Characterization of lipopolysaccharides of polymyxin-resistant and polymyxin-sensitive *Klebsiella pneumoniae* O3. *Eur J Biochem* 1996; 237: 272–278.
33. Cheng HY, Chen YF, Peng HL. Molecular characterization of the PhoPQ-PmrD-PmrAB mediated pathway regulating polymyxin B resistance in *Klebsiella pneumoniae* CG43. *J Biomed* 2010; 17: 60.
34. Cannatelli A, D'Andrea MM, Giani T, Di PV, Arena F, Ambretti S, et al. In vivo emergence of colistin resistance in *Klebsiella pneumoniae* producing KPC-type carbapenemases mediated by insertional inactivation of the PhoQ/PhoP mgrB regulator. *Antimicrob Agents Chemother* 2013; 57: 5521-6.
35. Lippa AM, Goulian M. Feedback inhibition in the PhoQ/PhoP signaling system by a membrane peptide. *PLoS Genet* 2009; 5(12): e1000788.

36. Kim SY, Choi HJ, Ko KS. Differential expression of two- component systems, pmrAB and phoPQ, with different growth phases of *Klebsiella pneumoniae* in the presence or absence of colistin. *Curr.Microbiol* 2014; 69: 37–41.
37. Nummila K, Kilpelainen I, Zahringer U, Vaara M, Helander IM. Lipopolysaccharides of polymyxin B-resistant mutants of *Escherichia coli* are extensively substituted by 2-aminoethyl pyrophosphate and contain amino arabinose in lipid A. *Mol Microbiol* 1995; 16: 271-8.
38. Kim SH, Jia W, Parreira VR, Bishop RE, Gyles CL. Phosphoethanolamine substitution in the lipid A of *Escherichia coli* O157:H7 and its association with PmrC. *Microbiology* 2006; 152, 657-66.
39. Reynolds CM, Kalb SR, Cotter RJ, Raetz CR. A phosphoethanolamine transferase specific for the outer 3-deoxy-D-manno-octulosonic acid residue of *Escherichia coli* lipopolysaccharide. Identification of the eptB gene and Ca²⁺ hypersensitivity of an eptB deletion mutant. *J Biol Chem* 2005; 280: 21202-11.
40. Raetz CR, Reynolds CM, Trent MS, Bishop RE. Lipid A modification systems in gram-negative bacteria. *Annu Rev Biochem* 2007; 76: 295-329.
41. Moon K, Gottesman S. A PhoQ/P-regulated small RNA regulatesensitivity of *Escherichia coli* to antimicrobial peptides. *Mol Microbiol* 2009; 74: 1314-30.
42. Coornaert A, Lu A, Mandin P, Springer M, Gottesman S, Guillier M. MicA sRNA links the PhoP regulon to cell envelope stress. *Mol Microbiol* 201; 76: 467-79.
43. Moffatt JH, Harper M, Harrison P, Hale JD, Vinogradov E, Seemann T, et al. Colistin resistance in *Acinetobacter baumannii* is mediated by complete loss of lipopolysaccharide production. *Antimicrob Agents Chemother* 201; 54: 4971-7.
44. Arroyo LA, Herrera CM, Fernandez L, Hankins JV, Trent MS, Hancock RE. The pmrCAB operon mediates polymyxin resistance in *Acinetobacter baumannii* ATCC 17978 and clinical isolates through phosphoethanolamine modification of lipid A. *Antimicrob Agents Chemother* 2011; 55: 3743-51.
45. Lesho E, Yoon EJ, McGann P, Snesrud E, Kwak Y, Milillo M, et al. Emergence of colistin-resistance in extremely drug-resistant *Acinetobacter baumannii* containing a novel pmrCAB operon during colistin therapy of wound infections. *J Infect Dis* 2013; 208: 1142-51.

46. Fernandez-Reyes M, Rodriguez-Falcon M, Chiva C, Pachon J, Andreu D, Rivas L. The cost of resistance to colistin in *Acinetobacter baumannii*: a proteomic perspective. *Proteomics* 2009; 9: 1632-45.
47. Lopez-Rojas R, Dominguez-Herrera J, McConnell MJ, Docobo-Perez F, Smani Y, Fernandez-Reyes M, et al. Impaired virulence and in vivo fitness of colistin-resistant *Acinetobacter baumannii*. *J Infect Dis* 2011; 203: 545-8.
48. Rolain JM, Roch A, Castanier M, Papazian L, Raoult D. *Acinetobacter baumannii* resistant to colistin with impaired virulence: a case report from France. *J Infect Dis* 2011; 204: 1146-7.
49. Pournaras S, Poulou A, Dafopoulou K, Chabane YN, Kristo I, Makris D, et al. Growth retardation, reduced invasiveness, and impaired colistin-mediated cell death associated with colistin resistance development in *Acinetobacter baumannii*. *Antimicrob Agents Chemother* 2014; 58: 828-32.
50. Beceiro A, Llobet E, Aranda J, Bengoechea JA, Doumith M, Hornsey M, et al. Phosphoethanolamine modification of lipid A in colistin-resistant variants of *Acinetobacter baumannii* mediated by the pmrAB two-component regulatory system. *Antimicrob Agents Chemother* 2011; 55: 3370-9.
51. McPhee JB, Lewenza S, Hancock RE. Cationic antimicrobial peptides activate a two-component regulatory system, PmrA-PmrB, that regulates resistance to polymyxin B and cationic antimicrobial peptides in *Pseudomonas aeruginosa*. *Mol Microbiol* 2003; 50: 205-17.
52. Moskowitz SM, Ernst RK, Miller SI. PmrAB, a two-component regulatory system of *Pseudomonas aeruginosa* that modulates resistance to cationic antimicrobial peptides and addition of aminoarabinose to lipid A. *J Bacteriol* 2004; 186: 575-9.
53. Moskowitz SM, Brannon MK, Dasgupta N, Pier M, Sgambati N, Miller AK, et al. PmrB mutations promote polymyxin resistance of *Pseudomonas aeruginosa* isolated from colistin-treated cystic fibrosis patients. *Antimicrob Agents Chemother* 2012; 56: 1019-30.
54. Abraham N, Kwon DH. A single amino acid substitution in PmrB is associated with polymyxin B resistance in clinical isolate of *Pseudomonas aeruginosa*. *FEMS Microbiol Lett* 2009; 298: 249-54.

55. Macfarlane EL, Kwasnicka A, Ochs MM, Hancock RE. PhoP-PhoQ homologues in *Pseudomonas aeruginosa* regulate expression of the outer-membrane protein OprH and polymyxin B resistance. *Mol Microbiol* 2009; 34: 305-16.
56. Barrow K, Kwon DH. Alterations in two-component regulatory systems of phoPQ and pmrAB are associated with polymyxin B resistance in clinical isolates of *Pseudomonas aeruginosa*. *Antimicrob Agents Chemother* 2009; 53: 5150-4.
57. Schurek KN, Sampaio JL, Kiffer CR, Sinto S, Mendes CM, Hancock RE. Involvement of pmrAB and phoPQ in polymyxin B adaptation and inducible resistance in non-cystic fibrosis clinical isolates of *Pseudomonas aeruginosa*. *Antimicrob Agents Chemother* 2009; 53: 4345-51.
58. Miller AK, Brannon MK, Stevens L, Johansen HK, Selgrade SE, Miller SI, et al. PhoQ mutations promote lipid A modification and polymyxin resistance of *Pseudomonas aeruginosa* found in colistin-treated cystic fibrosis patients. *Antimicrob Agents Chemother* 2011; 55: 5761-9.
59. Fernandez L, Gooderham WJ, Bains M, McPhee JB, Wiegand I, Hancock REW. Adaptive resistance to the “last hope” antibiotics polymyxin B and colistin in *Pseudomonas aeruginosa* is mediated by the novel two-component regulatory system ParR-ParS. *Antimicrob Agents Chemother* 2010; 54: 3372-82.
60. Fernandez L, Jenssen H, Bains M, Wiegand I, Gooderham WJ, Hancock RE. The two-component system CprRS senses cationic peptides and triggers adaptive resistance in *Pseudomonas aeruginosa* independently of ParRS. *Antimicrob Agents Chemother* 2012; 56: 6212-22.
61. Gutu AD, Sgambati N, Strasbourger P, Brannon MK, Jacobs MA, Haugen E, et al. Polymyxin resistance of *Pseudomonas aeruginosa* phoQ mutants is dependent on additional two-component regulatory systems. *Antimicrob Agents Chemother* 2013; 57: 2215.
62. Lee JY, Ko S. Mutations and expression of PmrAB and PhoPQ related with colistin resistance in *Pseudomonas aeruginosa* clinical isolates. *Diagn Microbiol Infect Dis* 2014; 78: 27-6.

63. Owusu-Anim D, Kwon DH. Differential role of two-component regulatory systems (phoPQ and pmrAB) in polymyxin B susceptibility of *Pseudomonas aeruginosa*. *Adv Microbiol* 2012; 2(1): 1-12.
64. Biswas S, Brunel JM, Dubus JC, Reynaud-Gaubert M, Rolain JM. Colistin: an update on the antibiotic of the 21st century. *Expert Rev Anti Infect Ther* 2012; 10: 917-34.
65. Bremmer DE, Bauer KA, Pouch SM, Thomas K, Sith D, Goff DA, et. al. Correlation of checkerboard synergy testing with time-kill analysis and clinical outcomes of extensively drug-resistant *Acinetobacter baumannii* respiratory infections. *Antimicrob Agents Chemother* 2016; 60(11): 6892-95.
66. Lee CH, Tang YF, Su LH, Chien CC, Liu JW, et. al. Antimicrobial effects of varied combinations of meropenem, sulbactam, and colistin on a multidrug-resistant *Acinetobacter baumannii* isolate that caused meningitis and bacteremia. *Microbial Drug Resistance* 2008; 14(3): 233-7.
67. Principe L, Arezzo SD, Capone A, Petrosillo N, Visca P. In-vitro activity of tigecycline in combination with various antimicrobials against multidrug resistant *Acinetobacter baumannii*. *Ann Clin Microbiol Antimicrob* 2009; 8(18): 1-10
68. Gazel D, Zanaşalıoğlu Gazel Ö, Akçalı A. Kolistin dirençli *Acinetobacter baumannii* suşlarına vankomisin in-vitro etkisi. *Türk Mikrobiyol Cem Derg* 2014; 44(4): 144-8.
69. Pachon-Ibanez ME, Docobo-Perez B, Lopez-Rojas R, Dominguez-Herrera J, Jimenez-Mejias ME, Garcia-Curiel A, et. al. Efficacy of rifampin and its combinations with imipenem, sulbactam, and colistin in experimental models of infection caused by imipenem-resistant *Acinetobacter baumannii*. *Antimicrob Agents Chemother* 2010; 54(3): 1165-72.
70. MİK saptama yöntemleri (Gradient difüzyon, sıvı dilüsyon ve agar dilüsyon). T.C. Sağlık Bakanlığı Ulusal Mikrobiyoloji Standartları, 2014.
71. Gales AC, Reis AO, Jones RN. Contemporary assesment of antimicrobial susceptibility testing methods for polymyxin B and colistin: review of available interpretative criteria and quality control guidelines. *J Clin Microbiol* 2001; 39: 183-90.

72. Comité de l'Antibiogramme de la Société Française de Microbiologie. Recommendations du CASFM, Communiqué 2005.
73. Sambrook J, Fritsch EF, Maniatis T. *Molecular Cloning: A Laboratory Manual*. Cold Spring Harbor Laboratory Press, 2001.
74. Cannatelli A, D'Andrea MM, Giani T, Di Plato V, Arena F, Ambretti S, et al. In vivo emergence of colistin resistance in *Klebsiella pneumoniae* producing KPC-type carbapenemase mediated by insertional inactivation of the PhoQ/PhoP mgrB regulator. *Antimicrob Agents Chemother* 2013; 57: 5521–6.
75. Kumar S, Nei M, Dudley J, Tamura K. MEGA: A biologist-centric software for evolutionary analysis of DNA and protein sequences. *Brief Bioinform* 2008; 9(4): 299-306.
76. Bontron S, Poirel L, Nordmann P. Real-time PCR for detection of plasmid-mediated polymyxin resistance (mcr-1) from cultured bacteria and stools. *J Antimicrob Chemother* 2016; 71(8): 2318-20.
77. Liassine N, Assouvie L, Descombes MC, Tendon VD, Kieffer N, Poirel L, et al. Very low prevalence of mcr-1/mcr-2 plasmid-mediated colistin resistance in urinary tract *Enterobacteriaceae* in Switzerland. *Int J Infect Dis* 2016; 51: 4-5.
78. Liu YY, Wang Y, Walsh TR, Yi LX, 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: 161-8.
79. Jayol A, Poirel L, Brink A, Villegas MV, Yilmaz M, Nordmann P. Resistance to colistin associated with a single amino acid change in protein PmrB among *Klebsiella pneumoniae* isolates of worldwide origin. *Antimicrob Agents Chemother* 2014; 58(8): 4762-47.
80. Lee JY, Ko KS. Mutations and expression of PmrAB and PhoPQ related with colistin resistance in *Pseudomonas aeruginosa* clinical isolates. *Diagn Microbiol Infect Dis* 2014; 78(3): 271-6.
81. Livak KJ, Schmittgen TD. Analysis of relative gene expression data using real-time quantitative PCR and the 2⁻(-Delta Delta C(T)) method. *Methods* 2001; 25(4): 402-8.
82. Vasoo S. Susceptibility testing for the polymyxins: Two steps back, three steps forward? *J Clin Microbiol* 2017; 55(9): 2573-82.

83. Antimicrobial resistance surveillance in Europe, 2015. European Center for Disease Prevention and Control, 2015.
84. Ergönül Ö, Aydın M, Azap A, Başaran S, Tekin S, Kaya Ş, et. al. Healthcare-associated Gram-negative bloodstream infections: antibiotic resistance and predictors of mortality. *J Hosp Infect* 2016; 94(4): 381-85.
85. Dafopoulou K, Zarkotou O, Dimitroulia E, Hadjichristodoulou C, Gennimata V, Pournaras S, et. al. Comparative evaluation of colistin susceptibility testing methods among carbapenem-nonsusceptible *Klebsiella pneumoniae* and *Acinetobacter baumannii* clinical isolates. *Antimicrob Agents Chemother* 2015; 59(8): 4625-30.
86. Chew KL, La MV, Lin RTP, Teo JWP. Colistin and polymyxin B susceptibility testing for carbapenem-resistant and *mcr*-positive *Enterobacteriaceae*: Comparison of Sensititre, Microscan, Vitek 2, and Etest with broth microdilution. *J Clin Microbiol* 2017; 55(9): 2609-16.
87. Clinical Laboratory Standards Institute (CLSI) M100-S23; Vol. 33 No.1, 2013.
88. Gatermann SG, Frey N, Kaminski A, Geis G. Comparison of Vitek 2, E-test, and MICRONAUT preprepared plates with both microdilution for colistin testing of *Enterobacteriaceae*. 27th *ECCMID* 2017, EP0918.
89. Jayol A, Nordmann P, Dubois V, et. al. Contribution of plasmid-mediated *mcr*-1 for providing high level of colistin resistance. 27th *ECCMID* 2017, P0668.
90. McGann P, Snedrud E, Maybank R, Corey B, Ong AC, Clifford R, et al. *Escherichia coli* harboring *mcr*-1 and *bla*_{CTX-M} on a novel IncF plasmid: first report of *mcr*-1 in the United States. *Antimicrob Agents Chemother* 2016; 60: 4420–1.
91. Vasquez AM, Montero N, Laughlin M, Dancy E, Melmed R, Sosa L, et al. Investigation of *Escherichia coli* harboring the *mcr*-1 resistance gene. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep* 2016; 65: 979–80.
92. Kline KE, Shover J, Kallen AJ, Lonsway DR, Watkins S, Miller JR. Investigation of first identified *mcr*-1 gene in an isolate from a U.S. patient. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep* 2016; 65: 977–8.
93. Mediavilla JR, Patrawalla A, Chen L, Chavda KD, Mathema B, Vinnard C, et al. Colistin- and carbapenem-resistant *Escherichia coli* harboring *mcr*-1 and

- blaNDM-5, causing a complicated urinary tract infection in a patient from the United States. *MBio* 2016; 7(4): 1-4.
94. Falgenhauer L, Waezsada SE, Yao Y, Imirzalioglu C, Kasbohrer A, Roesler U, et al. Colistin resistance gene *mcr-1* in extended-spectrum β -lactamase-producing and carbapenemase-producing Gram-negative bacteria in Germany. *Lancet Infect Dis* 2016; 16: 282-3.
 95. Rapoport M, Faccone D, Pasteran F, Ceriana P, Alborno E, Petroni A, et al. First description of *mcr-1*-mediated colistin resistance in human infections caused by *Escherichia coli* in Latin America. *Antimicrob Agents Chemother* 2016; 60: 4412-3.
 96. Sonnevend A, Ghazawi A, Alqahtani M, Shibl A, Jamal W, Hashmey R, et al. Plasmid-mediated colistin resistance in *Escherichia coli* from the Arabian Peninsula. *Int J Infect Dis* 2016; 50: 85-90.
 97. Liu YY, Wang Y, Walsh TR, Yi LX, 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: 161-8.
 98. Bai L, Hurley D, Li J, Meng Q, Wang J, Fanning S, et al. Characterisation of multidrug-resistant Shiga toxin-producing *Escherichia coli* cultured from pigs in China: co-occurrence of extended-spectrum β -lactamase- and *mcr-1*-encoding plasmids. *Int J Antimicrob Agents* 2016; 48: 445-8.
 99. Du H, Chen L, Tang YW, Kreiswirth BN. Emergence of the *mcr-1* colistin resistance gene in carbapenem-resistant *Enterobacteriaceae*. *Lancet Infect Dis* 2016; 1(6): 287-8.
 100. Zhang R, Huang Y, Chan EW, Zhou H, Chen S. Dissemination of the *mcr-1* colistin resistance gene. *Lancet Infect Dis* 2016; 16: 291-2.
 101. Zeng KJ, Doi Y, Patil S, Huang X, Tian GB. Emergence of the plasmid mediated *mcr-1* gene in colistin-resistant *Enterobacter aerogenes* and *Enterobacter cloacae*. *Antimicrob Agents Chemother* 2016; 60: 3862-3.
 102. Zhang XF, Doi Y, Huang X, Li HY, Zhong LL, Zeng KJ, et al. Possible transmission of *mcr-1*-harboring *Escherichia coli* between companion animals and human. *Emerg Infect Dis* 2016; 22(9): 1679-81.

103. Yu H, Qu F, Shan B, Huang B, Jia W, Chen C, et al. Detection of mcr-1 colistin resistance gene in carbapenem-resistant *Enterobacteriaceae* (CRE) from different hospitals in China. *Antimicrob Agents Chemother* 2016; 60(8): 5033-5.
104. Hasman H, Hammerum AM, Hansen F, Hendriksen RS, Olesen B, Agersø Y, et al. Detection of mcr-1 encoding plasmid-mediated colistin-resistant *Escherichia coli* isolates from human bloodstream infection and imported chicken meat, Denmark 2015. *Euro Surveill* 2015; 20(49): 1-5.
105. Ortega-Paredes D, Barba P, Zurita J. Colistin-resistant *Escherichia coli* clinical isolate harbouring the mcr-1 gene in Ecuador. *Epidemiol Infect* 2016; 144(14): 2967-70.
106. Bialvaei AZ, Samadi Kafil H. Colistin, mechanisms and prevalence of resistance. *Curr Med Res Opin* 2015; 31: 707-21.
107. Coetzee J, Corcoran C, Prentice E, Moodley M, Mendelson M, Poirel L, et al. Emergence of plasmid-mediated colistin resistance (mcr-1) among *Escherichia coli* isolated from South African patients. *S Afr Med J* 2016; 106: 449-50.
108. Bernasconi OJ, Kuenzli E, Pires J, Tinguely R, Carattoli A, Hatz C, et al. Travelers can import colistin-resistant *Enterobacteriaceae* including those possessing the plasmid-mediated mcr-1 gene. *Antimicrob Agents Chemother* 2016; 60(8): 5080-4.
109. Nijhuis RH, Veldman KT, Schelfaut J, Van Essen-Zandbergen A, Wessels E, Claas EC, et al. Detection of the plasmid-mediated colistin-resistance gene mcr-1 in clinical isolates and stool specimens obtained from hospitalized patients using a newly developed real-time PCR assay. *J Antimicrob Chemother* 2016; 71(8): 2344-6.
110. Von Wintersdorff CJ, Wolffs PF, van Niekerk JM, Beuken E, van Alphen LB, Stobberingh EE, et al. Detection of the plasmid-mediated colistin-resistance gene mcr-1 in faecal metagenomes of Dutch travellers. *J Antimicrob Chemother* 2016; 71(12): 3416-9.
111. Wong SC, Tse H, Chen JH, Cheng VC, Ho PL, Yuen KY. Colistin-resistant *Enterobacteriaceae* carrying the mcr-1 gene among patients in Hong Kong. *Emerg Infect Dis* 2016; 22: 1667-9.

