

T.C.
FIRAT ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
ENFEKSİYON HASTALIKLARI VE KLİNİK MİKROBİYOLOJİ
ANABİLİM DALI

KARBAPENEM DİRENÇLİ ENTEROBACTERİACEAE SUŞLARINDA
DİRENÇ GENETİĞİNİN BELİRLENMESİ VE YENİ KULLANIMA GİREN
ANTİBİYOTİKLERİN DİRENÇLİ SUŞLAR ÜZERİNDE ETKİNLİĞİNİN
DEĞERLENDİRİLMESİ

UZMANLIK TEZİ
Dr. Mehmet Ali AŞAN

TEZ DANIŞMANI
Prof. Dr. Kutbeddin DEMİRDAĞ

ELAZIĞ
2025

DEKANLIK ONAYI

Prof. Dr. Metin KAYA GÜRGÖZE

DEKAN

Bu tez Uzmanlık Tezi standartlarına uygun bulunmuştur.

Prof. Dr. Ayhan AKBULUT

Enfeksiyon Hastalıkları ve Klinik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı Başkanı

Tez tarafımızdan okunmuş, kapsam ve kalite yönünden Uzmanlık Tezi olarak kabul edilmiştir.

Prof. Dr. Kutbeddin DEMİRDAĞ _____ **Danışman**

Uzmanlık Sınavı Jüri Üyeleri

Prof. Dr. Ayhan AKBULUT _____

Prof. Dr. Kutbeddin DEMİRDAĞ _____

Doç Dr. Şafak ÖZER BALİN _____

TEŞEKKÜR

Enfeksiyon Hastalıkları ve Klinik Mikrobiyoloji uzmanlık eğitimime başladığım günden bu yana engin bilgi ve deneyimlerini benimle paylaşan, tezimin hazırlanmasında en başından en sonuna kadar yardım ve desteğini hiçbir zaman esirgemeyen değerli hocam ve tez danışmanım sayın Prof. Dr. Kutbeddin DEMİRDAĞ'a, tezimin yazım aşamasında önerileri ve değerlendirmeleri ile yardımlarını esirgemeyen sayın Prof. Dr. Ayşe SAĞMAK TARTAR'a, istatistiksel bilgi ve deneyimlerini benimle paylaşan sayın Doç. Dr. Serhat UYSAL'a;

İhtisasım süresince kendilerini tanımaktan büyük onur duyduğum ve onların rehberliğinde bir eğitim süreci geçirmek imtiyazına eriştiğim başta Fırat Üniversitesi Enfeksiyon Hastalıkları ve Klinik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı Başkanı Prof. Dr. Ayhan AKBULUT hocama ve kıymetli öğretim üyesi hocalarım Doç. Dr. Şafak ÖZER BALİN ve Doç. Dr. Türkkın ÖZTÜRK KAYGUSUZ'a;

Tezimin numune toplanma ve antibiyogram aşamasında desteklerini esirgemeyen Mikrobiyoloji Anabilim dalı öğretim üyelerinden sayın Dr. Öğr. Üyesi Sümeyra KAYALI'ya;

Tezimdeki fenotipik ve genotipik analizlerde ve izolatların antibiyogram aşamasında kıymetli desteklerini esirgemeyen İnönü Üniversitesi Tıp Fakültesi Mikrobiyoloji Anabilim dalı öğretim üyelerinden sayın Prof. Dr. Barış OTLU ve sayın Dr. Öğr. Üyesi Elif Seren TANRIVERDİ'ye

Büyük bir uyum, anlayış ve özveri içinde çalıştığımız Enfeksiyon Hastalıkları ve Klinik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı'ndaki tüm asistan hekim arkadaşlarıma;

Birlikte çalışmaktan mutluluk duyduğum gerek daha önce ayrılmış olanlar gerekse de hala çalışmakta olan sevgili hemşirelerimiz, sekreterlerimiz ve tüm mesai arkadaşlarıma;

Hayatım boyunca sevgi ve destekleriyle hep yanımda olan değerli aileme, benimle nice zorluklara göğüs geren, sevgisi ve desteğiyle her zaman yanımda olan sevgili eşim hayat yoldaşım Sedefiya AŞAN'a ve biricik oğlum hayattaki en büyük ilham kaynağım Ali Zana AŞAN'a en içten duygularıyla teşekkürlerimi sunarım.

Mehmet Ali AŞAN

ÖZET

Çoklu ilaç dirençli gram negatif bakteri enfeksiyonları; gerek tedavisinin zorluğu ve artan mortalitesi, gerekse tedavi maliyetleri açısından küresel boyutta önemli bir halk sağlığı problemidir. Gram negatif bakteri enfeksiyonların tedavisinde önemli bir yere sahip olan beta laktam grubu antibiyotiklere karşı gelişen beta laktamaz direnci nedeniyle karbapenem kullanımı artmış, bu da beraberinde karbapenem direncini getirmiştir. Karbapenem dirençli Enterobacteriaceae (CRE), ertapenem, imipenem veya meropenemden en az birine dirençli enterobacteriaceae suşlarını tanımlar. Mekanik ventilasyona bağlı, üriner veya intravenöz kateterlere ihtiyaç duyan hastalar, uzun süreli immünsüpresyona neden olan ilaçları kullananlar ve bağışıklık sistemi zayıf olanlar, (CRE) enfeksiyonları için risk altındadır.

Özellikle yoğun bakım ünitelerinde dirençle ilişkili baskın beta laktamaz geninin belirlenmesi, kritik hastalarda ampirik antibiyoterapiye büyük katkı sağlayacaktır. Bu tez çalışması ile hastanemiz yoğun bakım ünitelerinde yatan hastaların çeşitli klinik örneklerinde üreyen CRE izolatlarının genotipik metotlarla direnç profillerinin araştırılarak, bu izolatların antibakteriyel duyarlılıklarının belirlenmesi ile yerel ve ulusal sürveyansa katkı sağlanması amaçlandı.

15.12.2023 ile 15.06.2024 tarihleri arasında, hastanemizin 3. basamak Dahili ve Anesteziyoloji ve Reanimasyon yoğun bakım ünitelerinden birine yatışları yapıldıktan en az 72 saat sonra VIP, piyelonefrit veya kateter ilişkili kan dolaşımı enfeksiyonu düşünülen hastalardan alınan kan, idrar veya ETA kültürlerinde üreyen 74 CRE izolatı çalışmaya alındı. Kültürleri alınan hastaların yaşa, cinsiyete, yattıkları yoğun bakım ünitelerine, daha öncesinde aldıkları antibakteriyel ajanlara ve eşlik eden komorbid durumlara göre mortalite ile ilişkileri incelendi. Kültürlerde üretilen CRE izolatlarında fenotipik yöntemlerle karbapenemaz varlığı araştırıldı.

Karbapenemaz ürettiği belirlenen 60 *K. pneumoniae* ve 4 *E. coli* izolatından PCR metoduyla karbapenemaz genlerinden *blaOXA-48*, *blaNDM*, *blaIMP*, *blaVIM* ve *blaKPC* varlığı araştırıldı. Baskın karbapenemaz geni ülkemiz verilerine paralel olarak *blaOXA-48* tespit edildi (%53,1). MBL izolatlarına rastlanmayıp, *blaKPC* sıklığının ise arttığı gözlemlendi (%46,9).

Aynı izolatlardan seftazidim/avibactam, meropenem/vaborbactam, imipenem/relebactam, seftolozan/tazobactam ve sefiderozol antibiyotiklerine

duyarlılık disk difüzyon metoduyla araştırıldı. KPC izolatlarında seftazidim/avibactam %83,9, meropenem/vaborbactam %100, imipenem/relebactam %96,6 ve sefiderocol ise %93,3 oranında duyarlı saptanmış olup, Seftolozan/tazobactama duyarlı suş görülmedi. OXA-48 izolatları ise seftazidim avibactam %89, meropenem/vaborbactam %52, imipenem/relebactam %88, sefiderocol ise %94,1 oranında duyarlı görüldü. Seftolozan/tazobactama izolatların %17,6'sı duyarlı saptandı. blaKPC izolatlarının seftazidim/avibactam, meropenem/vaborbactam, imipenem/relebactam ve sefiderocol duyarlılıkları literatür verilerine uygun bulundu. BlaOXA-48 izolatlarında literatür verilerinden farklı olarak daha yüksek imipenem/relebactam duyarlılığı saptandı. *K. pneumoniae* izolatları arasındaki klonal ilişki protein elektroforezi metoduyla araştırıldı. 70 *K. pneumoniae* izolatı arasında 24 farklı genotip tespit edildi, izolatlar 9 farklı küme içerisinde toplandı. İzolatların 55'i bir kümenin içerisinde yer almakta olup, kümeleşme oranı %78.6 olarak saptandı.