112. Cannatelli A, Giani T, Antonelli A, Principe L, Luzzaro F, Rossolini GM. First detection of the mcr-1 colistin resistance gene in *Escherichia coli* in Italy. *Antimicrob Agents Chemother* 2016; 60: 3257–8.
113. Doumith M, Godbole G, Ashton P, Larkin L, Dallman T, Day M, et al. Detection of the plasmid-mediated mcr-1 gene conferring colistin resistance in human and food isolates of *Salmonella enterica* and *Escherichia coli* in England and Wales. *J Antimicrob Chemother* 2016; 71(8): 2300–5.
114. Prim N, Rivera A, Rodriguez-Navarro J, Espanol M, Turbau M, Coll P, et al. Detection of mcr-1 colistin resistance gene in polyclonal *Escherichia coli* isolates in Barcelona, Spain, 2012 to 2015. *Euro Surveill* 2016; 21: 1-3.
115. Liassine N, Assouvie L, Descombes MC, Tendon VD, Kieffer N, Poirel L, et al. Very low prevalence of mcr-1/mcr-2 plasmid-mediated colistin resistance in urinary tract *Enterobacteriaceae* in Switzerland. *Int J Infect Dis* 2016; 51: 4–5.
116. Nordmann P, Assouvie L, Prod'Hom G, Poirel L, Greub G. Screening of plasmid-mediated mcr-1 colistin-resistance from bacteremia. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 2016; 35(11): 1891–2.
117. Nordmann P, Lienhard R, Kieffer N, Clerc O, Poirel L. Plasmid-mediated colistin-resistant *Escherichia coli* in bacteremia in Switzerland. *Clin Infect Dis* 2016; 62: 1322–3.
118. Stoesser N, Mathers AJ, Moore CE, Day NP, Crook DW. Colistin resistance gene mcr-1 and pHNSHP45 plasmid in human isolates of *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae*. *Lancet Infect Dis* 2016; 16: 285–6.
119. Payne M, Croxen MA, Lee TD, Mayson B, Champagne S, Leung V, et al. mcr-1-positive colistin-resistant *Escherichia coli* in traveler returning to Canada from China. *Emerg Infect Dis* 2016; 22: 1673–5.
120. Mulvey MR, Mataseje LF, Robertson J, Nash JH, Boerlin P, Toye B, et al. Dissemination of the mcr-1 colistin resistance gene. *Lancet Infect Dis* 2016; 16: 289–90.
121. Olaitan AO, Chabou S, Okdah L, Morand S, Rolain JM. Dissemination of the mcr-1 colistin resistance gene. *Lancet Infect Dis* 2016; 16: 147.
122. Yu CY, Ang GY, Chin PS, Ngeow YF, Yin WF, Chan KG. Emergence of mcr-1-mediated colistin resistance in *Escherichia coli* in Malaysia. *Int J Antimicrob Agents* 2016; 47: 504–5.

123. Elnahriry SS, Khalifa HO, Soliman AM, Ahmed AM, Hussein AM, Shimamoto T, et al. Emergence of plasmid-mediated colistin resistance gene *mcr-1* in a clinical *Escherichia coli* isolate from Egypt. *Antimicrob Agents Chemother* 2016; 60: 3249–50.
124. Izdebski R, Baraniak A, Bojarska K, Urbanowicz P, Fiett J, Pomorska-Wesolowska M, et al. Mobile *mcr-1*-associated resistance to colistin in Poland. *J Antimicrob Chemother* 2016; 71(8): 2331–3.
125. Teo JW, Chew KL, Lin RT. Transmissible colistin resistance encoded by *mcr-1* detected in clinical *Enterobacteriaceae* isolates in Singapore. *Emerg Microbes Infect* 2016; 5: e87.
126. Leangapichart T, Gautret P, Brouqui P, Memish Z, Raoult D, Rolain JM. Acquisition of *mcr-1* plasmid-mediated colistin resistance in *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae* during Hajj 2013 and 2014. *Antimicrob Agents Chemother* 2016; 60(11): 6998–9.
127. Kuo SC, Huang WC, Wang HY, Shiau YR, Cheng MF, Lauderdale TL. Colistin resistance gene *mcr-1* in *Escherichia coli* isolates from humans and retail meats, Taiwan. *J Antimicrob Chemother* 2016; 71(8): 2327–9.
128. Delgado-Blas JF, Ovejero CM, Abadia-Patino L, Gonzalez-Zorn B. Coexistence of *mcr-1* and *bla_{NDM-1}* in *Escherichia coli* from Venezuela. *Antimicrob Agents Chemother* 2016; 60(10): 6356–8.
129. Pham Thanh D, Thanh Tuyen H, Nguyen Thi Nguyen T, Chung The H, Wick RR, Thwaites GE, et al. Inducible colistin resistance via a disrupted plasmid-borne *mcr-1* gene in a 2008 Vietnamese *Shigella sonnei* isolate. *J Antimicrob Chemother* 2016; 71(8): 2314–7.
130. Sun P, Bi Z, Nilsson M, Zheng B, Berglund B, Lundborg CS, et al. Occurrence of *bla_{KPC-2}*, *bla_{CTX-M}*, and *mcr-1* in *Enterobacteriaceae* from well water in rural China. *Antimicrob Agents Chemother* 2017; 61(4): e02569–16.
131. Kim ES, Chong YP, Park SJ, Kim MN, Kim SH, Lee SO, et al. Detection and genetic features of *mcr-1*-producing plasmid in human *Escherichia coli* infection in South Korea. *Diagn Microbiol Infect Dis.* 2017; 89(2): 158–160.

132. Tada T, Nhung PH, Shimada K, Tsuchia M, Phuong DM, Anh NQ, et al. Emergence of a colistin-resistant *Escherichia coli* clinical isolate harboring *mcr-1* in Vietnam. *Int J Infect Dis* 2017; 63: 72-73.
133. Lai CC, Chuang, YC, Chen CC, Tang HJ. Coexistence of *mcr-1* and NDM-9 in a clinical carbapenem-resistant *Escherichia coli* isolate. *Int J Antimicrob Agents* 2017; 49(4): 517-518.
134. Pragasa AK, Shankar C, Veeraraghavan B, Biswas I, Nabarro LEB, Inbanathan FY. Molecular mechanisms of colistin resistance in *Klebsiella pneumoniae* causing bacteremia from India - A first report. *Front Microbiol* 2017; 7: 2135.
135. Pavenkittiporn W, Kerdsin A, Chokngam S, Bunthi C, Sangkitporn S, Gregory CJ. Emergence of plasmid mediated colistin resistance and New Delhi metallo- β -lactamase in extensively drug-resistant *Escherichia coli* isolated from a patient in Thailand. *Diagn Microbiol Infect Dis* 2017; 87(2): 157-9.
136. Tada T, Uechi K, Nakasone I, Shimada K, Nakamatsu M, Kirikae T, et al. Emergence of a colistin-resistant *Escherichia coli* clinical isolate harboring *mcr-1* in Japan. *Int J Infect Dis* 2017; 63: 21-2.
137. Sanchez-Benito R, Iglesias MR, Quijada NM, Campos MJ, Ugarte-Ruiz M, Hernandez M, et al. *Escherichia coli* ST167 carrying plasmid mobilisable *mcr-1* and *bla_{CTX-M-15}* resistance determinants isolated from a human respiratory infection. *Int J Antimicrob Agents* 2017; 50(2): 285-6.
138. Ortiz de la Tabla V, Ortega A, Bunuel F, Perez-Vasquez M, Marcos B, Oteo J. Detection of the high-risk clone ST131 of *Escherichia coli* carrying the colistin resistance gene *mcr-1* and causing acute peritonitis. *Int J Antimicrob Agents* 2017; 49(1): 115-6.
139. Caspar Y, Maillet M, Pavese P, Francony G, Brion JP, Mallaret MR, et al. *mcr-1* colistin resistance in ESBL-producing *Klebsiella pneumoniae*, France. *Emerg Inf Dis* 2017; 23(5): 874-6.
140. Robin F, Beyrouthy R, Colot J, Saint-Sardos P, Berger-Carbonne A, Dalmasso G, et al. *mcr-1* in ESBL-producing *Escherichia coli* responsible for human infections in New Caledonia. *J Antimicrob Chemother* 2017; 72(3): 946-7.
141. Huang J, Tang YQ, Sun JY. Intravenous colistin sulfate: a rarely used form of polymyxin E for the treatment of severe multidrug-

- resistant Gram-negative bacterial infections. *Scand J Infect Dis* 2010; 42(4): 260-5.
142. Hartl R, Kerschner H, Lepuschitz S, Ruppitsch, Allerberger F, Apfalter P. Detection of the *mcr-1* gene in a multidrug-resistant *Escherichia coli* isolate from an Austrian patient. *Antimicrob Agents Chemother* 2017; 61(4): e02623-16.
 143. Torpdahl M, Hasman H, Litrup E, Skov RL, Nielsen EM, Hammerum AM. Detection of *mcr-1*-encoding plasmid-mediated colistin-resistant *Salmonella* isolates from human infection in Denmark. *Int J Antimicrob Agents* 2017; 49(2): 261-2.
 144. Tação M, Tavares RDS, Teixeira P, Roxo I, Ramalheira E, Ferreira S, et al. *mcr-1* and *bla_{KPC-3}* in *Escherichia coli* Sequence Type 744 after meropenem and colistin therapy, Portugal. *Emerg Infect Dis* 2017; 23(8): 1419-21.
 145. Mohsin J, Pál T, Petersen JE, Darwish D, Ghazawi A, Ashraf T, et al. Plasmid-mediated colistin resistance gene *mcr-1* in an *Escherichia coli* ST10 bloodstream isolate in the Sultanate of Oman. *Microb Drug Resist* 2017; Epub ahead of print. doi: 10.1089/mdr.2017.0131.
 146. Newton-Foot M, Snyman Y, Maloba MRB, Whitelaw AC. Plasmid mediated *mcr-1* colistin resistance in *Escherichia coli* and *Klebsiella spp.* Clinical isolated from the Western Cape region of South Africa. *Antimicrobial Res Infect Cont* 2017; 6: 78.
 147. Macesic N, Green D, Wang Z, Sullivan SB, Shim K, Park S, et al. Detection of *mcr-1*-carrying *Escherichia coli* causing bloodstream infection in a New York City hospital: Avian origins, human concerns? *Open Forum Infect Dis* 2017; 4(3): ofx115.
 148. Aries CAM, Conceicao-Neto OC, Oliviera TRT, Dias CF, Montezzi LF, Picao RC, et al. Emergence of the plasmid-mediated *mcr-1* gene in clinical KPC-2 producing *Klebsiella pneumoniae* Sequence Type 392 in Brazil. *Antimicrob Agents Chemother* 2017; 60(10): 6415-7.
 149. Fernandes MR, McCulloch JA, Vianello MA, Moura Q, Perez-Chaparro P, Esposito F, et al. First report of the globally disseminated IncX4 plasmid carrying the *mcr-1* gene in a colistin-resistant *Escherichia coli* Sequence Type

- 101 isolate from a human infection in Brazil. *Antimicrob Agents Chemother* 2017; 61:7.
150. Rapoport M, Faccone D, Pasteran F, Ceriana P, Alborno E, Petroni A, et al. First description of mcr-1-mediated colistin resistance in human infections caused by *Escherichia coli* in Latin America. *Antimicrob Agents Chemother* 2016; 60(7): 4412-3.
 151. Ellem JA, Ginn AN, Chen SC, Ferguson J, Partridge SR, Iredell JR, Locally acquired mcr-1 in *Escherichia coli*, Australia, 2011 and 2013. *Emerg Infect Dis* 2017; 23(7): 1160-3.
 152. Chiou CS, Chen YT, Wang YW, Liu YY, Kuo HC, Tu YH, et al. Dissemination of mcr-1-carrying plasmids among colistin-resistant *Salmonella* strains from humans and food-producing animals in Taiwan. *Antimicrob Agents Chemother* 2017;61(7): e00338-17.
 153. Baron S, Bardet L, Dubourg G, Fichaux M, Rolain JM. mcr-1 plasmid-mediated colistin resistance gene detection in an *Enterobacter cloacae* clinical isolate in France, *J Glob Antimicrob Resist* 2017; 10: 35-6.
 154. Li XP, Fang LX, Jiang P, Pan D, Xia J, Liao XP, et al. Emergence of the colistin resistance gene mcr-1 in *Citrobacter freundii*. *Int J Antimicrob Agents* 2017; 49(6): 786-7.
 155. Matamoros S, Van Hattem JM, Arcilla MS, Willemse M, Melles DC, Penders J, et al. Global phylogenetic analysis of *Escherichia coli* and plasmids carrying the mcr-1 gene indicates bacterial diversity but plasmid restriction. *Sci Rep* 2017; 7: 15364.
 156. Xavier BB, Lammens C, Ruhel R, Kumar-Singh S, Butaye P, Goossens H, et al. Identification of a novel plasmid-mediated colistin-resistance gene, mcr-2, in *Escherichia coli*, Belgium, June 2016. *Euro Surveill* 2016, 21(27): 30280.
 157. Di Pilato V, Arena F, Tascini C, Cannatelli A, Henrici De Angelis L, Fortunato S, et al. Mcr-1.2, a new mcr variant carried on a transferable plasmid from a colistin-resistant KPC carbapenemase-producing *Klebsiella pneumoniae* strain of Sequence Type 512. *Antimicrob Agents Chemother* 2016; 60(9): 5612-5.

158. Yang YQ, Li YX, Song T, Yang XY, Jiang W, Zhang AY et. al. Colistin resistance gene *mcr1* and its variant in *Escherichia coli* isolates from chickens in China. *Antimicrob Agents Chemother* 2017; 61(5): e01204-16.
159. Lu X, Hu Y, Luo M, Zhou H, Wang X, Du Y, et. al. Mcr-1.6, a new *mcr* variant carried by an IncP plasmid in a colistin-resistant *Salmonella enterica* Serovar *Typhimurium* isolate from a healthy individual. *Antimicrob Agents Chemother* 2017; 61(5): e02632-16.
160. Yin W, Li H, Shen Y, Liu Z, Wang S, Shen Z et. al. Novel plasmid-mediated colistin resistance gene *mcr-3* in *Escherichia coli*. *MBio* 2017; 8(3): e0054317.
161. Roer L, Hansen F, Stegger M, Sönksen UW, Hasman H, Hammerum AM. Novel *mcr-3* variant, encoding mobile colistin resistance, in an ST131 *Escherichia coli* isolate from bloodstream infection, Denmark, 2014. *Euro Surveill* 2017; 22(31): 30584.
162. Litrup E, Kiil K, Hammerum AM, Roer L, Nielsen EM, Torpdahl M. Plasmid-borne colistin resistance gene *mcr3* in *Salmonella* isolates from human infections, Denmark, 2009-17. *Euro Surveill* 2017; 22(31): 30587.
163. Vasoo S, Barreto JN, Tosh PK. Emerging issues in gram-negative bacterial resistance: an update for the practicing clinician. *Mayo Clin Proc* 2015; 90(3): 395-403.
164. Yilmaz GR, Dizbay M, Guven T, Pullukcu H, Tasbakan M, Guzel OT, et. al. Risk factors for infection with colistin resistant gram-negative microorganisms: a multicenter study. *Ann Saudi Med* 2016; 36(3): 216-22.
165. Giacobbe DR, Bono VD, Trecarichi EM, De Rosa FG, Giannella M, Bassetti M, et al. Risk factors for bloodstream infections due to colistin-resistant KPC-producing *Klebsiella pneumoniae*: results from a multicenter case-control-control study. *Clin Microbiol Infect* 2015; 21: 1106.e1-1106.e8.
166. Capone A, Giannella M, Fortini D, Giordano A, Meledandri M, Ballardini M, et. al. High rate of colistin resistance among patients with carbapenem-resistant *Klebsiella pneumoniae* infection accounts for an excess of mortality. *Clin Microbiol Infect* 2013; 19(1): 23–30.

167. WHO. Global Action Plan on Antimicrobial Resistance, 2015. http://www.wpro.who.int/entity/drug_resistance/resources/global_action_plan_eng.pdf
168. Arda B, Sipahi OR, Yamazhan T, Tasbakan M, Pullukcu H, Tunger A, et al. Short-term effect of antibiotic control policy on the usage patterns and cost of antimicrobials, mortality, nosocomial infection rates and antibacterial resistance. *J Infect* 2007; 55(1): 41-8.
169. Azap A, Topçuoğlu A, Yeşilkaya A, Arat M, Memikoğlu O, Akan Ö, et al. The effect of a nationwide antibiotic restriction policy on antibiotic usage in a stem cell transplantation unit. *Turk J Haematol* 2005; 22(2): 87-90.
170. Hoşoğlu S, Esen S, Öztürk R, Altındış M, Ertek M, Kaygusuz S, et al. The effect of a restriction policy on the antimicrobial consumption in Turkey: a country-wide study. *Eur J Clin Pharmacol* 2005; 61(10): 727-31.
171. Akalın H. Antimikrobiyal direnç ve önleme politikaları. *ANKEM Derg* 2011; 25(3): 190-5.
172. Pomba C, Rantala M, Greko C, Baptista KE, Catry B, Van Duijkeren E, et. al. Public health risk of antimicrobial resistance transfer from companion animals. *J Antimicrob Chemother*, 2017; 72(4): 957-68.
173. Rubin JE, Ekanayake S, Fernando C. Carbapenemase producing organism in food, 2014. *Emerg Infect Dis* 2014; 20(7): 1264-5.
174. Morrison BJ, Rubin JE. Carbapenemase producing bacteria in the food supply escaping detection. *PLoS ONE* 2015; 10(5): e0126717.
175. Fischer J, Rodriguez I, Schmogger S, Friese A, Roesler U, Helmuth R, et. al. Escherichia coli producing VIM-1 carbapenemase isolated on a pig farm. *J Antimicrob Chemother*, 2012; 67(7): 1793-5.
176. Irrgang A, Roschanski N, Tenhagen BA, Grobbel M, Skladnikiewicz-Ziemer T, Thomas K, et al. Prevalence of mcr-1 in *E.coli* from livestock and food in Germany, 2010-2015. *PLoS ONE* 2016; 11(7): e0159863.
177. Coglianini C, Goossens H, Greko C. Restricting antimicrobial use in food animals: Lessons from Europe. *Microbe* 2011; 6(6): 274-9.