Anahtar kelimeler: karbapenem dirençli enterobacteriaceae, karbapenemaz tespit yöntemleri, moleküler epidemiyoloji, CRE tedavisi

ABSTRACT

DETERMINATION OF RESISTANCE GENES IN CARBAPENEM-RESISTANT ENTEROBACTERIACEAE STRAINS AND EVALUATION OF THE EFFECTIVENESS OF NEWLY INTRODUCED ANTIBIOTICS AGAINST RESISTANT STRAINS

Multidrug-resistant gram-negative bacterial infections pose a significant global public health threat due to the challenges associated with their treatment, the increasing mortality rates, and the high associated treatment costs. The development of beta-lactamase resistance to beta-lactam antibiotics, which are central to the treatment of gram-negative bacterial infections, has led to an increased use of carbapenems, consequently contributing to the emergence of carbapenem resistance. Carbapenem-resistant Enterobacteriaceae (CRE) refers to Enterobacteriaceae strains that are resistant to at least one carbapenem, such as ertapenem, imipenem, or meropenem. Patients who require mechanical ventilation, have urinary or intravenous catheters, are on prolonged immunosuppressive therapy, or have compromised immune systems are at increased risk for CRE infections.

Identifying dominant beta-lactamase genes associated with resistance, particularly in intensive care units, will significantly contribute to empirical antibiotic therapy in critically ill patients. This thesis aims to contribute to local and national surveillance by investigating the resistance profiles of CRE isolates cultured from various clinical samples of patients hospitalized in the intensive care units of our hospital using genotypic methods. Additionally, the study seeks to determine the antimicrobial susceptibility of these isolates.

Between 15.12.2023 and 15.06.2024, a total of 74 CRE isolates were included in the study, which were cultured from blood, urine, or endotracheal aspirates (ETA) of patients suspected of having ventilator-associated pneumonia (VAP), pyelonephritis, or catheter-related bloodstream infections, and who had been hospitalized for at least 72 hours in one of the tertiary internal medicine and anesthesiology and reanimation intensive care units of our hospital. The relationship between the patients' age, sex, the intensive care unit in which they were treated, prior antimicrobial therapy, accompanying comorbidities, and mortality was investigated.

The presence of carbapenemase in the cultured CRE isolates was assessed using phenotypic methods.

The presence of carbapenemase genes (blaOXA-48, blaNDM, blaIMP, blaVIM, and blaKPC) was investigated using PCR in 60 *Klebsiella pneumoniae* and 4 *Escherichia coli* isolates identified as carbapenemase producers. Consistent with national data, blaOXA-48 was found to be the predominant carbapenemase gene, detected in 53.1% of the isolates. No metallo- β -lactamase (MBL) producers were observed, while an increase in the frequency of blaKPC was noted (46.9%).

The antimicrobial susceptibility of these isolates to ceftazidime/avibactam, meropenem/vaborbactam, imipenem/relebactam, ceftolozane/tazobactam, and cefiderocol was evaluated using the disk diffusion method. In KPC-producing isolates, susceptibility rates were as follows: ceftazidime/avibactam 83.9%, meropenem/vaborbactam 100%, imipenem/relebactam 96.6%, and cefiderocol 93.3%, with no strains exhibiting susceptibility to ceftolozane/tazobactam. In OXA-48-producing isolates, susceptibility rates were observed at: ceftazidime/avibactam 89%, meropenem/vaborbactam 52%, imipenem/relebactam 88%, and cefiderocol 94.1%. Moreover, 17.6% of the isolates showed susceptibility to ceftolozane/tazobactam.

The susceptibility of blaKPC-producing isolates to ceftazidime/avibactam, meropenem/vaborbactam, imipenem/relebactam, and cefiderocol was found to be in accordance with existing literature. In contrast, *Klebsiella pneumoniae* isolates harboring blaOXA-48 demonstrated a higher susceptibility to imipenem/relebactam than previously reported in the literature. Clonal relationships among *Klebsiella pneumoniae* isolates were analyzed using protein electrophoresis. Among the 70 *Klebsiella pneumoniae* isolates, 24 distinct genotypes were identified, and the isolates were grouped into 9 different clusters. A total of 55 isolates were found to belong to one of these clusters, corresponding to a clustering rate of 78.6%

Key words: carbapenem-resistant enterobacteriaceae, carbapenemase detection methods, molecular epidemiology, CRE treatment.