HAM VERİLER

Kolistine dirençli kökenlerin fenotipik duyarlılık test sonuçları ve yorumları.
(Di: dirençli, Du: duyarlı)

Örnek	Sıvı Dilüsyon		VITEK 2		MIC Test Strip		Disk 10µg		Disk 50µg	
	MİK	Yorum	MİK	Yorum	MİK	Yorum	Değer	Yorum	Değer	Yorum
2404	16	Di	≥16	Di	1,5	Du	11	Du	18	Du
2533	>256	Di	≥16	Di	3	Di	7	Di	15	Du
2928	16	Di	≥16	Di	6	Di	12	Du	15	Du
3150	>32	Di	≥16	Di	4	Di	7	Di	16	Du
3742	>32	Di	≥16	Di	2	Du	12	Du	19	Du
3886	>32	Di	≥16	Di	6	Di	10	Di	15	Du
3905	>32	Di	≥16	Di	6	Di	8	Di	16	Du
3908	32	Di	≥16	Di	4	Di	13	Du	17	Du
3948	>32	Di	≥16	Di	2	Du	9	Di	16	Du
3969	32	Di	≥16	Di	4	Di	10	Di	14	Di
3989	16	Di	≥16	Di	1,5	Du	12	Du	17	Du
4022	>32	Di	≥16	Di	0,75	Du	12	Du	18	Du
4077	16	Di	≥16	Di	3	Di	10	Di	16	Du
4083	>32	Di	≥16	Di	3	Di	9	Di	16	Du
4109	>32	Di	≥16	Di	8	Di	6	Di	14	Di
4111	>32	Di	8	Di	1,5	Du	13	Du	17	Du
4114	32	Di	2	Du	1	Du	13	Du	17	Du
4423	>32	Di	≥16	Di	1	Du	8	Di	16	Du
4448	>32	Di	≥16	Di	16	Di	7	Di	10	Di
4482	>32	Di	≥16	Di	6	Di	6	Di	15	Du
ATCC 25922	1	Du	≤0,5	Du	0,75	Du	12	Du	20	Du

Kolistine duyarlı kökenlerin fenotipik duyarlılık test sonuçları ve yorumları.

(Di: dirençli, Du: duyarlı)

Örnek	Sıvı Dilüsyon		VITEK 2		MIC Test Strip		Disk 10µg		Disk 50µg	
	MİK	Yorum	MİK	Yorum	MİK	Yorum	Değer	Yorum	Değer	Yorum
2028	1	Du	≤0,5	Du	0,75	Du	12	Du	16	Du
2320	1	Du	≤0,5	Du	0,75	Du	12	Du	16	Du
9567	1	Du	≤0,5	Du	1,5	Du	13	Du	17	Du
2773	1	Du	≤0,5	Du	0,75	Du	12	Du	16	Du
2711	1	Du	≤0,5	Du	1	Du	12	Du	16	Du
2708	1	Du	≤0,5	Du	1	Du	12	Du	16	Du
2322	1	Du	≤0,5	Du	1	Du	13	Du	17	Du
2223	1	Du	≤0,5	Du	0,75	Du	12	Du	16	Du
2022	1	Du	≤0,5	Du	1	Du	12	Du	16	Du
1956	1	Du	≤0,5	Du	0,75	Du	12	Du	16	Du
1511	1	Du	≤0,5	Du	0,75	Du	12	Du	16	Du
1423	1	Du	≤0,5	Du	0,75	Du	14	Du	17	Du
55	1	Du	≤0,5	Du	0,75	Du	12	Du	16	Du
50	1	Du	≤0,5	Du	1,5	Du	12	Du	16	Du
1287	1	Du	≤0,5	Du	1,5	Du	13	Du	16	Du
2388	1	Du	≤0,5	Du	0,75	Du	13	Du	17	Du
2399	1	Du	≤0,5	Du	1	Du	13	Du	17	Du
2717	1	Du	≥16	Di	0,75	Du	12	Du	16	Du
2274	1	Du	≤0,5	Du	0,75	Du	12	Du	16	Du
3701	1	Du	≥16	Di	1	Du	12	Du	16	Du
ATCC 25922	1	Du	≤0,5	Du	0,75	Du	12	Du	20	Du

Sıvı mikrodilüsyon testi ile kıyaslandığında diğer fenotipik testlerin büyük hata (BH) ve çok büyük hata (ÇBH) oranları.

Hata oranları	10µg disk	50µg disk	MIC Test Strip	VITEK 2
BH	%0	%0	%0	%10
ÇBH	%40	%85	%40	%5

mgrB gen mutasyonu analizi sonuçları (DT: Doğal tip).

Örnek Numarası	<i>mgrB</i> genotipi
2404	<i>mgrB</i> DT
3533	<i>mgrB</i> DT
2928	<i>mgrB</i> DT
3150	<i>mgrB</i> DT
3742	<i>mgrB</i> DT
3886	<i>mgrB</i> DT
3905	<i>mgrB</i> DT
3908	<i>mgrB</i> DT
3948	<i>mgrB</i> DT
3969	<i>mgrB</i> DT
3989	<i>mgrB</i> DT
4022	<i>mgrB</i> DT
4077	<i>mgrB</i> DT
4083	<i>mgrB</i> DT
4109	<i>mgrB</i> DT
4111	<i>mgrB</i> DT
4114	<i>mgrB</i> DT
4423	<i>mgrB</i> DT
4448	<i>mgrB</i> DT
4482	<i>mgrB</i> DT
ATCC 700603	<i>mgrB</i> DT

mcr-1 ve *mcr-2* plazmid analizi sonuçları.

Örnek Numarası	<i>mcr-1</i>	<i>mcr-2</i>
2404	negatif	negatif
3533	negatif	negatif
2928	negatif	negatif
3150	negatif	negatif
3742	negatif	negatif
3886	negatif	negatif
3905	negatif	negatif
3908	negatif	negatif
3948	negatif	negatif
3969	negatif	negatif
3989	negatif	negatif
4022	negatif	negatif
4077	negatif	negatif
4083	negatif	negatif
4109	negatif	negatif
4111	negatif	negatif
4114	negatif	negatif
4423	negatif	negatif
4448	negatif	negatif
4482	negatif	negatif
ATCC 700603	negatif	negatif

Kökenlerin *pmrA* gen ekspresyon analizi sonuçları.

Duyarlı Kökenler				Dirençli Kökenler			
Örnek Numarası	pmrA Mean Cq	rpsL Mean Cq	2 ^{-ΔΔCq}	Örnek Numarası	pmrA Mean Cq	rpsL Mean Cq	2 ^{-ΔΔCq}
50	35,12	24,27	0,52	2404	29,44	23,54	20,20
55	28,09	23,61	43,36	2928	29,37	23,16	16,31
1287	32,67	22,05	0,61	3150	28,87	22,51	14,73
1423	32,13	22,98	1,70	3533	29,16	22,14	9,31
1511	30,98	22,29	2,34	3742	29,59	22,90	11,71
1956	32,95	22,33	0,61	3869	29,52	22,75	11,08
2022	29,83	23,59	12,79	3886	29,82	22,77	9,16
2028	32,35	23,04	1,53	3905	30,47	23,28	8,31
2223	32,67	23,33	1,48	3908	30,20	22,86	7,51
2274	30,55	24,78	17,63	3948	32,73	22,56	1,06
2320	34,13	22,52	0,31	3989	30,54	22,59	4,91
2322	30,92	23,70	6,46	4022	28,99	21,64	7,42
2388	32,90	24,62	3,11	4077	29,81	22,85	9,75
2399	32,58	23,82	2,23	4083	30,79	24,01	11,04
2708	33,60	24,57	1,84	4109	33,64	22,41	0,51
2711	35,73	21,94	0,07	4111	31,88	23,36	3,30
2717	34,01	23,83	0,83	4114	31,48	22,79	2,95
2773	32,73	22,92	1,08	4423	34,55	23,44	0,55
3701	33,49	24,22	1,57	4448	31,84	24,44	7,19
9567	34,41	23,22	0,41	4482	32,02	21,61	0,90
ATCC	32,79	22,87	1,00	ATCC	32,14	21,89	1,00

Kökenlerin *pmrB* gen ekspresyon analizi sonuçları.

Duyarlı Kökenler				Dirençli Kökenler			
Örnek Numarası	pmrB Mean Cq	rpsL Mean Cq	2 ^{-ΔΔCq}	Örnek Numarası	pmrB Mean Cq	rpsL Mean Cq	2 ^{-ΔΔCq}
50	27,88	24,27	0,71	2404	25,46	23,54	2,96
55	27,24	23,61	0,70	2928	26,61	23,16	1,03
1287	27,71	22,05	0,17	3150	26,90	22,51	0,53
1423	28,43	22,98	0,20	3533	25,05	22,14	1,50
1511	27,34	22,29	0,26	3742	26,05	22,90	1,26
1956	27,39	22,33	0,26	3869	27,31	22,75	0,47
2022	27,04	23,59	0,79	3886	27,23	22,77	0,51
2028	28,35	23,04	0,22	3905	27,21	23,28	0,74
2223	28,38	23,33	0,26	3908	24,61	22,86	3,36
2274	29,77	24,78	0,27	3948	27,52	22,56	0,36
2320	30,55	22,52	0,03	3989	26,34	22,59	0,84
2322	27,52	23,70	0,61	4022	26,27	21,64	0,45
2388	28,47	24,62	0,60	4077	25,40	22,85	1,92
2399	27,84	23,82	0,53	4083	26,27	24,01	2,35
2708	28,18	24,57	0,71	4109	26,47	22,41	0,68
2711	31,19	21,94	0,01	4111	27,80	23,36	0,52
2717	28,09	23,83	0,45	4114	25,00	22,79	2,44
2773	28,80	22,92	0,15	4423	26,62	23,44	1,24
3701	28,43	24,22	0,47	4448	27,46	24,44	1,39
9567	28,45	23,22	0,23	4482	22,06	21,61	8,28
ATCC	25,98	22,87	1,00	ATCC	25,38	21,89	1,00

Kökenlerin *pmrC* gen ekspresyon analizi sonuçları.

Duyarlı Kökenler				Dirençli Kökenler			
Örnek Numarası	<i>pmrC</i> Mean Cq	<i>rpsL</i> Mean Cq	$2^{-\Delta\Delta Cq}$	Örnek Numarası	<i>pmrC</i> Mean Cq	<i>rpsL</i> Mean Cq	$2^{-\Delta\Delta Cq}$
50	28,12	24,27	1440,42	2404	26,21	23,54	1656,56
55	27,43	23,61	1470,94	2928	27,33	23,16	584,57
1287	27,05	22,05	648,84	3150	27,82	22,51	265,21
1423	28,55	22,98	436,22	3533	25,45	22,14	1064,85
1511	27,83	22,29	446,67	3742	26,09	22,90	1160,91
1956	28,22	22,33	349,38	3869	29,83	22,75	77,85
2022	27,49	23,59	1385,88	3886	27,57	22,77	379,99
2028	28,50	23,04	471,46	3905	27,83	23,28	450,56
2223	32,42	23,33	37,94	3908	24,29	22,86	3918,32
2274	29,72	24,78	671,79	3948	27,64	22,56	312,90
2320	28,04	22,52	453,20	3989	27,35	22,59	390,55
2322	28,24	23,70	885,50	4022	27,18	21,64	227,09
2388	28,61	24,62	1306,31	4077	25,39	22,85	1820,60
2399	27,93	23,82	1198,79	4083	26,85	24,01	1478,08
2708	28,37	24,57	1491,81	4109	27,17	22,41	389,28
2711	27,72	21,94	376,12	4111	28,27	23,36	352,07
2717	29,43	23,83	425,18	4114	25,54	22,79	1576,38
2773	29,11	22,92	284,23	4423	26,48	23,44	1281,13
3701	28,24	24,22	1275,37	4448	27,46	24,44	1302,13
9567	28,94	23,22	394,31	4482	30,52	21,61	22,04
ATCC	37,21	22,87	1,00	ATCC	35,26	21,89	1,00

Kökenlerin *pmrD* gen ekspresyon analizi sonuçları.

Duyarlı Kökenler				Dirençli Kökenler			
Örnek Numarası	pmrD Mean Cq	rpsL Mean Cq	2 ^{-ΔΔCq}	Örnek Numarası	pmrD Mean Cq	rpsL Mean Cq	2 ^{-ΔΔCq}
50	30,54	24,27	1341,70	2404	28,23	23,54	7185,81
55	29,79	23,61	1430,11	2928	28,67	23,16	4091,67
1287	27,40	22,05	2547,46	3150	27,96	22,51	4257,16
1423	30,79	22,98	463,78	3533	29,12	22,14	1476,40
1511	30,48	22,29	354,78	3742	28,70	22,90	3354,84
1956	30,79	22,33	296,00	3869	28,62	22,75	3191,66
2022	30,26	23,59	1020,50	3886	28,45	22,77	3629,85
2028	30,94	23,04	434,97	3905	29,38	23,28	2711,35
2223	30,97	23,33	520,15	3908	27,21	22,86	9178,82
2274	31,94	24,78	722,37	3948	28,84	22,56	2391,93
2320	32,54	22,52	99,73	3989	28,87	22,59	2404,48
2322	31,06	23,70	631,99	4022	28,33	21,64	1797,34
2388	31,95	24,62	644,81	4077	27,65	22,85	6712,02
2399	30,77	23,82	838,28	4083	29,46	24,01	4246,58
2708	31,65	24,57	764,59	4109	26,83	22,41	8706,63
2711	33,22	21,94	41,54	4111	28,17	23,36	6651,85
2717	31,76	23,83	423,55	4114	32,65	22,79	200,89
2773	30,65	22,92	487,13	4423	29,26	23,44	3297,35
3701	30,91	24,22	1004,02	4448	28,32	24,44	12727,73
9567	30,35	23,22	741,32	4482	24,45	21,61	26050,72
ATCC	39,53	22,87	1,00	ATCC	39,40	21,89	1,00

Kökenlerin *pmrE* gen ekspresyon analizi sonuçları.

Duyarlı Kökenler				Dirençli Kökenler			
Örnek Numarası	pmrE Mean Cq	rpsL Mean Cq	2 ^{-ΔΔCq}	Örnek Numarası	pmrE Mean Cq	rpsL Mean Cq	2 ^{-ΔΔCq}
50	28,09	24,27	1,96	2404	26,99	23,54	4,56
55	33,45	23,61	0,03	2928	27,67	23,16	2,20
1287	33,83	22,05	0,01	3150	27,72	22,51	1,35
1423	25,70	22,98	4,21	3533	27,24	22,14	1,46
1511	26,16	22,29	1,90	3742	26,69	22,90	3,61
1956	26,50	22,33	1,54	3869	27,03	22,75	2,57
2022	25,33	23,59	8,33	3886	27,02	22,77	2,63
2028	28,49	23,04	0,64	3905	27,54	23,28	2,61
2223	26,34	23,33	3,44	3908	26,45	22,86	4,18
2274	31,04	24,78	0,36	3948	28,37	22,56	0,89
2320	31,99	22,52	0,04	3989	26,75	22,59	2,82
2322	34,03	23,70	0,02	4022	26,17	21,64	2,16
2388	27,40	24,62	4,03	4077	35,22	22,85	0,01
2399	26,70	23,82	3,76	4083	28,05	24,01	3,03
2708	26,08	24,57	9,74	4109	27,59	22,41	1,39
2711	33,58	21,94	0,01	4111	28,01	23,36	1,99
2717	26,63	23,83	3,98	4114	27,69	22,79	1,68
2773	25,92	22,92	3,46	4423	27,38	23,44	3,25
3701	26,84	24,22	4,50	4448	29,23	24,44	1,82
9567	25,73	23,22	4,89	4482	24,31	21,61	7,72
ATCC	27,67	22,87	1,00	ATCC	27,54	21,89	1,00

Kökenlerin *pmrK* gen ekspresyon analizi sonuçları.

Duyarlı Kökenler				Dirençli Kökenler			
Örnek Numarası	pmrK Mean Cq	rpsL Mean Cq	2- $\Delta\Delta Cq$	Örnek Numarası	pmrK Mean Cq	rpsL Mean Cq	2- $\Delta\Delta Cq$
50	32,57	24,27	2,28	2404	26,69	23,54	1794,81
55	31,20	23,61	3,75	2928	27,06	23,16	1066,95
1287	31,94	22,05	0,76	3150	28,46	22,51	258,66
1423	31,83	22,98	1,57	3533	28,99	22,14	138,81
1511	32,01	22,29	0,86	3742	27,97	22,90	477,23
1956	31,84	22,33	0,99	3869	27,09	22,75	787,33
2022	31,83	23,59	2,38	3886	28,24	22,77	360,67
2028	31,48	23,04	2,08	3905	28,53	23,28	420,00
2223	30,39	23,33	5,41	3908	28,00	22,86	453,47
2274	31,62	24,78	6,27	3948	28,39	22,56	280,33
2320	30,23	22,52	3,43	3989	27,75	22,59	448,02
2322	31,78	23,70	2,66	4022	29,29	21,64	79,65
2388	33,36	24,62	1,68	4077	27,79	22,85	522,86
2399	30,62	23,82	6,47	4083	30,93	24,01	131,69
2708	34,83	24,57	0,59	4109	27,55	22,41	452,95
2711	29,61	21,94	3,53	4111	27,10	23,36	1197,80
2717	31,19	23,83	4,37	4114	29,96	22,79	111,81
2773	28,96	22,92	10,91	4423	28,65	23,44	430,87
3701	31,91	24,22	3,49	4448	28,51	24,44	952,67
9567	30,39	23,22	5,01	4482	25,56	21,61	1042,28
ATCC	32,36	22,87	1,00	ATCC	35,86	21,89	1,00

Kökenlerin *phoP* gen ekspresyon analizi sonuçları.

Duyarlı Kökenler				Dirençli Kökenler			
Örnek Numarası	phoP Mean Cq	rpsL Mean Cq	2 ^{-ΔΔCq}	Örnek Numarası	phoP Mean Cq	rpsL Mean Cq	2 ^{-ΔΔCq}
50	32,11	24,27	0,46	2404	32,02	23,54	1,38
55	31,34	23,61	0,50	2928	31,27	23,16	1,79
1287	31,78	22,05	0,12	3150	31,02	22,51	1,36
1423	32,00	22,98	0,20	3533	36,10	22,14	0,03
1511	31,18	22,29	0,22	3742	31,20	22,90	1,57
1956	32,41	22,33	0,10	3869	31,89	22,75	0,88
2022	30,68	23,59	0,77	3886	31,87	22,77	0,90
2028	31,34	23,04	0,33	3905	32,36	23,28	0,91
2223	31,46	23,33	0,37	3908	31,07	22,86	1,68
2274	33,19	24,78	0,31	3948	31,05	22,56	1,38
2320	30,72	22,52	0,36	3989	30,93	22,59	1,54
2322	31,47	23,70	0,48	4022	30,27	21,64	1,25
2388	31,93	24,62	0,66	4077	30,67	22,85	2,19
2399	33,19	23,82	0,16	4083	36,89	24,01	0,07
2708	31,47	24,57	0,88	4109	31,05	22,41	1,24
2711	24,56	21,94	17,09	4111	32,27	23,36	1,03
2717	32,26	23,83	0,30	4114	32,29	22,79	0,69
2773	30,41	22,92	0,58	4423	31,54	23,44	1,80
3701	31,91	24,22	0,51	4448	32,18	24,44	2,33
9567	31,46	23,22	0,35	4482	29,09	21,61	2,79
ATCC	29,59	22,87	1,00	ATCC	30,85	21,89	1,00

Kökenlerin *phoQ* gen ekspresyon analizi sonuçları.

Duyarlı Kökenler				Dirençli Kökenler			
Örnek Numarası	phoQ Mean Cq	rpsL Mean Cq	2 ^{-ΔΔCq}	Örnek Numarası	phoQ Mean Cq	rpsL Mean Cq	2 ^{-ΔΔCq}
50	28,76	24,27	0,91	2404	27,03	23,54	7,52
55	25,95	23,61	4,05	2928	27,26	23,16	4,91
1287	26,80	22,05	0,76	3150	26,88	22,51	4,09
1423	27,58	22,98	0,84	3533	27,02	22,14	2,86
1511	27,31	22,29	0,63	3742	26,40	22,90	7,48
1956	27,89	22,33	0,44	3869	27,15	22,75	4,01
2022	27,25	23,59	1,63	3886	26,55	22,77	6,16
2028	28,11	23,04	0,61	3905	27,06	23,28	6,15
2223	28,07	23,33	0,77	3908	26,22	22,86	8,28
2274	28,57	24,78	1,48	3948	26,24	22,56	6,61
2320	31,55	22,52	,0,04	3989	26,43	22,59	5,92
2322	28,35	23,70	0,81	4022	26,86	21,64	2,26
2388	27,87	24,62	2,16	4077	25,61	22,85	12,54
2399	28,62	23,82	0,74	4083	27,94	24,01	5,56
2708	29,09	24,57	0,89	4109	26,60	22,41	4,65
2711	27,97	21,94	0,31	4111	27,21	23,36	5,86
2717	28,37	23,83	0,88	4114	29,02	22,79	1,13
2773	27,88	22,92	0,66	4423	27,21	23,44	6,18
3701	28,28	24,22	1,23	4448	27,26	24,44	11,99
9567	27,94	23,22	0,78	4482	24,09	21,61	15,23
ATCC	27,23	22,87	1,00	ATCC	28,30	21,89	1,00

Kolistine duyarlı (Du) ve dirençli (Di) kökenlerin ekspresyon düzeyleri araştırılan genler için aykırı değer analizi sonrası ortalama 2^{-ΔΔCq} değerleri.