İÇİNDEKİLER

DEKANLIK ONAYI	ii
TEŞEKKÜR	iii
ÖZET	iv
ABSTRACT	vi
İÇİNDEKİLER	viii
ŞEKİL LİSTESİ	xi
KISALTMALAR	xii
1. GİRİŞ	1
1.1. Antibakteriyel Direncin Tarihsel Gelişimi	2
1.2. Enterobacteriaceae	3
1.2.1. Sınıflandırma	3
1.2.2. Epidemiyoloji	4
1.2.3. Duvar Mimarisi	4
1.2.4. Virülans Özellikleri	6
1.3. Antimikrobiyal Direnç	7
1.3.1. CRE Direnç Mekanizmaları	8
1.3.1.1 Enzimatik Hidroliz	8
1.3.1.2. Dış Membran Proteinlerinin Mutasyonu veya Kaybı	12
1.3.1.3. Efflux Sistemi	13
1.3.1.4 Penisilin Bağlayıcı Protein (PBP) Değişimi	14
1.3.1.5. Değiştirilmiş Biyofilm Bileşenleri	14
1.4. Karbapenemler	14
1.5. Karbapenem Direncinin Tespiti	16
1.6. Fenotipik Yöntemler	17
1.6.1. Modifiye Hodge Testi (MHT)	17
1.6.2. Karbapenem İnaktivasyon Yöntemi (CİM)	17
1.6.2.1. Etilendiamintetraasetik Asit Karbapenemaz İnaktivasyon Testi	18
1.6.2.2. Boronik Asit İle Karbapenemaz İnaktivasyon Testi	18
1.6.3. Karbapenemaz Nordmann-Poirel (Carba NP) Testi	18
1.6.4 Matriks Destekli Lazer Dezorpsiyon/İyonizasyon Uçuş Zamanı Kütle Spektrometresi (MALDI-TOF MS)	19

1.6.5 Yanal Akış İmmünoanalizleri (LFIA)	19
1.7. Genotipik Metodlar	19
1.8. CRE Tedavisi İçin Önerilen Beta Laktamlar Ve Beta Laktam-Beta Laktamaz Kombinasyonları	20
1.8.1 Seftazidim/Avibactam	20
1.8.2 İmipenem/Relebactam	21
1.8.3 Meropenem/Vaborbactam	21
1.8.4 Sefiderokol	21
1.8.5 Seftozolan/Tazobactam	22
1.9. Tanımlamalar	22
1.9.1 Ventilatör İlişkili Pnömoni (VIP)	22
1.9.2 Komplike Üriner Sistem Enfeksiyonu	23
1.9.3 Kan Dolaşımı Enfeksiyonu	23
2. GEREÇLER VE YÖNTEM	24
2.1. Tasarım	24
2.2. Verilerin Toplanması Ve Tanımlamalar	24
2.3. Mikrobiyolojik Çalışmalar	25
2.3.1. Karbapenem İnaktivasyon Metodu (CIM)	26
2.3.2. İzolatların DNA Ekstraksiyonu ve Karbapenemaz Direnç Genlerinin PCR ile Tespiti	26
2.3.3. PZR amplifikasyonunun yapılması:	27
2.3.4. DNA Agaroz Jel Elektrophorezi	28
2.4. Çalışmanın Akışı	29
3. BULGULAR	31
4. TARTIŞMA	40
5. KAYNAKLAR	48
6. ÖZGEÇMİŞ	Error! Bookmark not defined.