Gen	pmrA	pmrB	pmrC	pmrD	pmrE	pmrK	phoP	phoQ
Di Ortalama	7,89	1,29	778,57	4642,86	2,33	570,44	1,34	6,47
Du Ortalama	1,26	0,38	772,52	645,33	2,84	3,42	0,4	0,87
Di/Du oranı	6,26	3,39	1,01	7,19	0,82	166,80	3,35	7,44

Kolistine dirençli kökenlerin VITEK 2 raporları

Hasta Adı:
İzolat Grubu: 4022-1

Hasta ID:
Tezgah: DİGER

Kart Türü: AST-N325 Test Cihazı: 00000A69E54A (4367)

Organizma Miktarı:
Seçilen Organizma: Klebsiella pneumoniae

Duyarlılık Bilgileri	Kart: AST-N325		Lot No: 7650240103	Son Kullanım Tarihi: 24.Tem.2018 13:00 CDT	
	Tamamlandı: 16.Kas.2017 15:38 CST		Durum: Son	Analiz Zamanı: 8,75 saat	
Antimikrobiyal	MIK	Yorum	Antimikrobiyal	MIK	Yorum
Ampisilin	>= 32	R	Seftriakson	>= 64	R
Amoksisilin/Klavulanik Asit			Sefepim	>= 32	R
İdrar	>= 32		Ertapenem	>= 8	R
Diğer	>= 32	R	Meropenem	>= 16	R
Piperasilin/Tazobaktam	>= 128	R	Amikasin	>= 64	R
Sefazolin	>= 64	R	Gentamisin	>= 16	R
Sefuroksim	>= 64	R	Siprofloksasin	>= 4	R
Sefuroksim Aksetil	>= 64	R	Tigesiklin	4	R
Sefoksitin	>= 64	R	Kolistin	>= 16	R
Seftazidim	>= 64	R	Trimetoprim/Sülfametaksazol	>= 320	R

+= Genişletilen antibiyotik *= AES tarafından değiştirildi **= Kullanıcı tarafından değiştirildi

AES Bulguları:		Son Değiştirilme Tarihi: 09.Mar.2017 04:22 CST	Parametre EUCAST+Fen Seti: otipik 2017
Uyum Düzeyi:	Tutarlı		
İnceleme için işaretlenmiş fenotipler:	AMINOGLIKOZİTLE R	DİRENÇLİ GEN TOB NET AMI (AAC(6)+?)	

Hasta Adı:
İzolat Grubu: 3989-1

Hasta ID:
Tezgah: DİGER

Kart Türü: AST-N325 Test Cihazı: 00000A69E54A (4367)

Organizma Miktarı:
Seçilen Organizma: Klebsiella pneumoniae

Duyarlılık Bilgileri	Kart: AST-N325		Lot No: 7650370203	Son Kullanım Tarihi: 01.Ara.2018 12:00 CST	
	Tamamlandı: 15.Kas.2017 17:17 CST		Durum: Son	Analiz Zamanı: 9,25 saat	
Antimikrobiyal	MIK	Yorum	Antimikrobiyal	MIK	Yorum
Ampisilin	>= 32	R	Seftriakson	>= 64	R
Amoksisilin/Klavulanik Asit			Sefepim	>= 32	R
İdrar	>= 32		Ertapenem	>= 8	R
Diğer	>= 32	R	Meropenem	>= 16	R
Piperasilin/Tazobaktam	>= 128	R	Amikasin	32	R
Sefazolin	>= 64	R	Gentamisin	>= 16	R
Sefuroksim	>= 64	R	Siprofloksasin	>= 4	R
Sefuroksim Aksetil	>= 64	R	Tigesiklin	4	R
Sefoksitin	>= 64	R	Kolistin	>= 16	R
Seftazidim	>= 64	R	Trimetoprim/Sülfametaksazol	>= 320	R

+= Genişletilen antibiyotik *= AES tarafından değiştirildi **= Kullanıcı tarafından değiştirildi

AES Bulguları:		Son Değiştirilme Tarihi: 09.Mar.2017 04:22 CST	Parametre EUCAST+Fen Seti: otipik 2017
Uyum Düzeyi:	Tutarlı		
İnceleme için işaretlenmiş fenotipler:	AMINOGLIKOZİTLE R	DİRENÇLİ GEN TOB NET AMI (AAC(6)+?)	

Hasta Adı:
İzolot Grubu: 3969-1

Hasta ID:
Tezgah: DİGER

Kart Türü: AST-N325 Test Cihazı: 00000A69E54A (4367)

Organizma Miktarı:
Seçilen Organizma: Klebsiella pneumoniae

Duyarlılık Bilgileri	Kart: AST-N325		Lot No: 7650370203	Son Kullanım Tarihi: 01.Ara.2018 12:00 CST	
	Tamamlandı: 15.Kas.2017 16:48 CST		Durum: Son	Analiz Zamanı: 8,75 saat	
Antimikrobiyal	MIK	Yorum	Antimikrobiyal	MIK	Yorum
Ampisilin	>= 32	R	Seftriakson	>= 64	R
Amoksisilin/Klavulanik Asit			Sefepim	>= 32	R
İdrar	>= 32		Ertapenem	>= 8	R
Diğer	>= 32	R	Meropenem	>= 16	R
Piperasilin/Tazobaktam	>= 128	R	Amikasin	16	I
Sefazolin	>= 64	R	Gentamisin	<= 1	S
Sefuroksim	>= 64	R	Siprofloksasin	>= 4	R
Sefuroksim Aksetil	>= 64	R	Tigesiklin	2	I
Sefoksitin	>= 64	R	Kolistin	>= 16	R
Seftazidim	>= 64	R	Trimetoprim/Sülfametaksazol	40	S

+= Genişletilen antibiyotik *= AES tarafından değiştirildi **= Kullanıcı tarafından değiştirildi

AES Bulguları:		Son Değiştirilme Tarihi: 09.Mar.2017 04:22 CST	Parametre EUCAST+Fen Seti: otomatik 2017
Uyum Düzeyi:	Tutarlı		
İnceleme için işaretlenmiş fenotipler:	AMINOGLIKOZİTLE R	DİRENÇLİ TOB NET AMI (AAC(6'))	

Hasta Adı:
İzolot Grubu: 3948-1

*** Alarm Uygulandı ***

Hasta ID:
Tezgah: DİGER

Kart Türü: AST-N325 Test Cihazı: 00000A69E54A (4367)

Organizma Miktarı:

Duyarlılık Bilgileri	Kart: AST-N325		Lot No: 7650370203	Son Kullanım Tarihi: 01.Ara.2018 12:00 CST	
	Tamamlandı: 05.Ara.2017 20:59 CST		Durum: Son	Analiz Zamanı: 18,00 saat	
Antimikrobiyal	MIK	Yorum	Antimikrobiyal	MIK	Yorum
Ampisilin	>= 32	R	Seftriakson	>= 64	R
Amoksisilin/Klavulanik Asit			Sefepim	>= 32	R
İdrar	>= 32		Ertapenem	<= 0,12	S
Diğer	>= 32	R	Meropenem	TRM	
Piperasilin/Tazobaktam	>= 128	R	Amikasin	>= 64	R
Sefazolin	>= 64	R	Gentamisin	>= 16	R
Sefuroksim	>= 64	R	Siprofloksasin	>= 4	R
Sefuroksim Aksetil	>= 64	R	Tigesiklin	4	R
Sefoksitin	>= 64	R	Kolistin	>= 16	R
Seftazidim	>= 64	R	Trimetoprim/Sülfametaksazol	>= 320	R

+= Genişletilen antibiyotik *= AES tarafından değiştirildi **= Kullanıcı tarafından değiştirildi

AES Bulguları:		Son Değiştirilme Tarihi: 09.Mar.2017 04:22 CST	Parametre EUCAST+Fen Seti: otomatik 2017
Uyum Düzeyi:	Tutarlı		
İnceleme için işaretlenmiş fenotipler:	BETALAKTAMLAR	ESBL + İMPERMEABİLİTE (SEPHAMİSİN)	
	AMINOGLIKOZİTLE R	DİRENÇLİ GEN TOB NET AMI (AAC(6')+?)	

Hasta Adı:
İzolal Grubu: 3908-1

Hasta ID:
Tezgah: DİGER

Kart Türü: AST-N325 Test Cihazı: 00000A69E54A (4367)

Organizma Miktarı:
Seçilen Organizma: Klebsiella pneumoniae

Duyarlılık Bilgileri	Kart: AST-N325		Lot No: 7650370203		Son Kullanım Tarihi: 01.Ara.2018 12:00 CST	
	Tamamlandı: 15.Kas.2017 16:53 CST		Durum: Son		Analiz Zamanı: 9,00 saat	
Antimikrobiyal	MIK	Yorum	Antimikrobiyal	MIK	Yorum	
Ampisilin	>= 32	R	Seftriakson	>= 64	R	
Amoksisilin/Klavulanik Asit			Sefepim	>= 32	R	
İdrar	>= 32		Ertapenem	>= 8	R	
Diğer	>= 32	R	Meropenem	>= 16	R	
Piperasilin/Tazobaktam	>= 128	R	Amikasin	>= 64	R	
Sefazolin	>= 64	R	Gentamisin	>= 16	R	
Sefuroksim	>= 64	R	Siprofloksasin	>= 4	R	
Sefuroksim Aksetil	>= 64	R	Tigesiklin	4	R	
Sefoksitin	>= 64	R	Kolistin	>= 16	R	
Seftazidim	>= 64	R	Trimetoprim/Sülfametaksazol	>= 320	R	

+= Genişletilen antibiyotik *= AES tarafından değiştirildi **= Kullanıcı tarafından değiştirildi

AES Bulguları:		Son Değiştirilme Tarihi: 09.Mar.2017 04:22 CST	Parametre EUCAST+Fen Seti: otipik 2017
Uyum Düzeyi:	Tutarlı		
İnceleme için işaretlenmiş fenotipler:	AMİNOGLİKOZİTLER	DİRENÇLİ GEN TOB NET AMİ (AAC(6)+?)	

Hasta Adı:
İzolal Grubu: 3905-1

Hasta ID:
Tezgah: DİGER

Kart Türü: AST-N325 Test Cihazı: 00000A69E54A (4367)

Organizma Miktarı:
Seçilen Organizma: Klebsiella pneumoniae

Duyarlılık Bilgileri	Kart: AST-N325		Lot No: 7650240103		Son Kullanım Tarihi: 24.Tem.2018 13:00 CDT	
	Tamamlandı: 15.Kas.2017 16:51 CST		Durum: Son		Analiz Zamanı: 9,25 saat	
Antimikrobiyal	MIK	Yorum	Antimikrobiyal	MIK	Yorum	
Ampisilin	>= 32	R	Seftriakson	>= 64	R	
Amoksisilin/Klavulanik Asit			Sefepim	>= 32	R	
İdrar	>= 32		Ertapenem	>= 8	R	
Diğer	>= 32	R	Meropenem	>= 16	R	
Piperasilin/Tazobaktam	>= 128	R	Amikasin	>= 64	R	
Sefazolin	>= 64	R	Gentamisin	>= 16	R	
Sefuroksim	>= 64	R	Siprofloksasin	>= 4	R	
Sefuroksim Aksetil	>= 64	R	Tigesiklin	4	R	
Sefoksitin	>= 64	R	Kolistin	>= 16	R	
Seftazidim	>= 64	R	Trimetoprim/Sülfametaksazol	>= 320	R	

+= Genişletilen antibiyotik *= AES tarafından değiştirildi **= Kullanıcı tarafından değiştirildi

AES Bulguları:		Son Değiştirilme Tarihi: 09.Mar.2017 04:22 CST		Parametre EUCAST+Fen Seti: otipik 2017	
Uyum Düzeyi:		Tutarlı			
İnceleme için işaretlenmiş fenotipler:		AMINOGLUKOZİTLE R		DİRENÇLİ GEN TOB NET AMI (AAC(6)+?)	

Hasta Adı:
İzolat Grubu: 3886-1

Hasta ID:
Tezgah: DİGER

Kart Türü: GN Test Cihazı: 00000A69E54A (4367)
Kart Türü: AST-N325 Test Cihazı: 00000A69E54A (4367)

Biyonumara: 2607734453164010

Duyarlılık Bilgileri	Kart: AST-N325		Lot No: 7650370203	Son Kullanım Tarihi: 01.Ara.2018 12:00 CST	
	Tamamlandı: 25.Kas.2017 13:21 CST		Durum: Son	Analiz Zamanı: 9,25 saat	
Antimikrobiyal	MIK	Yorum	Antimikrobiyal	MIK	Yorum
Ampisilin	>= 32	R	Seftriakson	>= 64	R
Amoksisilin/Klavulanik Asit			Sefepim	>= 32	R
İdrar	>= 32		Ertapenem	>= 8	R
Diğer	>= 32	R	Meropenem	>= 16	R
Piperasilin/Tazobaktam	>= 128	R	Amikasin	>= 64	R
Sefazolin	>= 64	R	Gentamisin	>= 16	R
Sefuroksim	>= 64	R	Siprofloksasin	>= 4	R
Sefuroksim Aksetil	>= 64	R	Tigesiklin	4	R
Sefoksitin	>= 64	R	Kolistin	>= 16	R
Seftazidim	>= 64	R	Trimetoprim/Sülfametaksazol	>= 320	R

+= Genişletilen antibiyotik *= AES tarafından değiştirildi **= Kullanıcı tarafından değiştirildi

AES Bulguları:		Son Değiştirilme Tarihi: 09.Mar.2017 04:22 CST	Parametre: EUCAST+Fen Seti: otipik 2017
Uyum Düzeyi:	Tutarlı		
İnceleme için işaretlenmiş fenotipler:	AMINOGLIKOZİTLE R	DİRENÇLİ GEN TOB NET AMI (AAC(6)+?)	

Hasta Adı:
İzolat Grubu: 3742-1

Hasta ID:
Tezgah: DİGER

Kart Türü: AST-N325 Test Cihazı: 00000A69E54A (4367)

Organizma Miktarı:
Seçilen Organizma: Klebsiella pneumoniae

Duyarlılık Bilgileri	Kart: AST-N325		Lot No: 7650370203	Son Kullanım Tarihi: 01.Ara.2018 12:00 CST	
	Tamamlandı: 15.Kas.2017 17:01 CST		Durum: Son	Analiz Zamanı: 9,00 saat	
Antimikrobiyal	MIK	Yorum	Antimikrobiyal	MIK	Yorum
Ampisilin	>= 32	R	Seftriakson	>= 64	R
Amoksisilin/Klavulanik Asit			Sefepim	>= 32	R
İdrar	>= 32		Ertapenem	>= 8	R
Diğer	>= 32	R	Meropenem	>= 16	R
Piperasilin/Tazobaktam	>= 128	R	Amikasin	>= 64	R
Sefazolin	>= 64	R	Gentamisin	>= 16	R
Sefuroksim	>= 64	R	Siprofloksasin	>= 4	R
Sefuroksim Aksetil	>= 64	R	Tigesiklin	4	R
Sefoksitin	>= 64	R	Kolistin	>= 16	R
Seftazidim	>= 64	R	Trimetoprim/Sülfametaksazol	>= 320	R

+= Genişletilen antibiyotik *= AES tarafından değiştirildi **= Kullanıcı tarafından değiştirildi

AES Bulguları:		Son Değiştirilme Tarihi: 09.Mar.2017 04:22 CST	Parametre: EUCAST+Fen Seti: otipik 2017
Uyum Düzeyi:	Tutarlı		
İnceleme için işaretlenmiş fenotipler:	AMINOGLIKOZİTLE R	DİRENÇLİ GEN TOB NET AMI (AAC(6)+?)	

Hasta Adı:
İzolat Grubu: 3150-1

Hasta ID:
Tezgah: DİGER

Kart Türü: AST-N325 Test Cihazı: 00000A69E54A (4367)

Organizma Miktarı:
Seçilen Organizma: Klebsiella pneumoniae

Duyarlılık Bilgileri	Kart: AST-N325		Lot No: 7650370203		Son Kullanım Tarihi: 01.Ara.2018 12:00 CST	
	Tamamlandı: 05.Ara.2017 12:14 CST		Durum: Son		Analiz Zamanı: 9,25 saat	
Antimikrobiyal	MIK	Yorum	Antimikrobiyal	MIK	Yorum	
Ampisilin	>= 32	R	Seftriakson	>= 64	R	
Amoksisilin/Klavulanik Asit			Sefepim	>= 32	R	
İdrar	>= 32		Ertapenem	>= 8	R	
Diğer	>= 32	R	Meropenem	>= 16	R	
Piperasilin/Tazobaktam	>= 128	R	Amikasin	>= 64	R	
Sefazolin	>= 64	R	Gentamisin	>= 16	R	
Sefuroksim	>= 64	R	Siprofloksasin	>= 4	R	
Sefuroksim Aksetil	>= 64	R	Tigesiklin	2	I	
Sefoksitin	>= 64	R	Kolistin	>= 16	R	
Seftazidim	>= 64	R	Trimetoprim/Sülfametaksazol	>= 320	R	

+ Genişletilen antibiyotik * AES tarafından değiştirildi ** Kullanıcı tarafından değiştirildi

AES Bulguları:		Son Değiştirilme Tarihi: 09.Mar.2017 04:22 CST		Parametre: EUCAST+Fen Seti: otipik 2017	
Uyum Düzeyi:		Tutarlı			
İnceleme için işaretlenmiş fenotipler:		AMINOGLIKOZİTLE R		DİRENÇLİ GEN TOB NET AMİ (AAC(6')=?)	