TABLO LİSTESİ

Tablo 1.	Kullanılan primerler	27
Tablo 2.	Karbapenemaz genleri için hazırlanan PZR reaksiyon karışımının içeriği	27
Tablo 3.	Amplifikasyon programı	28
Tablo 4.	Antibiyotik duyarlılık zon çapları	29
Tablo 5.	Hastaların demografik özellikleri, yattıkları yoğun bakım üniteleri.	31
Tablo 6.	Yoğun bakıma kabuldeki tanıların sağ kalan ve ölen hastalardaki dağılımı.	32
Tablo 7.	Sağ kalan ve ölen hasta grupları arasında enfeksiyon odağı ve alınan kültürlerin dağılımı	33
Tablo 8.	Hasta grupları arasında kültür alınma zamanındaki klinik ve laboratuvar bulgularının karşılaştırılması.	33
Tablo 9.	Komorbiditelerin hasta gruplarında insidansı ve mortalite ile ilişkisi	34
Tablo 10.	Hastaların yattığı klinik ile komorbidite dağılımı arasındaki ilişki.	34
Tablo 11.	Kültürlerdeki etkenler ve kültür öncesi-sonrası tedavinin hasta gruplarındaki dağılımı	35
Tablo 12.	Tedavi süreleri ve tedavi öncesi antibiyotik kullanımı	36
Tablo 13.	Hasta gruplarında antibakteriyel duyarlılık sonuçları	36
Tablo 14.	Hasta gruplarında yeni antibiyotiklerin duyarlılık oranları	37
Tablo 15.	Direnç geni mortalite ilişkisi	37
Tablo 16.	Yeni antibiyotiklerin duyarlılıklarının direnç genleriyle ilişkisi	38

ŞEKİL LİSTESİ

Şekil 1. Antibiyotik sınıfları, ilk kullanıma giriş tarihleri ve ilk direnç gelişim tanımlanma tarihleri.	2
Şekil 2. Karbapenemazların/beta-laktamazların merkezi katalitik bölgelerine göre sınıflandırılması.	9
Şekil 3. Elektroforez cihazı	28
Şekil 4. Çalışma akışı	29
Şekil 5. İzolatların klonal ilişkisini gösteren dendogram	39



KISALTMALAR LİSTESİ

AMR	: Antimikrobiyal direnç
ATP	: Adenozin trifosfat
Bla	: Beta laktamaz geni
Carba NP	: Karbapenemaz Nordmann-Poirel testi
CCCP	: Karbonil siyanür m-klorofenil hidrazin
CDC	: Hastalık Kontrol ve Koruma Merkezi
CIM	: Karbapenemaz inaktivasyon metodu
CLSI	: Klinik ve Laboratuvar Standartları Enstitüsü
CRE	: Karbapenem dirençli enterobacteriaceae
CRKP	: Karbapenem dirençli K. pneumoniae
CTX	: Sefotaksim-Hidrolize edici beta-laktamaz
DHP	: Dehidropeptidaz
DSÖ	: Dünya Sağlık Örgütü
EDTA	: Etilendiamintetraasetik asit
EMA	: Avrupa İlaç Ajansı
ESBL	: Genişlemiş spektrumlu beta-laktamaz
ETA	: Endotrakeal aspirat
EUCAST	: Avrupa Antimikrobiyal Duyarlılık Testi Komitesi
FDA	: ABD Gıda ve İlaç Dairesi
GES	: Guyana geniş spektrumlu beta-laktamaz
IM	: İç membran
IMI	: İmipenem-hidrolize edici beta-laktamaz
IPM	: İmipenemaz metallo-beta-laktamaz
KPC	: Klebsiella pneumoniae karbapenemaz
LFIA	: Yanal akış immünoanalizör
LPS	: Lipopolisakkarit
MALDI-TOF MS	: Matriks destekli lazer desorpsiyonu uçuş kütle spektrometresinin iyonizasyon süresi
MBL	: Metallo-beta-laktamaz
MDR	: Çoklu ilaca dirençli
MHA	: Muller-Hington Agar

MHT	: Modifiye Hodge testi
MİK	: Minimum inhibitör konsantrasyonu
NDM	: New Delhie metallo-beta-laktamaz
OM	: Dış membran
OMP	: Dış membran proteini
OXA	: Oksasilin Karbapenemaz
PAbN	: Fenilalanin arginin beta naftilamid
PBP	: Penisilin bağlayıcı protein
PCR	: Polimeraz zincir reaksiyonu
PG	: Peptidoglikan
RND	: Direnç-nodülasyon-bölünme
SME	: Serratia marcescens enzimi
TEM	: Temoneira sınıf A genişletilmiş spektrumlu beta-laktamaz
Tn	: Transpozon
VIM	: Verona integron kodlu metallo-beta-laktamazlar
VIP	: Ventilatör ilişkili pnömoni
WGS	: Tam genom dizilimi