Hasta Adı:
İzolat Grubu: 2928-1

Hasta ID:
Tezgah: DİGER

Kart Türü: AST-N325 Test Cihazı: 00000A69E54A (4367)

Organizma Miktarı:
Seçilen Organizma: Klebsiella pneumoniae

Duyarlılık Bilgileri	Kart: AST-N325		Lot No: 7650370203		Son Kullanım Tarihi: 01.Ara.2018 12:00 CST	
	Tamamlandı: 15.Kas.2017 17:17 CST		Durum: Son		Analiz Zamanı: 9,25 saat	
Antimikrobiyal	MIK	Yorum	Antimikrobiyal	MIK	Yorum	
Ampisilin	>= 32	R	Seftriakson	>= 64	R	
Amoksisilin/Klavulanik Asit			Sefepim	>= 32	R	
İdrar	>= 32		Ertapenem	>= 8	R	
Diğer	>= 32	R	Meropenem	>= 16	R	
Piperasilin/Tazobaktam	>= 128	R	Amikasin	16	I	
Sefazolin	>= 64	R	Gentamisin	<= 1	S	
Sefuroksim	>= 64	R	Siprofloksasin	>= 4	R	
Sefuroksim Aksetil	>= 64	R	Tigesiklin	2	I	
Sefoksitin	>= 64	R	Kolistin	>= 16	R	
Seftazidim	>= 64	R	Trimetoprim/Sülfametaksazol	40	S	

+ Genişletilen antibiyotik * AES tarafından değiştirildi ** Kullanıcı tarafından değiştirildi

AES Bulguları:		Son Değiştirilme Tarihi: 09.Mar.2017 04:22 CST		Parametre EUCAST+Fen Seti: otipik 2017	
Uyum Düzeyi:	Tutarlı				
İnceleme için işaretlenmiş fenotipler:	AMİNOGLİKOSİTLER	DİRENÇLİ TOB NET AMİ (AAC(6'))			

Hasta Adı:
İzolat Grubu: 2533-1

Hasta ID:
Tezgah: DİGER

Kart Türü: AST-N325 Test Cihazı: 00000A69E54A (4367)

Organizma Miktarı:
Seçilen Organizma: Klebsiella pneumoniae

Duyarlılık Bilgileri	Kart: AST-N325		Lot No: 7650370203	Son Kullanım Tarihi: 01.Ara.2018 12:00 CST	
	Tamamlandı: 05.Ara.2017 12:15 CST		Durum: Son	Analiz Zamanı: 9,25 saat	
Antimikrobiyal	MIK	Yorum	Antimikrobiyal	MIK	Yorum
Ampisilin	>= 32	R	Seftriakson	>= 64	R
Amoksisilin/Klavulanik Asit			Sefepim	>= 32	R
İdrar	>= 32		Ertapenem	>= 8	R
Diğer	>= 32	R	Meropenem	>= 16	R
Piperasilin/Tazobaktam	>= 128	R	Amikasin	>= 64	R
Sefazolin	>= 64	R	Gentamisin	>= 16	R
Sefuroksim	>= 64	R	Siprofloksasin	>= 4	R
Sefuroksim Aksetil	>= 64	R	Tigesiklin	2	I
Sefoksitin	>= 64	R	Kolistin	>= 16	R
Seftazidim	>= 64	R	Trimetoprim/Sülfametaksazol	>= 320	R

+ = Genişletilen antibiyotik * = AES tarafından değiştirildi ** = Kullanıcı tarafından değiştirildi

AES Bulguları:		Son Değiştirilme Tarihi: 09.Mar.2017 04:22 CST	Parametre EUCAST+Fen Seti: otipik 2017
Uyum Düzeyi:	Tutarlı		
İnceleme için işaretlenmiş fenotipler:	AMİNOGLİKOZİTLE R	DİRENÇLİ GEN TOB NET AMİ (AAC(6'))	

Hasta Adı:
İzolat Grubu: 2404-1

Hasta ID:
Tezgah: DİGER

Kart Türü: AST-N325 Test Cihazı: 00000A69E54A (4367)

Organizma Miktarı:
Seçilen Organizma: Klebsiella pneumoniae

Duyarlılık Bilgileri	Kart: AST-N325		Lot No: 7650370203	Son Kullanım Tarihi: 01.Ara.2018 12:00 CST	
	Tamamlandı: 15.Kas.2017 22:53 CST		Durum: Son	Analiz Zamanı: 15,00 saat	
Antimikrobiyal	MIK	Yorum	Antimikrobiyal	MIK	Yorum
Ampisilin	>= 32	R	Seftriakson	>= 64	R
Amoksisilin/Klavulanik Asit			Sefepim	>= 32	R
İdrar	>= 32		Ertapenem	>= 8	R
Diğer	>= 32	R	Meropenem	[1]	*I
Piperasilin/Tazobaktam	>= 128	R	Amikasin	16	I
Sefazolin	>= 64	R	Gentamisin	<= 1	S
Sefuroksim	>= 64	R	Siprofloksasin	>= 4	R
Sefuroksim Aksetil	>= 64	R	Tigesiklin	>= 8	R
Sefoksitin	>= 64	R	Kolistin	>= 16	R
Seftazidim	>= 64	R	Trimetoprim/Sülfametaksazol	[80]	*R

+ = Genişletilen antibiyotik * = AES tarafından değiştirildi ** = Kullanıcı tarafından değiştirildi [] = Mikr. Sonuç Raporu Baskılanmış MIK

AES Bulguları:		Son Değiştirilme Tarihi: 09.Mar.2017 04:22 CST	Parametre EUCAST+Fen Seti: otipik 2017
Uyum Düzeyi:	Tutarlı		
İnceleme için işaretlenmiş fenotipler:	AMİNOGLİKOZİTLE R	DİRENÇLİ TOB NET AMİ (AAC(6'))	

Hasta Adı:
İzolat Grubu: 4883-1

Hasta ID:
Tezgah: DiGER

Kart Türü: AST-N325 Test Cihazı: 00000A69E54A (4367)

Organizma Miktarı:
Seçilen Organizma: Klebsiella pneumoniae

Duyarlılık Bilgileri	Kart: AST-N325		Lot No: 7650370203	Son Kullanım Tarihi: 01.Ara.2018 12:00 CST	
	Tamamlandı: 05.Ara.2017 12:29 CST		Durum: Son	Analiz Zamanı: 9,50 saat	
Antimikrobiyal	MIK	Yorum	Antimikrobiyal	MIK	Yorum
Ampisilin	>= 32	R	Seftriakson	>= 64	R
Amoksisilin/Klavulanik Asit			Sefepim	>= 32	R
İdrar	>= 32		Ertapenem	>= 8	R
Diğer	>= 32	R	Meropenem	>= 16	R
Piperasilin/Tazobaktam	>= 128	R	Amikasin	>= 64	R
Sefazolin	>= 64	R	Gentamisin	>= 16	R
Sefuroksim	>= 64	R	Siprofloksasin	>= 4	R
Sefuroksim Aksetil	>= 64	R	Tigesiklin	2	I
Sefoksitin	>= 64	R	Kolistin	>= 16	R
Seftazidim	>= 64	R	Trimetoprim/Sulfametaksazol	>= 320	R

+ = Genişletilen antibiyotik * = AES tarafından değiştirildi ** = Kullanıcı tarafından değiştirildi

AES Bulguları:		Son Değiştirilme Tarihi: 09.Mar.2017 04:22 CST	Parametre EUCAST+Fen Seti: otipik 2017
Uyum Düzeyi:	Tutarlı		
İnceleme için işaretlenmiş fenotipler:	AMINOGLİKOZİTLE R	DİRENÇLİ GEN TOB NET AMI (AAC(6)+?)	

Hasta Adı:
İzolat Grubu: 4483-1

Hasta ID:
Tezgah: DiGER

Kart Türü: AST-N325 Test Cihazı: 00000A69E54A (4367)

Organizma Miktarı:
Seçilen Organizma: Klebsiella pneumoniae

Duyarlılık Bilgileri	Kart: AST-N325		Lot No: 7650240103	Son Kullanım Tarihi: 24.Tem.2018 13:00 CDT	
	Tamamlandı: 15.Kas.2017 16:35 CST		Durum: Son	Analiz Zamanı: 9,00 saat	
Antimikrobiyal	MIK	Yorum	Antimikrobiyal	MIK	Yorum
Ampisilin	>= 32	R	Seftriakson	>= 64	R
Amoksisilin/Klavulanik Asit			Sefepim	>= 32	R
İdrar	>= 32		Ertapenem	>= 8	R
Diğer	>= 32	R	Meropenem	>= 16	R
Piperasilin/Tazobaktam	>= 128	R	Amikasin	>= 64	R
Sefazolin	>= 64	R	Gentamisin	>= 16	R
Sefuroksim	>= 64	R	Siprofloksasin	>= 4	R
Sefuroksim Aksetil	>= 64	R	Tigesiklin	4	R
Sefoksitin	>= 64	R	Kolistin	>= 16	R
Seftazidim	>= 64	R	Trimetoprim/Sülfametaksazol	>= 320	R

+ = Genişletilen antibiyotik * = AES tarafından değiştirildi ** = Kullanıcı tarafından değiştirildi

AES Bulguları:		Son Değiştirilme Tarihi: 09.Mar.2017 04:22 CST	Parametre EUCAST+Fen Seti: otipik 2017
Uyum Düzeyi:	Tutarlı		
İnceleme için işaretlenmiş fenotipler:	AMINOGLİKOZİTLE R	DİRENÇLİ GEN TOB NET AMI (AAC(6)+?)	

Hasta Adı:
İzolat Grubu: 4448-1

Hasta ID:
Tezgah: DİGER

Kart Türü: AST-N325 Test Cihazı: 00000A69E54A (4367)

Organizma Miktarı:
Seçilen Organizma: Klebsiella pneumoniae

Duyarlılık Bilgileri	Kart: AST-N325		Lot No: 7650370203		Son Kullanım Tarihi: 01.Ara.2018 12:00 CST	
	Tamamlandı: 15.Kas.2017 17:18 CST		Durum: Son		Analiz Zamanı: 9,25 saat	
Antimikrobiyal	MIK	Yorum	Antimikrobiyal	MIK	Yorum	
Ampisilin	>= 32	R	Seftriakson	>= 64	R	
Amoksisilin/Klavulanik Asit			Sefepim	>= 32	R	
İdrar	>= 32		Ertapenem	>= 8	R	
Diğer	>= 32	R	Meropenem	>= 16	R	
Piperasilin/Tazobaktam	>= 128	R	Amikasin	>= 64	R	
Sefazolin	>= 64	R	Gentamisin	>= 16	R	
Sefuroksim	>= 64	R	Siprofloksasin	>= 4	R	
Sefuroksim Aksetil	>= 64	R	Tigesiklin	4	R	
Sefoksitin	>= 64	R	Kolistin	>= 16	R	
Seftazidim	>= 64	R	Trimetoprim/Sülfametaksazol	>= 320	R	

+ = Genişletilen antibiyotik * = AES tarafından değiştirildi ** = Kullanıcı tarafından değiştirildi

AES Bulguları:		Son Değiştirilme Tarihi: 09.Mar.2017 04:22 CST	Parametre EUCAST+Fen Seti: otipik 2017
Uyum Düzeyi:	Tutarlı		
İnceleme için işaretlenmiş fenotipler:	AMİNOGLİKOZİTLER	DİRENÇLİ GEN TOB NET AMI (AAC(6)+?)	

Hasta Adı:
İzolat Grubu: 4423-1

Hasta ID:
Tezgah: DİGER

Kart Türü: AST-N325 Test Cihazı: 00000A69E54A (4367)

Organizma Miktarı:
Seçilen Organizma: Klebsiella pneumoniae

Duyarlılık Bilgileri	Kart: AST-N325		Lot No: 7650370203		Son Kullanım Tarihi: 01.Ara.2018 12:00 CST	
	Tamamlandı: 15.Kas.2017 17:03 CST		Durum: Son		Analiz Zamanı: 9,00 saat	
Antimikrobiyal	MIK	Yorum	Antimikrobiyal	MIK	Yorum	
Ampisilin	>= 32	R	Seftriakson	>= 64	R	
Amoksisilin/Klavulanik Asit			Sefepim	>= 32	R	
İdrar	>= 32		Ertapenem	>= 8	R	
Diğer	>= 32	R	Meropenem	>= 16	R	
Piperasilin/Tazobaktam	>= 128	R	Amikasin	>= 64	R	
Sefazolin	>= 64	R	Gentamisin	>= 16	R	
Sefuroksim	>= 64	R	Siprofloksasin	>= 4	R	
Sefuroksim Aksetil	>= 64	R	Tigesiklin	4	R	
Sefoksitin	>= 64	R	Kolistin	>= 16	R	
Seftazidim	>= 64	R	Trimetoprim/Sülfametaksazol	>= 320	R	

+ = Genişletilen antibiyotik * = AES tarafından değiştirildi ** = Kullanıcı tarafından değiştirildi

AES Bulguları:		Son Değiştirilme Tarihi: 09.Mar.2017 04:22 CST		Parametre EUCAST+Fes Seti: otipik 2017	
Uyum Düzeyi:		Tutarlı			
İnceleme için işaretlenmiş fenotipler:		AMİNOGLİKOZİTLER		DİRENÇLİ GEN TOB NET AMİ (AAC(6')+?)	

Hasta Adı:
İzolat Grubu: 4114-1

Hasta ID:
Tezgaah: DİGER

Kart Türü: AST-N325 Test Cihazı: 00000A69E54A (4367)

Organizma Miktarı:
Seçilen Organizma: Klebsiella pneumoniae

Duyarlılık Bilgileri	Kart: AST-N325		Lot No: 7650370203		Son Kullanım Tarihi: 01.Ara.2018 12:00 CST	
	Tamamlandı: 15.Kas.2017 16:48 CST		Durum: Son		Analiz Zamanı: 8,75 saat	
Antimikrobiyal	MIK	Yorum	Antimikrobiyal	MIK	Yorum	
Ampisilin	>= 32	R	Seftriakson	>= 64	R	
Amoksisilin/Klavulanik Asit			Sefepim	>= 32	R	
İdrar	>= 32		Ertapenem	>= 8	R	
Diğer	>= 32	R	Meropenem	>= 16	R	
Piperasilin/Tazobaktam	>= 128	R	Amikasin	>= 64	R	
Sefazolin	>= 64	R	Gentamisin	>= 16	R	
Sefuroksim	>= 64	R	Siprofloksasin	>= 4	R	
Sefuroksim Aksetil	>= 64	R	Tigesiklin	2	I	
Sefoksitin	>= 64	R	Kolistin	2	S	
Seftazidim	>= 64	R	Trimetoprim/Sülfametaksazol	>= 320	R	

*= Genişletilen antibiyotik **= AES tarafından değiştirildi ***= Kullanıcı tarafından değiştirildi

AES Bulguları:		Son Değiştirilme Tarihi: 09.Mar.2017 04:22 CST		Parametre EUCAST+Fen Seti: otipik 2017	
Uyum Düzeyi:	Tutarlı				
İnceleme için işaretlenmiş fenotipler:	AMİNOGLİKOZİTLE R		DİRENÇLİ GEN TOB NET AMI (AAC(6)+?)		

Hasta Adı:
İzolat Grubu: 4111-1

Hasta ID:
Tezgaah: DİGER

Kart Türü: AST-N325 Test Cihazı: 00000A69E54A (4367)

Organizma Miktarı:
Seçilen Organizma: Klebsiella pneumoniae

Duyarlılık Bilgileri	Kart: AST-N325		Lot No: 7650370203		Son Kullanım Tarihi: 01.Ara.2018 12:00 CST	
	Tamamlandı: 15.Kas.2017 20:17 CST		Durum: Son		Analiz Zamanı: 12,25 saat	
Antimikrobiyal	MIK	Yorum	Antimikrobiyal	MIK	Yorum	
Ampisilin	>= 32	R	Seftriakson	>= 64	R	
Amoksisilin/Klavulanik Asit			Sefepim	>= 32	R	
İdrar	>= 32		Ertapenem	>= 8	R	
Diğer	>= 32	R	Meropenem	[1]	*I	
Piperasilin/Tazobaktam	>= 128	R	Amikasin	[4]	*I	
Sefazolin	>= 64	R	Gentamisin	>= 16	R	
Sefuroksim	>= 64	R	Siprofloksasin	>= 4	R	
Sefuroksim Aksetil	>= 64	R	Tigesiklin	2	I	
Sefoksitin	>= 64	R	Kolistin	8	R	
Seftazidim	>= 64	R	Trimetoprim/Sülfametaksazol	160	R	

*= Genişletilen antibiyotik **= AES tarafından değiştirildi ***= Kullanıcı tarafından değiştirildi []= Mikr.Sonuç Raporu Baskılanmış MIK

AES Bulguları:		Son Değiştirilme Tarihi: 09.Mar.2017 04:22 CST	Parametre EUCAST+Fen Seti: otipik 2017
Uyum Düzeyi:	Tutarlı		
İnceleme için işaretlenmiş fenotipler:	AMİNOGLİKOZİTLER	DİRENÇLİ GEN TOB NET AMI (AAC(6)+?)	

Hasta Adı:
İzolat Grubu: 4109-1

Hasta ID:
Tezgah: DİGER

Kart Türü: AST-N325 Test Cihazı: 00000A89E54A (4367)

Organizma Miktarı:
Seçilen Organizma: Klebsiella pneumoniae

Duyarlılık Bilgileri	Kart: AST-N325		Lot No: 7650370203		Son Kullanım Tarihi: 01.Ara.2018 12:00 CST	
	Tamamlandı: 15.Kas.2017 17:02 CST		Durum: Son		Analiz Zamanı: 9,00 saat	
Antimikrobiyal	MIK	Yorum	Antimikrobiyal	MIK	Yorum	
Ampisilin	>= 32	R	Seftriakson	>= 64	R	
Amoksisilin/Klavulanik Asit			Sefepim	>= 32	R	
İdrar	>= 32		Ertapenem	>= 8	R	
Diğer	>= 32	R	Meropenem	8	I	
Piperasilin/Tazobaktam	>= 128	R	Amikasin	16	I	
Sefazolin	>= 64	R	Gentamisin	>= 16	R	
Sefuroksim	>= 64	R	Siprofloksasin	<= 0,25	S	
Sefuroksim Aksetil	>= 64	R	Tigesiklin	<= 0,5	S	
Sefoksitin	>= 64	R	Kolistin	>= 16	R	
Seftazidim	>= 64	R	Trimetoprim/Sülfametaksazol	<= 20	S	

++ Genişletilen antibiyotik * = AES tarafından değiştirildi ** = Kullanıcı tarafından değiştirildi

AES Bulguları:		Son Değiştirilme Tarihi: 09.Mar.2017 04:22 CST		Parametre EUCAST+Fen Seti: otipik 2017	
Uyum Düzeyi:	Tutarlı				
İnceleme için işaretlenmiş fenotipler:	AMİNOGLİKOSİTLER		DİRENÇLİ GEN TOB NET AMİ (AAC(6)+?)		

Hasta Adı:
İzolat Grubu: 4077-1

Hasta ID:
Tezgah: DİGER

Kart Türü: AST-N325 Test Cihazı: 00000A89E54A (4367)

Organizma Miktarı:
Seçilen Organizma: Klebsiella pneumoniae

Duyarlılık Bilgileri	Kart: AST-N325		Lot No: 7650370203		Son Kullanım Tarihi: 01.Ara.2018 12:00 CST	
	Tamamlandı: 15.Kas.2017 16:47 CST		Durum: Son		Analiz Zamanı: 8,75 saat	
Antimikrobiyal	MIK	Yorum	Antimikrobiyal	MIK	Yorum	
Ampisilin	>= 32	R	Seftriakson	>= 64	R	
Amoksisilin/Klavulanik Asit			Sefepim	>= 32	R	
İdrar	>= 32		Ertapenem	>= 8	R	
Diğer	>= 32	R	Meropenem	[1]	*I	
Piperasilin/Tazobaktam	>= 128	R	Amikasin	[4]	*I	
Sefazolin	>= 64	R	Gentamisin	>= 16	R	
Sefuroksim	>= 64	R	Siprofloksasin	>= 4	R	
Sefuroksim Aksetil	>= 64	R	Tigesiklin	4	R	
Sefoksitin	[<= 4]	*R	Kolistin	>= 16	R	
Seftazidim	>= 64	R	Trimetoprim/Sülfametaksazol	>= 320	R	

++ Genişletilen antibiyotik * = AES tarafından değiştirildi ** = Kullanıcı tarafından değiştirildi [] = Mikr.Sonuç Raporu Baskılanmış MIK

AES Bulguları:		Son Değiştirilme Tarihi: 09.Mar.2017 04:22 CST	Parametre EUCAST+Fen Seti: otipik 2017
Uyum Düzeyi:	Tutarlı		
İnceleme için işaretlenmiş fenotipler:	AMINOGLIKOZİTLE R	DİRENÇLİ GEN TOB NET AMI (AAC(6)+?)	

Kolistine duyarlı kökenlerin VITEK 2 raporları

Hasta Adı:
İzolat Grubu: 2320-1

Hasta ID:
Tezgah: DİGER

Kart Türü: AST-N325 Test Cihazı: 00000A69E54A (4367)

Organizma Miktarı:
Seçilen Organizma: Klebsiella pneumoniae

Duyarlılık Bilgileri	Kart: AST-N325		Lot No: 7650370203		Son Kullanım Tarihi: 01.Ara.2018 12:00 CST	
	Tamamlandı: 15.Kas.2017 16:43 CST		Durum: Son		Analiz Zamanı: 9,00 saat	
Antimikrobiyal	MIK	Yorum	Antimikrobiyal	MIK	Yorum	
Ampisilin	>= 32	R	Seftriakson	>= 64	R	
Amoksisilin/Klavulanik Asit			Sefepim	>= 32	R	
İdrar	>= 32		Ertapenem	>= 8	R	
Diğer	>= 32	R	Meropenem	>= 16	R	
Piperasilin/Tazobaktam	>= 128	R	Amikasin	32	R	
Sefazolin	>= 64	R	Gentamisin	>= 16	R	
Sefuroksim	>= 64	R	Siprofloksasin	>= 4	R	
Sefuroksim Aksetil	>= 64	R	Tigesiklin	4	R	
Sefoksitin	>= 64	R	Kolistin	<= 0,5	S	
Seftazidim	>= 64	R	Trimetoprim/Sülfametaksazol	>= 320	R	

+ = Genişletilen antibiyotik * = AES tarafından değiştirildi ** = Kullanıcı tarafından değiştirildi

AES Bulguları:		Son Değiştirilme Tarihi: 09.Mar.2017 04:22 CST		Parametre EUCAST+Fen Seti: otipik 2017	
Uyum Düzeyi:		Tutarlı			
İnceleme için işaretlenmiş fenotipler:		AMİNOGLİKOZİTLE R		DİRENÇLİ GEN TOB NET AMI (AAC(6')+?)	

Hasta Adı:
İzolat Grubu: 2274-1

Hasta ID:
Tezgah: DİGER

Kart Türü: AST-N325 Test Cihazı: 00000A69E54A (4367)

Organizma Miktarı:
Seçilen Organizma: Klebsiella pneumoniae

Duyarlılık Bilgileri	Kart: AST-N325		Lot No: 7650240103		Son Kullanım Tarihi: 24.Tem.2018 13:00 CDT	
	Tamamlandı: 15.Kas.2017 18:40 CST		Durum: Son		Analiz Zamanı: 9,25 saat	
Antimikrobiyal	MIK	Yorum	Antimikrobiyal	MIK	Yorum	
Ampisilin	>= 32	R	Seftriakson	>= 64	R	
Amoksisilin/Klavulanik Asit			Sefepim	>= 32	R	
İdrar	>= 32		Ertapenem	>= 8	R	
Diğer	>= 32	R	Meropenem	>= 16	R	
Piperasilin/Tazobaktam	>= 128	R	Amikasin	32	R	
Sefazolin	>= 64	R	Gentamisin	>= 16	R	
Sefuroksim	>= 64	R	Siprofloksasin	>= 4	R	
Sefuroksim Aksetil	>= 64	R	Tigesiklin	4	R	
Sefoksitin	>= 64	R	Kolistin	<= 0,5	S	
Seftazidim	>= 64	R	Trimetoprim/Sülfametaksazol	>= 320	R	

+ = Genişletilen antibiyotik * = AES tarafından değiştirildi ** = Kullanıcı tarafından değiştirildi

AES Bulguları:		Son Değiştirilme Tarihi: 09.Mar.2017 04:22 CST		Parametre EUCAST+Fen Seti: otipik 2017	
Uyum Düzeyi:		Tutarlı			
İnceleme için işaretlenmiş fenotipler:		AMINOGLİKOZİTLE R		DİRENÇLİ GEN TOB NET AMI (AAC(6)*?)	

Hasta Adı:
İzolat Grubu: 2223-1

Hasta ID:
Tezgah: DİGER

Kart Türü: AST-N325 Test Cihazı: 00000A69E54A (4367)

Organizma Miktarı:
Seçilen Organizma: Klebsiella pneumoniae

Duyarlılık Bilgileri	Kart: AST-N325		Lot No: 7650370203	Son Kullanım Tarihi: 01.Ara.2018 12:00 CST	
	Tamamlandı: 15.Kas.2017 16:58 CST		Durum: Son	Analiz Zamanı: 9,25 saat	
Antimikrobiyal	MIK	Yorum	Antimikrobiyal	MIK	Yorum
Ampisilin	>= 32	R	Seftriakson	>= 64	R
Amoksisilin/Klavulanik Asit			Sefepim	>= 32	R
İdrar	>= 32		Ertapenem	>= 8	R
Diğer	>= 32	R	Meropenem	>= 16	R
Piperasilin/Tazobaktam	>= 128	R	Amikasin	16	I
Sefazolin	>= 64	R	Gentamisin	>= 16	R
Sefuroksim	>= 64	R	Siprofloksasin	>= 4	R
Sefuroksim Aksetil	>= 64	R	Tigesiklin	1	S
Sefoksitin	>= 64	R	Kolistin	<= 0,5	S
Seftazidim	>= 64	R	Trimetoprim/Sülfametaksazol	>= 320	R

+ = Genişletilen antibiyotik * = AES tarafından değiştirildi ** = Kullanıcı tarafından değiştirildi

AES Bulguları:		Son Değiştirilme Tarihi: 09.Mar.2017 04:22 CST	Parametre Seti: EUCAST+Fenotipik 2017
Uyum Düzeyi:	Tutarlı		
İnceleme için işaretlenmiş fenotipler:	AMINOGLIKOZİTLE R	DİRENÇLİ GEN TOB NET AMI (AAC(6)+?)	

Hasta Adı:
İzolat Grubu: 2028-1

Hasta ID:
Tezgah: DİGER

Kart Türü: AST-N325 Test Cihazı: 00000A69E54A (4367)

Organizma Miktarı:
Seçilen Organizma: Klebsiella pneumoniae

Duyarlılık Bilgileri	Kart: AST-N325		Lot No: 7650370203	Son Kullanım Tarihi: 01.Ara.2018 12:00 CST	
	Tamamlandı: 15.Kas.2017 23:29 CST		Durum: Son	Analiz Zamanı: 15,75 saat	
Antimikrobiyal	MIK	Yorum	Antimikrobiyal	MIK	Yorum
Ampisilin	>= 32	R	Seftriakson	>= 64	R
Amoksisilin/Klavulanik Asit			Sefepim	>= 32	R
İdrar	>= 32		Ertapenem	4	R
Diğer	>= 32	R	Meropenem	8	I
Piperasilin/Tazobaktam	>= 128	R	Amikasin	<= 2	S
Sefazolin	>= 64	R	Gentamisin	<= 1	S
Sefuroksim	>= 64	R	Siprofloksasin	<= 0,25	S
Sefuroksim Aksetil	>= 64	R	Tigesiklin	1	S
Sefoksitin	>= 64	R	Kolistin	<= 0,5	S
Seftazidim	>= 64	R	Trimetoprim/Sülfametaksazol	<= 20	S

+ = Genişletilen antibiyotik * = AES tarafından değiştirildi ** = Kullanıcı tarafından değiştirildi

AES Bulguları:		Son Değiştirilme Tarihi: 09.Mar.2017 04:22 CST	Parametre Seti: EUCAST+Fenotipik 2017
Uyum Düzeyi:	Tutarlı		

Hasta Adı:
İzolat Grubu: 2022-1

Hasta ID:
Tezgah: DİGER

Kart Türü: AST-N325 Test Cihazı: 00000A69E54A (4367)

Organizma Miktarı:
Seçilen Organizma: Klebsiella pneumoniae

Duyarlılık Bilgileri	Kart: AST-N325		Lot No: 7650370203		Son Kullanım Tarihi: 01.Ara.2018 12:00 CST	
	Tamamlandı: 15.Kas.2017 16:59 CST		Durum: Son		Analiz Zamanı: 9,25 saat	
Antimikrobiyal	MIK	Yorum	Antimikrobiyal	MIK	Yorum	
Ampisilin	>= 32	R	Seftriakson	>= 64	R	
Amoksisilin/Klavulanik Asit			Sefepim	>= 32	R	
İdrar	>= 32		Ertapenem	>= 8	R	
Diğer	>= 32	R	Meropenem	[1]	I	
Piperasilin/Tazobaktam	>= 128	R	Amikasin	[8]	I	
Sefazolin	>= 64	R	Gentamisin	<= 1	S	
Sefuroksim	>= 64	R	Siprofloksasin	>= 4	R	
Sefuroksim Aksetil	>= 64	R	Tigesiklin	2	I	
Sefoksitin	>= 64	R	Kolistin	<= 0,5	S	
Seftazidim	>= 64	R	Trimetoprim/Sulfametaksazol	>= 320	R	

+= Genişletilen antibiyotik *= AES tarafından değiştirildi **= Kullanıcı tarafından değiştirildi []= Mikr.Sonuç Raporu
Baskılanmış MIK

AES Bulguları:		Son Değiştirilme Tarihi: 09.Mar.2017 04:22 CST		Parametre EUCAST+Fen Seti: otipik 2017	
Uyum Düzeyi:		Tutarlı			
İnceleme için işaretlenmiş fenotipler:		AMINOGLIKOZİTLE R		DİRENÇLİ TOB NET AMİ (AAC(6'))	

Hasta Adı:
İzolat Grubu: 1956-1

Hasta ID:
Tezgah: DİGER

Kart Türü: AST-N325 Test Cihazı: 00000A69E54A (4367)

Organizma Miktarı:
Seçilen Organizma: Klebsiella pneumoniae

Duyarlılık Bilgileri	Kart: AST-N325		Lot No: 7650370203		Son Kullanım Tarihi: 01.Ara.2018 12:00 CST	
	Tamamlandı: 15.Kas.2017 17:14 CST		Durum: Son		Analiz Zamanı: 9,50 saat	
Antimikrobiyal	MIK	Yorum	Antimikrobiyal	MIK	Yorum	
Ampisilin	>= 32	R	Seftriakson	>= 64	R	
Amoksisilin/Klavulanik Asit			Sefepim	>= 32	R	
İdrar	>= 32		Ertapenem	>= 8	R	
Diğer	>= 32	R	Meropenem	>= 16	R	
Piperasilin/Tazobaktam	>= 128	R	Amikasin	16	I	
Sefazolin	>= 64	R	Gentamisin	<= 1	S	
Sefuroksim	>= 64	R	Siprofloksasin	>= 4	R	
Sefuroksim Aksetil	>= 64	R	Tigesiklin	4	R	
Sefoksitin	>= 64	R	Kolistin	<= 0,5	S	
Seftazidim	>= 64	R	Trimetoprim/Sulfametaksazol	>= 320	R	

+= Genişletilen antibiyotik *= AES tarafından değiştirildi **= Kullanıcı tarafından değiştirildi

AES Bulguları:		Son Değiştirilme Tarihi: 09.Mar.2017 04:22 CST		Parametre EUCAST+Fen Seti: otipik 2017	
Uyum Düzeyi:		Tutarlı			
İnceleme için işaretlenmiş fenotipler:		AMINOGLIKOZİTLE R		DİRENÇLİ TOB NET AMİ (AAC(5'))	

Hasta Adı:
İzolat Grubu: 1511-1

Hasta ID:
Tezgah: DİGER

Kart Türü: AST-N325 Test Cihazı: 00000A69E54A (4367)

Organizma Miktarı:
Seçilen Organizma: Klebsiella pneumoniae

Duyarlılık Bilgileri	Kart: AST-N325		Lot No: 7650240103	Son Kullanım Tarihi: 24.Tem.2018 13:00 CDT	
	Tamamlandı: 15.Kas.2017 17:04 CST		Durum: Son	Analiz Zamanı: 9,50 saat	
Antimikrobiyal	MIK	Yorum	Antimikrobiyal	MIK	Yorum
Ampisilin	>= 32	R	Seftriakson	>= 64	R
Amoksisilin/Klavulanik Asit			Sefepim	>= 32	R
İdrar	>= 32		Ertapenem	>= 8	R
Diğer	>= 32	R	Meropenem	>= 16	R
Piperasilin/Tazobaktam	>= 128	R	Amikasin	>= 64	R
Sefazolin	>= 64	R	Gentamisin	>= 16	R
Sefuroksim	>= 64	R	Siprofloksasin	>= 4	R
Sefuroksim Aksetil	>= 64	R	Tigesiklin	4	R
Sefoksitin	>= 64	R	Kolistin	<= 0,5	S
Seftazidim	>= 64	R	Trimetoprim/Sülfametaksazol	>= 320	R

+= Genişletilen antibiyotik *= AES tarafından değiştirildi **= Kullanıcı tarafından değiştirildi

AES Bulguları:		Son Değiştirilme Tarihi: 09.Mar.2017 04:22 CST	Parametre Seti: EUCAST+Fenotipik 2017
Uyum Düzeyi:	Tutarlı		
İnceleme için işaretlenmiş fenotipler:	AMİNOGLİKOZİTLER R	DİRENÇLİ GEN TOB NET AMİ (AAC(6')+7)	

Hasta Adı:
İzolat Grubu: 1423-1

Hasta ID:
Tezgah: DİGER

Kart Türü: AST-N325 Test Cihazı: 00000A69E54A (4367)

Organizma Miktarı:
Seçilen Organizma: Klebsiella pneumoniae

Duyarlılık Bilgileri	Kart: AST-N325		Lot No: 7650240103	Son Kullanım Tarihi: 24.Tem.2018 13:00 CDT	
	Tamamlandı: 15.Kas.2017 17:51 CST		Durum: Son	Analiz Zamanı: 10,25 saat	
Antimikrobiyal	MIK	Yorum	Antimikrobiyal	MIK	Yorum
Ampisilin	>= 32	R	Seftriakson	>= 64	R
Amoksisilin/Klavulanik Asit			Sefepim	>= 32	R
İdrar	>= 32		Ertapenem	>= 8	R
Diğer	>= 32	R	Meropenem	[2]	*I
Piperasilin/Tazobaktam	>= 128	R	Amikasin	<= 2	S
Sefazolin	>= 64	R	Gentamisin	>= 16	R
Sefuroksim	>= 64	R	Siprofloksasin	>= 4	R
Sefuroksim Aksetil	>= 64	R	Tigesiklin	>= 8	R
Sefoksitin	[16]	*R	Kolistin	<= 0,5	S
Seftazidim	>= 64	R	Trimetoprim/Sülfametaksazol	>= 320	R

+= Genişletilen antibiyotik *= AES tarafından değiştirildi **= Kullanıcı tarafından değiştirildi []= Mikr.Sonuç Raporu Baskılanmış MIK

AES Bulguları:		Son Değiştirilme Tarihi: 09.Mar.2017 04:22 CST	Parametre Seti: EUCAST+Fenotipik 2017
Uyum Düzeyi:	Tutarlı		

Hasta Adı:
İzolat Grubu: 1287-1

Hasta ID:
Tezgah: DİGER

Kart Türü: AST-N325 Test Cihazı: 00000A69E54A (4367)

Organizma Miktarı:
Seçilen Organizma: Klebsiella pneumoniae

Duyarlılık Bilgileri	Kart: AST-N325		Lot No: 7650240103		Son Kullanım Tarihi: 24.Tem.2018 13:00 CDT	
	Tamamlandı: 15.Kas.2017 16:11 CST		Durum: Son		Analiz Zamanı: 8,75 saat	
Antimikrobiyal	MIK	Yorum	Antimikrobiyal	MIK	Yorum	
Ampisilin	>= 32	R	Seftriakson	>= 64	R	
Amoksisilin/Klavulanik Asit			Sefepim	>= 32	R	
İdrar	>= 32		Ertapenem	>= 8	R	
Diğer	>= 32	R	Meropenem	>= 16	R	
Piperasilin/Tazobaktam	>= 128	R	Amikasin	<= 2	S	
Sefazolin	>= 64	R	Gentamisin	<= 1	S	
Sefuroksim	>= 64	R	Siprofloksasin	>= 4	R	
Sefuroksim Aksetil	>= 64	R	Tigesiklin	2	I	
Sefoksitin	>= 64	R	Kolistin	<= 0,5	S	
Seftazidim	>= 64	R	Trimetoprim/Sülfametaksazol	<= 20	S	

+ = Genişletilen antibiyotik * = AES tarafından değiştirildi ** = Kullanıcı tarafından değiştirildi

AES Bulguları:		Son Değiştirilme Tarihi: 09.Mar.2017 04:22 CST	Parametre Seti: EUCAST+Fenotipik 2017
Uyum Düzeyi:	Tutarlı		

Hasta Adı:
İzolat Grubu: 55-1

Hasta ID:
Tezgah: DİGER

Kart Türü: AST-N325 Test Cihazı: 00000A69E54A (4367)

Organizma Miktarı:
Seçilen Organizma: Klebsiella pneumoniae

Duyarlılık Bilgileri	Kart: AST-N325		Lot No: 7650240103		Son Kullanım Tarihi: 24.Tem.2018 13:00 CDT	
	Tamamlandı: 15.Kas.2017 16:35 CST		Durum: Son		Analiz Zamanı: 9,00 saat	
Antimikrobiyal	MIK	Yorum	Antimikrobiyal	MIK	Yorum	
Ampisilin	>= 32	R	Seftriakson	>= 64	R	
Amoksisilin/Klavulanik Asit			Sefepim	>= 32	R	
İdrar	>= 32		Ertapenem	>= 8	R	
Diğer	>= 32	R	Meropenem	>= 16	R	
Piperasilin/Tazobaktam	>= 128	R	Amikasin	>= 64	R	
Sefazolin	>= 64	R	Gentamisin	>= 16	R	
Sefuroksim	>= 64	R	Siprofloksasin	>= 4	R	
Sefuroksim Aksetil	>= 64	R	Tigesiklin	4	R	
Sefoksitin	>= 64	R	Kolistin	<= 0,5	S	
Seftazidim	>= 64	R	Trimetoprim/Sülfametaksazol	>= 320	R	

+ = Genişletilen antibiyotik * = AES tarafından değiştirildi ** = Kullanıcı tarafından değiştirildi

AES Bulguları:		Son Değiştirilme Tarihi: 09.Mar.2017 04:22 CST	Parametre Seti: EUCAST+Fenotipik 2017
Uyum Düzeyi:	Tutarlı		
İnceleme için işaretlenmiş fenotipler:	AMINOGLUKOZİTLE R	DİRENÇLİ GEN TOB NET AMI (A/C(6')+?)	

Hasta Adı:
İzolat Grubu: 50-1

Hasta ID:
Tezgah: DİGER

Kart Türü: AST-N325 Test Cihazı: 00000A69E54A (4367)

Organizma Miktarı:
Seçilen Organizma: *Klebsiella pneumoniae*

Duyarlılık Bilgileri	Kart: AST-N325		Lot No: 7650240103		Son Kullanım Tarihi: 24.Tem.2018 13:00 CDT	
	Tamamlandı: 15.Kas.2017 18:35 CST		Durum: Son		Analiz Zamanı: 11,00 saat	
Antimikrobiyal	MIK	Yorum	Antimikrobiyal	MIK	Yorum	
Ampisilin	>= 32	R	Seftriakson	>= 64	R	
Amoksisilin/Klavulanik Asit			Sefepim	>= 32	R	
İdrar	>= 32		Ertapenem	4	R	
Diğer	>= 32	R	Meropenem	[0,5]	*I	
Piperasilin/Tazobaktam	>= 128	R	Amikasin	<= 2	S	
Sefazolin	>= 64	R	Gentamisin	<= 1	S	
Sefuroksim	>= 64	R	Siprofloksasin	1	R	
Sefuroksim Aksetil	>= 64	R	Tigesiklin	<= 0,5	S	
Sefoksitin	32	R	Kolistin	<= 0,5	S	
Seftazidim	>= 64	R	Trimetoprim/Sülfametaksazol	>= 320	R	

*= Genişletilen antibiyotik **= AES tarafından değiştirildi ***= Kullanıcı tarafından değiştirildi [I]= Mikr.Sonuç Raporu
Baskılanmış MIK

AES Bulguları:		Son Değiştirilme Tarihi: 09.Mar.2017 04:22 CST	Parametre Seti: EUCAST+Fenotipik 2017
Uyum Düzeyi:	Tutarlı		

Hasta Adı:
İzolat Grubu: 9567-1

Hasta ID:
Tezgah: DİGER

Kart Türü: AST-N325 Test Cihazı: 00000A69E54A (4367)

Organizma Miktarı:
Seçilen Organizma: *Klebsiella pneumoniae*

Duyarlılık Bilgileri	Kart: AST-N325		Lot No: 7650240103		Son Kullanım Tarihi: 24.Tem.2018 13:00 CDT	
	Tamamlandı: 15.Kas.2017 16:19 CST		Durum: Son		Analiz Zamanı: 8,75 saat	
Antimikrobiyal	MIK	Yorum	Antimikrobiyal	MIK	Yorum	
Ampisilin	>= 32	R	Seftriakson	>= 64	R	
Amoksisilin/Klavulanik Asit			Sefepim	>= 32	R	
İdrar	>= 32		Ertapenem	>= 8	R	
Diğer	>= 32	R	Meropenem	>= 16	R	
Piperasilin/Tazobaktam	>= 128	R	Amikasin	[8]	*I	
Sefazolin	>= 64	R	Gentamisin	>= 16	R	
Sefuroksim	>= 64	R	Siprofloksasin	>= 4	R	
Sefuroksim Aksetil	>= 64	R	Tigesiklin	2	I	
Sefoksitin	>= 64	R	Kolistin	<= 0,5	S	
Seftazidim	>= 64	R	Trimetoprim/Sülfametaksazol	40	S	

*= Genişletilen antibiyotik **= AES tarafından değiştirildi ***= Kullanıcı tarafından değiştirildi [I]= Mikr.Sonuç Raporu
Baskılanmış MIK

AES Bulguları:		Son Değiştirilme Tarihi: 09.Mar.2017 04:22 CST	Parametre Seti: EUCAST+Fenotipik 2017
Uyum Düzeyi:	Tutarlı		
İnceleme için işaretlenmiş fenotipler:	AMINOGLİKOZİTLE R	DİRENÇLİ GEN TOB NET AMI (AAC(6')*)?	