1. GİRİŞ

Bakterilerde görülen antimikrobiyal direnç, hem hastanede tedavi gören hastalar için hem de toplum sağlığı için önde gelen halk sağlığı problemlerinin başında gelmektedir. Dünya Sağlık Örgütü verilerine göre 2019 yılında yaklaşık 1.27 milyon insan ölümü doğrudan antimikrobiyal dirence atfedilmiş, 4.9 milyon ölüm de dolaylı olarak antimikrobiyal direnç ile ilişkilendirilmiştir (1). Bazı tahminlere göre bu sayı 2050 yılında yılda yaklaşık 10 milyon ölüme ulaşacağı yönündedir (2). Ayrıca yüksek tedavi maliyetlerinin yanında neden olduğu ciddi iş gücü kaybıyla da ülkelerin ekonomilerine önemli maliyetleri olmaktadır (3).

Prokaryotik bakteri sınıflarından küresel toplum üzerine tıp, halk sağlığı ve veterinerlik alanlarında en etkili grup Enterobacterales sınıfıdır (4). Enterobacteriaceae bu sınıfın en geniş ailesi olup en önemli üyeleri *Escherichia* ve *Klebsiella* spp.'dir (5). Doğada yaygın bulunan Enterobacteriaceae ailesi insanda barsak florasının önemli üyesi olmasına rağmen hayatı tehdit eden birçok enfeksiyona neden olmaktadır. Tedavide beta laktam grubu antibiyotiklerin aşırı kullanımı, farklı yollarla; çoğunlukla da beta laktamaz senteziyle dirençli suşların seçilimine katkıda bulunmuştur (6). Özellikle genişletilmiş spektrumlu beta laktamaz üreten suşların (ESBL) artması, tedavilerinde önerilen karbapenem sınıfı antibiyotiklerin kullanımını arttırmış bu da beraberinde karbapenem direncini getirmiştir (7).

Amerika Birleşik Devletleri Hastalık Kontrol ve Koruma Merkezi (CDC) karbapenem dirençli Enterobacteriaceae(CRE)'yı bir ya da birden fazla karbapeneme (ertapenem, imipenem veya meropenem) in vitro direnç gelişimi olarak tanımlamaktadır (8). Karbapenemaz sentezinden sorumlu beta laktamaz genlerinden *Klebsiella pneumoniae* karbapenemaz (*blaKPC*) dünyada en yaygın beta laktamaz olup (9), ülkemizde en sık görülen karbapenemaz geni *blaOXA-48* dir (10).

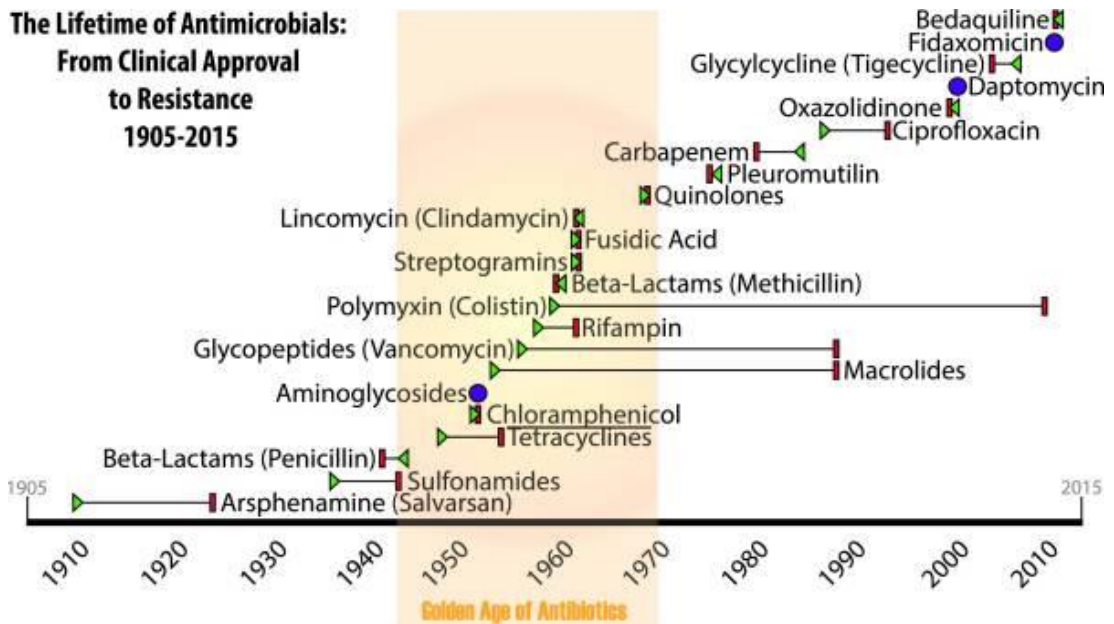
CRE izolatlarında dirençten sorumlu mekanizmanın bilinmesi tedavi seçeneklerinin belirlenmesi açısından kritik öneme sahiptir. Kritik hastalar için direnç mekanizmasının ve dirençten sorumlu beta laktamaz geninin bilinmesi, baskın genotipik direnç paternine uygun ampirik tedavi belirlenmesine olanak sağlayacaktır (11).