Hasta Adı:

*** Alarm Uygulandı ***

Hasta ID:

İzolat Grubu: 3701-1

Tezgah: DİGER

Kart Türü: AST-N325 Test Cihazı: 00000A69E54A (4367)

Organizma Miktarı:

Duyarlılık Bilgileri	Kart: AST-N325		Lot No: 7650240103	Son Kullanım Tarihi: 24.Tem.2018 13:00 CDT	
	Tamamlandı: 16.Kas.2017 15:53 CST		Durum: Son	Analiz Zamanı: 9,00 saat	
Antimikrobiyal	MIK	Yorum	Antimikrobiyal	MIK	Yorum
Ampisilin	[<= 2*]	*R	Seftriakson	2	I
Amoksisilin/Klavulanik Asit			Sefepim	2	I
İdrar	<= 2	S	Ertapenem	0,25	S
Diğer	<= 2	S	Meropenem	<= 0,25	S
Piperasilin/Tazobaktam	<= 4	S	Amikasin	[4]	*I
Sefazolin	[<= 4]	*R	Gentamisin	<= 1	S
Sefuroksim	[<= 1]	*R	Siprofloksasin	<= 0,25	S
Sefuroksim Aksetil	[<= 1]	*R	Tigesiklin	<= 0,5	S
Sefoksitin	<= 4	S	Kolistin	>= 16	R
Seftazidim	32	R	Trimstoprim/Sülfametaksazol	<= 20	S

+ = Genişletilen antibiyotik * = AES tarafından değiştirildi ** = Kullanıcı tarafından değiştirildi [] = Mikr.Sonuç Raporu
Baskılanmış MIK

AES Bulguları:		Son Değiştirilme Tarihi: 09.Mar.2017 04:22 CST	Parametre EUCAST+Fen Seti: otipik 2017
Uyum Düzeyi:	Düzeltilmeyle tutarlı		
İnceleme için işaretlenmiş fenotipler:	BETALAKTAMLAR AMINOGLIKOZİTLER	GENİŞLETİLMİŞ SPECTRUM BETA LAKTAMAZ DİRENÇLİ TOB NET AMİ (AAC(6'))	

Hasta Adı:

İzolat Grubu: 2773-1

Hasta ID:

Tezgah: DİGER

Kart Türü: AST-N325 Test Cihazı: 00000A69E54A (4367)

Organizma Miktarı:

Seçilen Organizma: Klebsiella pneumoniae

Duyarlılık Bilgileri	Kart: AST-N325		Lot No: 7650240103	Son Kullanım Tarihi: 24.Tem.2018 13:00 CDT	
	Tamamlandı: 15.Kas.2017 16:20 CST		Durum: Son	Analiz Zamanı: 8,75 saat	
Antimikrobiyal	MIK	Yorum	Antimikrobiyal	MIK	Yorum
Ampisilin	>= 32	R	Seftriakson	>= 64	R
Amoksisilin/Klavulanik Asit			Sefepim	>= 32	R
İdrar	>= 32		Ertapenem	>= 8	R
Diğer	>= 32	R	Meropenem	>= 16	R
Piperasilin/Tazobaktam	>= 128	R	Amikasin	16	I
Sefazolin	>= 64	R	Gentamisin	>= 16	R
Sefuroksim	>= 64	R	Siprofloksasin	>= 4	R
Sefuroksim Aksetil	>= 64	R	Tigesiklin	4	R
Sefoksitin	>= 64	R	Kolistin	<= 0,5	S
Seftazidim	>= 64	R	Trimetoprim/Sülfametaksazol	>= 320	R

+ = Genişletilen antibiyotik * = AES tarafından değiştirildi ** = Kullanıcı tarafından değiştirildi

AES Bulguları:		Son Değiştirilme Tarihi: 09.Mar.2017 04:22 CST	Parametre EUCAST+Fen Seti: otipik 2017
Uyum Düzeyi:	Tutarlı		
İnceleme için işaretlenmiş fenotipler:	AMINOGLIKOZİTLER	DİRENÇLİ GEN TOB NET AMİ (AAC(6')+?)	

Hasta Adı:
İzolât Grubu: 2717-1

Hasta ID:
Tezgah: DİGER

Kart Türü: AST-N325 Test Cihazı: 00000A69E54A (4367)

Organizma Miktarı:
Seçilen Organizma: Klebsiella pneumoniae

Duyarlılık Bilgileri	Kart: AST-N325		Lot No: 7650240103		Son Kullanım Tarihi: 24.Tem.2018 13:00 CDT	
	Tamamlandı: 15.Kas.2017 17:10 CST		Durum: Son		Analiz Zamanı: 9,75 saat	
Antimikrobiyal	MIK	Yorum	Antimikrobiyal	MIK	Yorum	
Ampisilin	>= 32	R	Seftriakson	>= 64	R	
Amoksisilin/Klavulanik Asit			Sefepim	>= 32	R	
İdrar	>= 32		Ertapenem	4	R	
Diğer	>= 32	R	Meropenem	4	I	
Piperasilin/Tazobaktam	>= 128	R	Amikasin	<= 2	S	
Sefazolin	>= 64	R	Gentamisin	>= 16	R	
Sefuroksim	>= 64	R	Siprofloksasin	>= 4	R	
Sefuroksim Aksetil	>= 64	R	Tigesiklin	<= 0,5	S	
Sefoksitin	>= 64	R	Kolistin	>= 16	R	
Seftazidim	>= 64	R	Trimetoprim/Sülfametaksazol	>= 320	R	

+= Genişletilen antibiyotik *= AES tarafından değiştirildi **= Kullanıcı tarafından değiştirildi

AES Bulguları:		Son Değiştirilme Tarihi: 09.Mar.2017 04:22 CST	Parametre Seti: EUCAST+Fenotipik 2017
Uyum Düzeyi:	Tutarlı		

Hasta Adı:
İzolât Grubu: 2711-1

Hasta ID:
Tezgah: DİGER

Kart Türü: AST-N325 Test Cihazı: 00000A69E54A (4367)

Organizma Miktarı:
Seçilen Organizma: Klebsiella pneumoniae

Duyarlılık Bilgileri	Kart: AST-N325		Lot No: 7650240103		Son Kullanım Tarihi: 24.Tem.2018 13:00 CDT	
	Tamamlandı: 15.Kas.2017 17:05 CST		Durum: Son		Analiz Zamanı: 9,50 saat	
Antimikrobiyal	MIK	Yorum	Antimikrobiyal	MIK	Yorum	
Ampisilin	>= 32	R	Seftriakson	>= 64	R	
Amoksisilin/Klavulanik Asit			Sefepim	>= 32	R	
İdrar	>= 32		Ertapenem	>= 8	R	
Diğer	>= 32	R	Meropenem	>= 16	R	
Piperasilin/Tazobaktam	>= 128	R	Amikasin	>= 64	R	
Sefazolin	>= 64	R	Gentamisin	>= 16	R	
Sefuroksim	>= 64	R	Siprofloksasin	>= 4	R	
Sefuroksim Aksetil	>= 64	R	Tigesiklin	>= 8	R	
Sefoksitin	>= 64	R	Kolistin	<= 0,5	S	
Seftazidim	>= 64	R	Trimetoprim/Sülfametaksazol	>= 320	R	

+= Genişletilen antibiyotik *= AES tarafından değiştirildi **= Kullanıcı tarafından değiştirildi

AES Bulguları:		Son Değiştirilme Tarihi: 09.Mar.2017 04:22 CST	Parametre Seti: EUCAST+Fenotipik 2017
Uyum Düzeyi:	Tutarlı		
İnceleme için işaretlenmiş fenotipler:	AMİNOGLİKOZİTLER	DİRENÇLİ GEN TOB NET AMİ (AAC(6')?)	

Hasta Adı:
İzolat Grubu: 2708-1

Hasta ID:
Tezgah: DİGER

Kart Türü: AST-N325 Test Cihazı: 00000A69E54A (4367)

Organizma Miktarı:
Seçilen Organizma: Klebsiella pneumoniae

Duyarlılık Bilgileri	Kart: AST-N325		Lot No: 7650240103		Son Kullanım Tarihi: 24.Tem.2018 13:00 CDT	
	Tamamlandı: 15.Kas.2017 19:20 CST		Durum: Son		Analiz Zamanı: 11,75 saat	
Antimikrobiyal	MIK	Yorum	Antimikrobiyal	MIK	Yorum	
Ampisilin	>= 32	R	Seftriakson	4	R	
Amoksisilin/Klavulanik Asit			Sefepim	[1]	*I	
İdrar	>= 32		Ertapenem	2	R	
Diğer	>= 32	R	Meropenem	[2]	*I	
Piperasilin/Tazobaktam	>= 128	R	Amikasin	<= 2	S	
Sefazolin	>= 64	R	Gentamisin	<= 1	S	
Sefuroksim	16	R	Siprofloksasin	<= 0,25	S	
Sefuroksim Aksetil	16	R	Tigesiklin	1	S	
Sefoksitin	[<= 4]	*R	Kolistin	<= 0,5	S	
Seftazidim	[1]	*I	Trimetoprim/Sülfametaksazol	>= 320	R	

*= Genişletilen antibiyotik * = AES tarafından değiştirildi **= Kullanıcı tarafından değiştirildi [] = Mikr.Sonuç Raporu
Baskılanmış MIK

AES Bulguları:		Son Değiştirilme Tarihi: 09.Mar.2017 04:22 CST		Parametre Seti: EUCAST+Fenotipik 2017	
Uyum Düzeyi:	Tutarlı				

Hasta Adı:
İzolat Grubu: 2399-1

Hasta ID:
Tezgah: DİGER

Kart Türü: AST-N325 Test Cihazı: 00000A69E54A (4367)

Organizma Miktarı:
Seçilen Organizma: Klebsiella pneumoniae

Duyarlılık Bilgileri	Kart: AST-N325		Lot No: 7650240103		Son Kullanım Tarihi: 24.Tem.2018 13:00 CDT	
	Tamamlandı: 16.Kas.2017 00:10 CST		Durum: Son		Analiz Zamanı: 16,75 saat	
Antimikrobiyal	MIK	Yorum	Antimikrobiyal	MIK	Yorum	
Ampisilin	>= 32	R	Seftriakson	>= 64	R	
Amoksisilin/Klavulanik Asit			Sefepim	>= 32	R	
İdrar	>= 32		Ertapenem	>= 8	R	
Diğer	>= 32	R	Meropenem	[2]	*I	
Piperasilin/Tazobaktam	>= 128	R	Amikasin	<= 2	S	
Sefazolin	>= 64	R	Gentamisin	<= 1	S	
Sefuroksim	>= 64	R	Siprofloksasin	>= 4	R	
Sefuroksim Aksetil	>= 64	R	Tigesiklin	4	R	
Sefoksitin	[8]	*R	Kolistin	<= 0,5	S	
Seftazidim	8	R	Trimetoprim/Sülfametaksazol	[80]	*R	

*= Genişletilen antibiyotik * = AES tarafından değiştirildi **= Kullanıcı tarafından değiştirildi [] = Mikr.Sonuç Raporu
Baskılanmış MIK

AES Bulguları:		Son Değiştirilme Tarihi: 09.Mar.2017 04:22 CST	Parametre Seti: EUCAST+Fenotipik 2017
Uyum Düzeyi:	Tutarlı		

Hasta Adı:
İzolat Grubu: 2388-1

Hasta ID:
Tezgah: DİGER

Kart Türü: AST-N325 Test Cihazı: 00000A69E54A (4367)

Organizma Miktarı:
Seçilen Organizma: Klebsiella pneumoniae

Duyarlılık Bilgileri	Kart: AST-N325		Lot No: 7650240103		Son Kullanım Tarihi: 24.Tem.2018 13:00 CDT	
	Tamamlandı: 15.Kas.2017 16:25 CST		Durum: Son		Analiz Zamanı: 9,00 saat	
Antimikrobiyal	MIK	Yorum	Antimikrobiyal	MIK	Yorum	
Ampisilin	>= 32	R	Seftriakson	>= 64	R	
Amoksisilin/Klavulanik Asit			Sefepim	>= 32	R	
İdrar	>= 32		Ertapenem	>= 8	R	
Diğer	>= 32	R	Meropenem	>= 16	R	
Piperasilin/Tazobaktam	>= 128	R	Amikasin	>= 64	R	
Sefazolin	>= 64	R	Gentamisin	>= 16	R	
Sefuroksim	>= 64	R	Siprofloksasin	>= 4	R	
Sefuroksim Aksetil	>= 64	R	Tigesiklin	>= 8	R	
Sefoksitin	>= 64	R	Kolistin	<= 0,5	S	
Seftazidim	>= 64	R	Trimetoprim/Sülfametaksazol	>= 320	R	

+= Genişletilen antibiyotik *= AES tarafından değiştirildi **= Kullanıcı tarafından değiştirildi

AES Bulguları:		Son Değiştirilme Tarihi: 09.Mar.2017 04:22 CST	Parametre EUCAST+Fen Seti: otipik 2017
Uyum Düzeyi:	Tutarlı		
İnceleme için işaretlenmiş fenotipler:	AMINOGLIKOZİTLER	DİRENÇLİ GEN TOS NET AMI (AAC(6)+?)	

Hasta Adı:
İzolat Grubu: 2322-1

Hasta ID:
Tezgah: DİGER

Kart Türü: AST-N325 Test Cihazı: 00000A69E54A (4367)

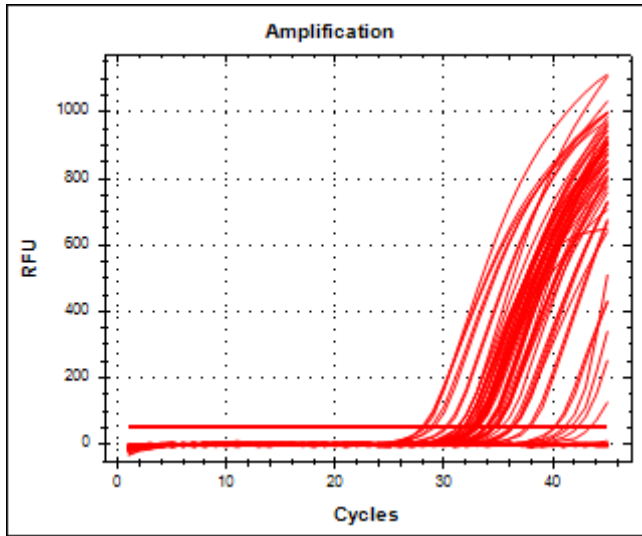
Organizma Miktarı:
Seçilen Organizma: Klebsiella pneumoniae

Duyarlılık Bilgileri	Kart: AST-N325		Lot No: 7650370203		Son Kullanım Tarihi: 01.Ara.2018 12:00 CST	
	Tamamlandı: 15.Kas.2017 18:28 CST		Durum: Son		Analiz Zamanı: 10,75 saat	
Antimikrobiyal	MIK	Yorum	Antimikrobiyal	MIK	Yorum	
Ampisilin	>= 32	R	Seftriakson	>= 64	R	
Amoksisilin/Klavulanik Asit			Sefepim	>= 32	R	
İdrar	>= 32		Ertapenem	2	R	
Diğer	>= 32	R	Meropenem	>= 16	R	
Piperasilin/Tazobaktam	>= 128	R	Amikasin	<= 2	S	
Sefazolin	>= 64	R	Gentamisin	<= 1	S	
Sefuroksim	>= 64	R	Siprofloksasin	<= 0,25	S	
Sefuroksim Aksetil	>= 64	R	Tigesiklin	1	S	
Sefoksitin	[<= 4]	*R	Kolistin	<= 0,5	S	
Seftazidim	>= 64	R	Trimetoprim/Sülfametaksazol	>= 320	R	

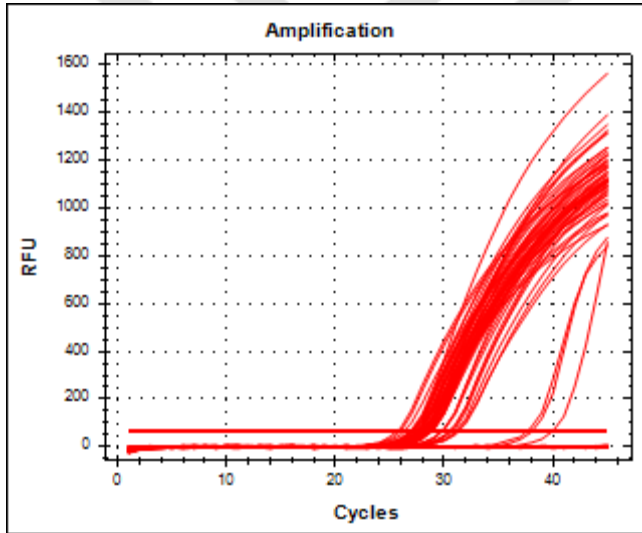
+= Genişletilen antibiyotik *= AES tarafından değiştirildi **= Kullanıcı tarafından değiştirildi []= Mikr.Sonuç Raporu
Baskılanmış MIK

AES Bulguları:		Son Değiştirilme Tarihi: 09.Mar.2017 04:22 CST	Parametre Seti: EUCAST+Fenotipik 2017
Uyum Düzeyi:	Tutarlı		

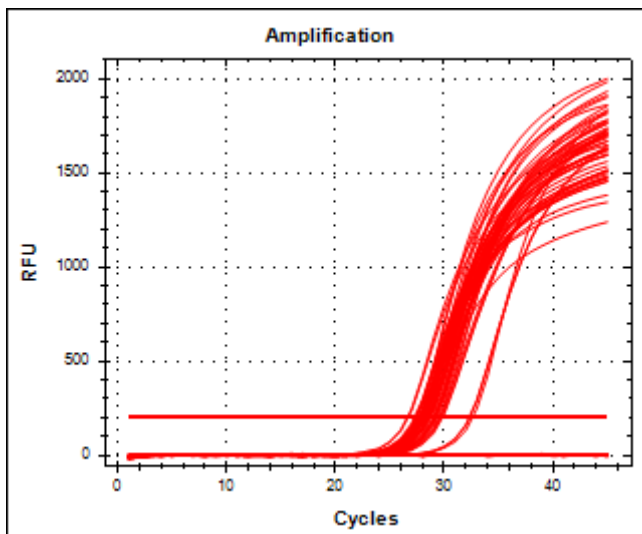
Kolistine duyarlı kökenlerin *pmrA* amplifikasyon eğrileri.



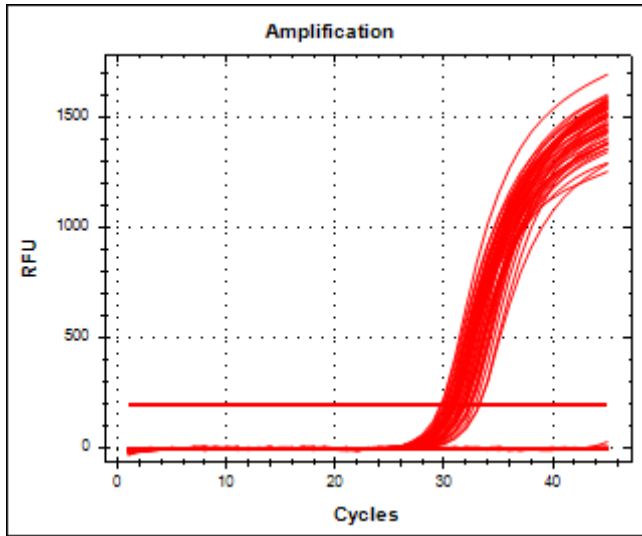
Kolistine duyarlı kökenlerin *pmrB* amplifikasyon eğrileri.