Bu tez çalışması ile Fırat Üniversitesi Hastanesi Dahili ve Anesteziyoloji Yoğun Bakım Üniteleri'nde görülen CRE enfeksiyonlarına neden olan suşlardan

karbapenem direncinin beta laktamazlara bağılı olarak gerçekleşenleri belirlemek ve dirençten sorumlu olan beta laktamaz genini araştırarak baskın genotipi belirlemek, İmipenem/relebactam, meropenem/vaborbactam, seftazidim/avibactam, seftolozan/tazobaktam ve sefidocol antibiyotik duyarlılıklarının araştırılarak kritik hastalarda ampirik antibiyoterapiyi şekillendirmek ve lokal ve ulusal süveyansa katkıda bulunmak amaçlandı.

1.1. Antibakteriyel Direncin Tarihsel Gelişimi

Modern tıbbın temel taşı olan antibiyotiklerin hikayesi ilk olarak 19. yüzyılın sonlarına dayanmaktadır. Hücre içine nüfuz eden boyaların keşfiyle Paul Erlich tarafından boya maddelerinin girdikleri hücreleri parçalayan toksinlerle birleştirme fikri geliştirildi. Bu fikriyle salvarsan 1900'li yılların başında *Treponema pallidum* tedavi etmek için kullanıma giren ilk antibiyotik olmuştur (12, 13). İlk gerçek antibiyotik olan penisilin Alexander Fleming tarafından 1928'de geliştirilmeye başlanmış, 1940'da kullanılmaya başlanmıştır (14). Penisilin keşfinden sonra antibiyotiklerin altın çağı başlamış, her yeni antibiyotiğin kullanıma girmesinden kısa zaman sonra, bazen henüz kullanıma girmeden, bazen de kullanıma girdiği gibi direnç de beraberinde gelmiştir.



Şekil 1. Antibiyotik sınıfları, ilk kullanıma giriş tarihleri ve ilk direnç gelişim tanımlanma tarihleri.

Şekillerdeki üçgenler ilk kullanıma giriş tarihini, dikey çizgi ise direnç tanımlanma tarihini göstermektedir. Bazı antibiyotiklerde yaygın kullanıma geçilmeden önce direnç tanımlandığı gözlenmektedir. Direncin rapor edildiği yıl klinik kullanım onayı alan antibiyotikler daire ile gösterilmiştir (15).

Beta laktamazlar ilk defa penisiline karşı oluşturulmuş penisilinazla tanımlanmış, ampisilin sulbaktam kullanımıyla *TEM-1*, *SHV-1* beta laktamazlar hızla yayılmıştır (16). 1980’de 3. Kuşak sefalosporinlerin kullanıma girmiş, 1983’te geniş spektrumlu sefolasporinleri hidrolize edici plazmid kodlu beta laktamazlar tanımlanmıştır (17). Bu yeni betalaktamazlar genişletilmiş spektrumlu beta laktamazlar (ESBL) olarak tanımlanmıştır (18).