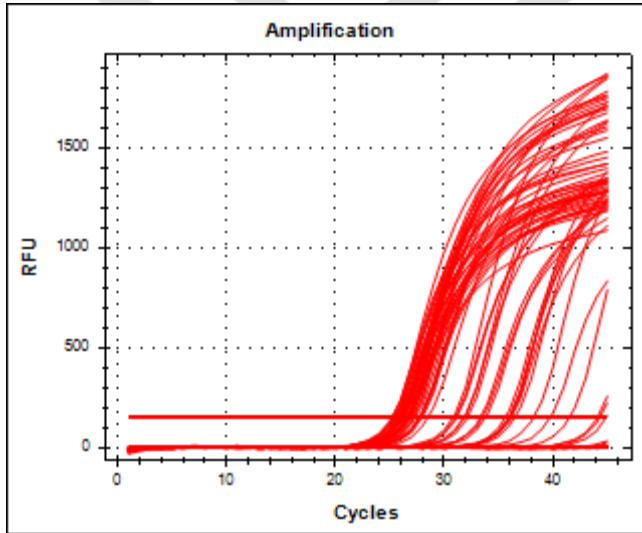
Kolistine duyarlı kökenlerin *pmrC* amplifikasyon eğrileri.



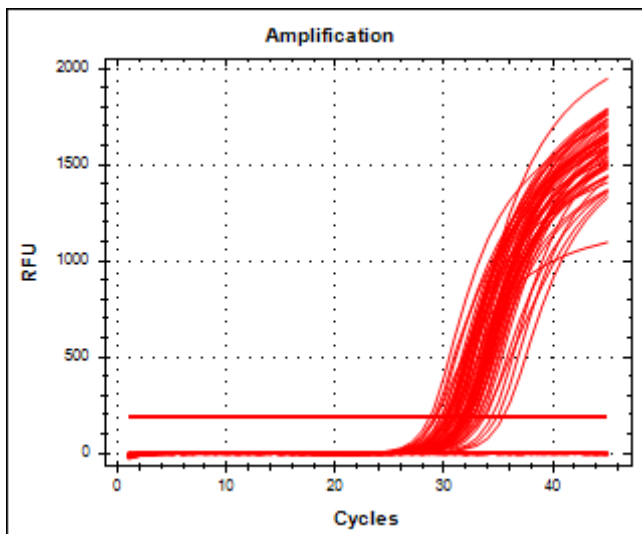
Kolistine duyarlı kökenlerin *pmrD* amplifikasyon eğrileri.



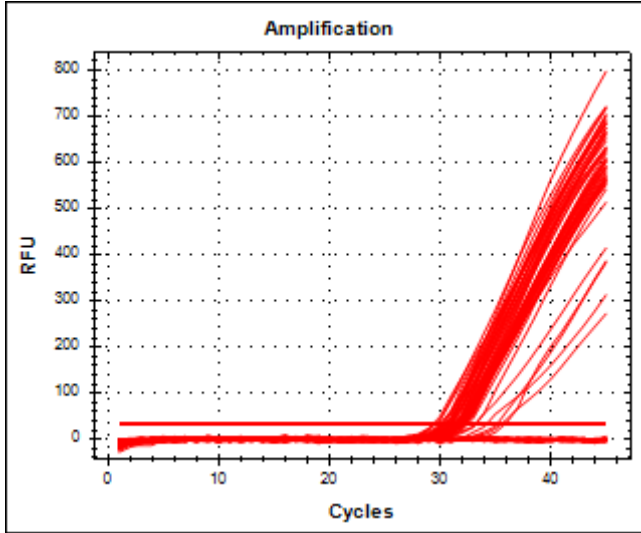
Kolistine duyarlı kökenlerin *pmrE* amplifikasyon eğrileri.



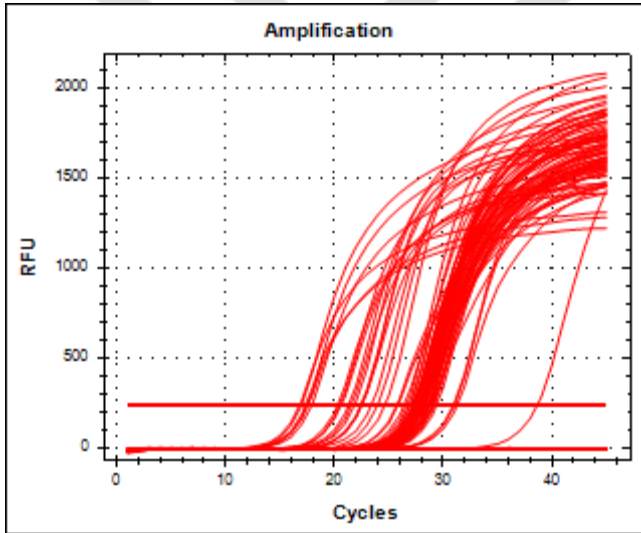
Kolistine duyarlı kökenlerin *pmrK* amplifikasyon eğrileri.



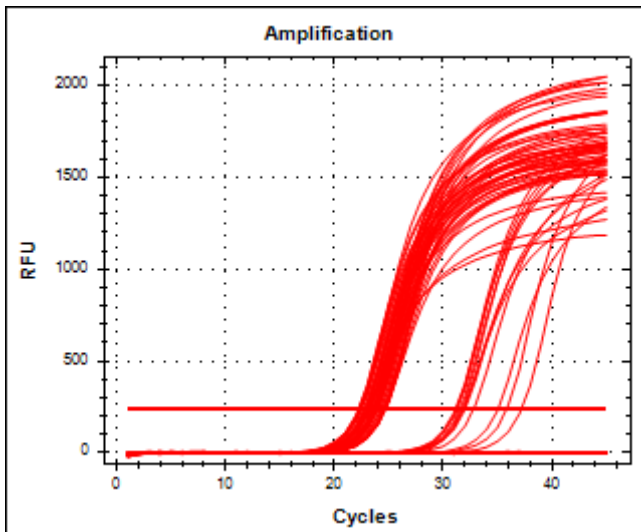
Kolistine duyarlı kökenlerin *phoP* amplifikasyon eğrileri.



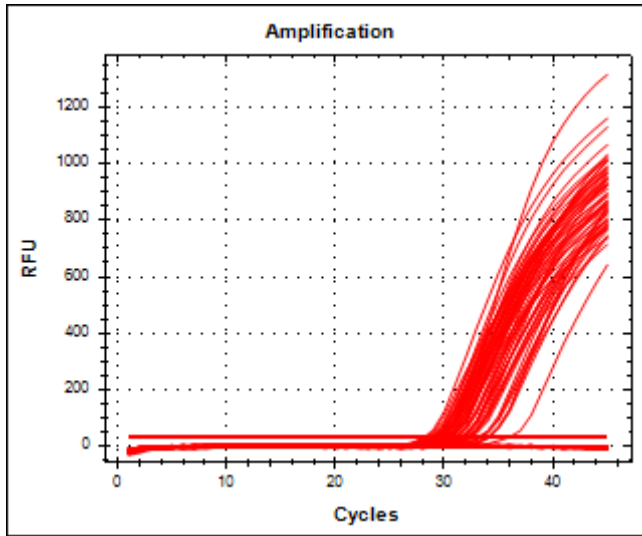
Kolistine duyarlı kökenlerin *phoQ* amplifikasyon eğrileri.



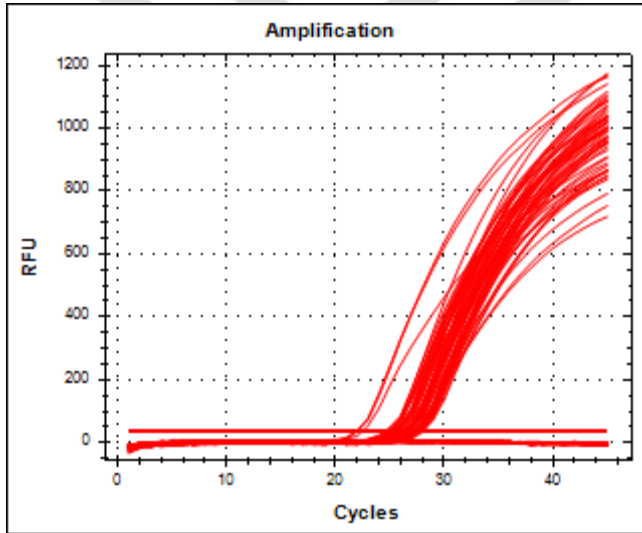
Kolistine duyarlı kökenlerin *rpsL* amplifikasyon eğrileri.



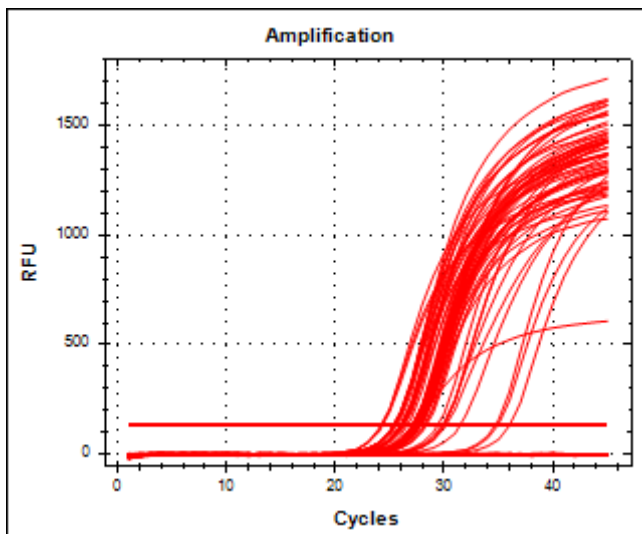
Kolistine dirençli kökenlerin *pmrA* amplifikasyon eğrileri.



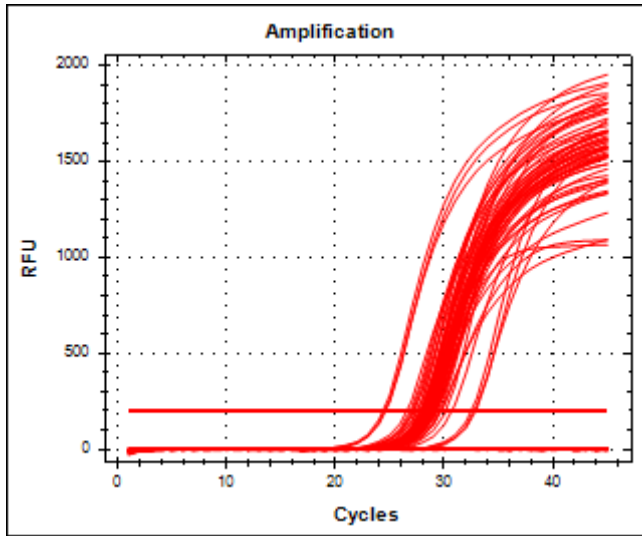
Kolistine dirençli kökenlerin *pmrB* amplifikasyon eğrileri.



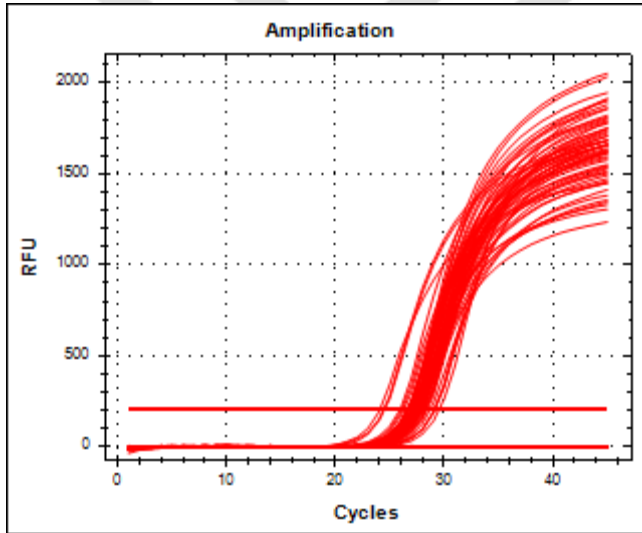
Kolistine dirençli kökenlerin *pmrC* amplifikasyon eğrileri.



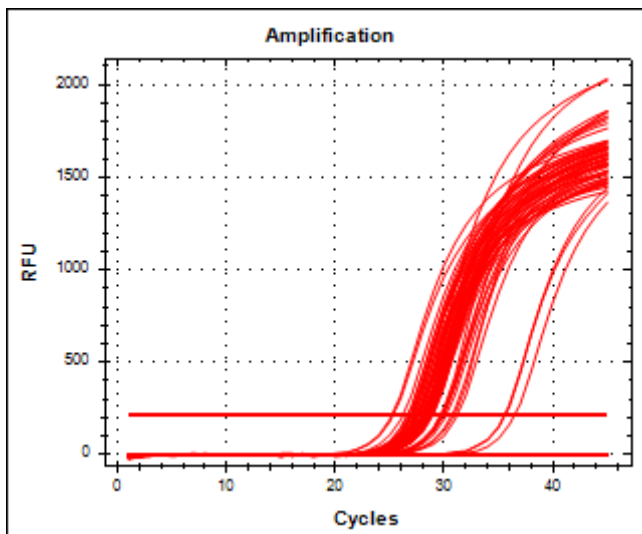
Kolistine dirençli kökenlerin *pmrD* amplifikasyon eğrileri.



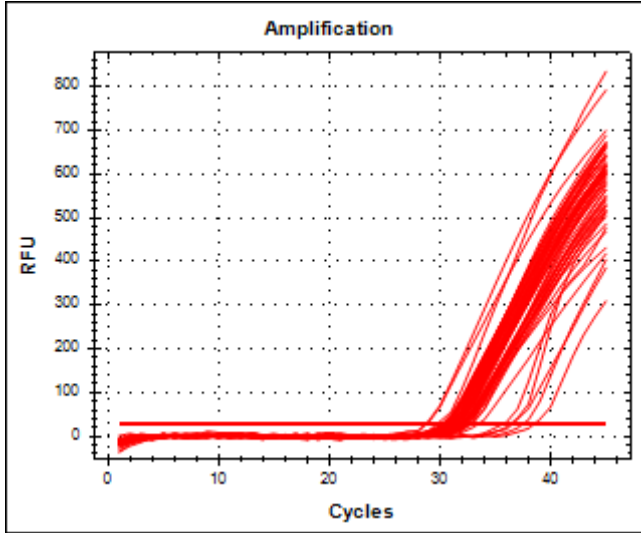
Kolistine dirençli kökenlerin *pmrE* amplifikasyon eğrileri.



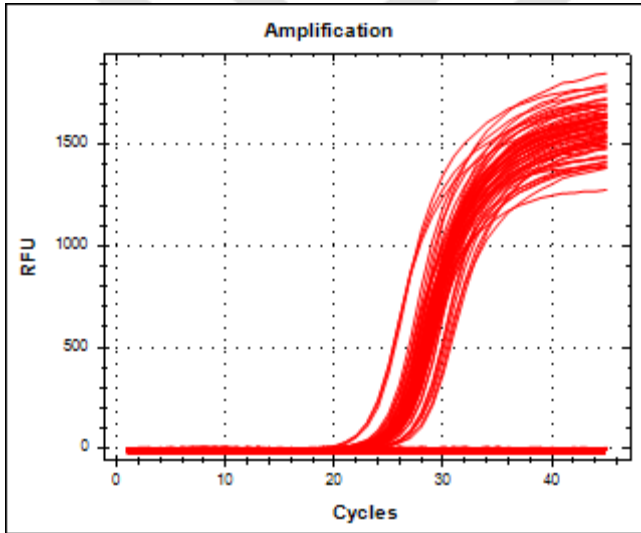
Kolistine dirençli kökenlerin *pmrK* amplifikasyon eğrileri.



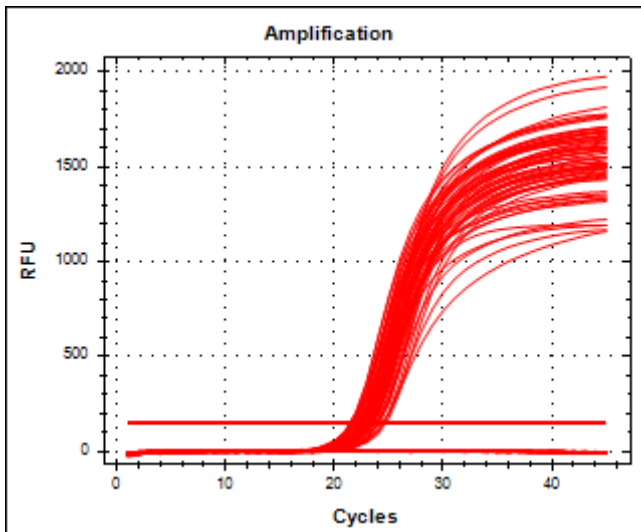
Kolistine dirençli kökenlerin *phoP* amplifikasyon eğrileri.



Kolistine dirençli kökenlerin *phoQ* amplifikasyon eğrileri.



Kolistine dirençli kökenlerin *rpsL* amplifikasyon eğrileri.



FORMLAR

ETİK KURUL KARARI



T.C
İSTANBUL ÜNİVERSİTESİ
CERRAHPAŞA TIP FAKÜLTESİ DEKANLIĞI



Sayı : 83045809/604.01.01-210338
Konu:

İstanbul / ...

16 Haziran 2015

Tıbbi Tıp Bilimleri Bölümü
Başkanlığına

İlgi: 17.06.2015 tarih, 64414572-604.01.01-186612 sayılı yazınıza;

Bölgemize bağlı Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı Öğretim Üyesi Prof.Dr.Ömer KÜÇÜKBASMAÇI'nın danışmanlığında Doktora Öğrencisi Barış Atı BORSA'nın yürüttüğünde "Kan Kültürlerinden İzole Edilen OXA-48 Üreten Karbapenem Dirençli Klebsiella Pneumoniae kökenlerinde kolistin Direncinin Belirlenmesinde Çeşitli Fenotipik Yöntemlerin Karşılaştırılması ve Direncin Moleküler Temelinde Araştırılması" başlıklı Doktora Tezi (Retrospektif) hakkında ilgi yazınız ve ekleri 07 Temmuz 2015 tarihinde toplanan Fakültemiz Klinik Araştırmalar Etik Kurulunca müzakere edilmiş olup; Bilimsel Araştırma Projeleri (BAP) desteği alınması koşuluyla etik açıdan uygun olduğuna karar verilmiştir.

Bilgilerinizi, durumun adı geçen anabilim dalı başkanlığına bildirilmesini rica ederim.


Prof.Dr. Özgür KASAPÇOPUR
Klinik Araştırmalar Etik
Kurulu Başkanı

Eki:
1 dosya

PATENT HAKKI İZNİ

TELİF HAKKI İZNİ

İNTİHAL RAPORU İLK SAYFASI

KLEBSIELLA PNEUMONIAE KÖKENLERİNDE KOLİSTİN DİRENCİNİN FENOTİPİK VE MOLEKÜLER YÖNTEMLERLE ARASTIRILMASI

ORJİNALLİK RAPORU

% 13	% 10	% 4	% 7
BENZERLİK ENDEKSİ	İNTERNET KAYNAKLARI	YAYINLAR	ÖĞRENCİ ÖDEVLERİ

BİRİNCİL KAYNAKLAR

1	Submitted to Istanbul University Öğrenci Ödevi	% 2
2	www.hastaneinfeksiyonlaridergisi.org İnternet Kaynağı	% 1
3	yogunbakimdergisi.org İnternet Kaynağı	% 1
4	www.yogunbakimdergisi.org İnternet Kaynağı	% 1
5	doc.rero.ch İnternet Kaynağı	% 1
6	Submitted to TechKnowledge Turkey Öğrenci Ödevi	% 1
7	www.klimik.org.tr İnternet Kaynağı	% 1
8	Submitted to Technische Universiteit Delft Öğrenci Ödevi	% 1