Karbapenemler 1980’lerin sonlarında ESBL tedavisinde yaygın bir şekilde kullanılmıştır (19). Karbapenemlerin artan kullanımı CRE’yi de beraberinde getirmiştir (20). İlk defa 1993’te Japonya’da karbapenemleri hidrolize eden ve plazmidle aktarılabilen bir metallo-beta-laktamaz (MBL) olan *IMP-1* keşfedilmiştir (21). Ardından İtalya’da önce *Pseudomonas aeruginosa* da tanımlanıp ardından enterobacteriaceae da tanımlanan başka bir MBL olan *VIM-1* izlemiştir. 1996 yılında ABD’de *K. pneumoniae* suşlarında plazmidle aktarılabilen *KPC* tanımlanmış (22) ve 2000’li yılların başında geniş hastane salgınlarına neden olduğu rapor edilmiştir (23, 24). 2000’li yılların başında ilk defa Türkiye, Malta, Orta Doğu ve Kuzey Afrika’da *OXA-48* tanımlanmıştır (25, 26). Bir MBL olan *NDM-1* daha yakın tarihte Hindistan’da tanımlanmıştır (27).

1.2. Enterobacteriaceae

1.2.1. Sınıflandırma

Enterobacteriaceae ailesi, Bacteria alanına, Proteobakteriler şubesine, Gammaproteobakteriler sınıfına ve Enterobacterales takımına aittir. Enterobacteriaceae gram negatif boyanan, spor oluşturmeyen, fakültatif anaeroblar olup tipik olarak hareketlidirler. Glikozu fermente eder, nitrata nitrite indirger ve katalaz pozitif ancak oksidaz negatiftirler. Enterobacteriaceae, insan enfeksiyonunda rol oynayan birçok cinsi içerir. Ailenin en önemli üyeleri *Escherichia*, *Klebsiella*, *Enterobacter* cinsleridir (26).

1.2.2. Epidemiyoloji

Doğada yaygın olarak bulunan Enterobacteriaceae üyeleri için insan vücudunun başlıca rezervuar alanı özellikle alt gastrointestinal sistemdir. Sık hastane yatışları olan veya bağışıklık sistemi baskılanmış bireylerde, genitoüriner sistemde ve solunum yollarında sıklıkla kolonize olabilmektedirler. Enterobacteriaceae üyeleri mikrobiyoloji laboratuvarlarında sıklıkla izole edilen, hemen hemen her organ sistemini tutabilen, hem hastane hem de toplum kaynaklı enfeksiyonlara neden olan gram-negatif patojenlerdir (11).

Enterobacteriaceae üyeleri arasındaki antimikrobiyal direnç, önemli bir küresel sağlık tehdididir (28). ESBL üreten enterobacteriaceae ve MBL üreten CRE izolatlarıyla hem gelişmiş hem de gelişmekte olan ülkelerde çeşitli klinik izolatlarda sıklıkla karşılaşılmaktadır (29). Plazmidler tarafından kodlanan, transpozonlar veya integronlar üzerindeki direnç genleri, farklı enterobakteriyel cinsler arasında bile antibiyotik direncinin hızlı ve rastgele yayılmasına olanak sağlar (30, 31).

1.2.3. Duvar Mimarisi

Gram negatif bakterilerin hücre zarı iki katmanlı olup, iç yüzde sitoplazmik veya iç membran (IM) ve dış yüzeyde ise dış membran (OM) içerir. IM ve OM arasındaki boşluk periplazmik aralık olarak tanımlanır. Hücre şeklini belirleyen ve turgor basıncına karşı koruyan, dış iskelet görevi gören, disakkarit N-asetil glukozamin-N-asetilmuramik asidin tekrarlayan birimlerinden oluşan ağ benzeri bir yapı olan peptidoglikan (PG) tabaka ise periplazmik aralıkta bulunur (11, 32). Çoğu gram negatif bakterilerin OM'leri fosfolipitler ve lipopolisakkaritlerden oluşur. OM'de ayrıca lipoproteinler, madde difüzyonuna aracılık eden, periplazmik aralığa madde transportunu sağlayan protein yapısında olan porin adlı kanal sistemleri de mevcuttur (33, 34).

Dış zarda bulunan lipopolisakkaritlerin polisakkarit komponenti somatik O antijenini oluşturmakta olup bu antijen türe özgün yapıya sahiptir. O antijenine sahip bakteriler daha virülan yapıya sahip S koloni oluşturur, O antijen kaybı durumunda R koloni oluştururlar. Lipopolisakkaritin lipid A kısmı ise tüm gram negatif bakterilerde endotoksin özelliği gösterir. Endotoksinler hücre ölümüyle ya da hücre duvarının parçalanmasıyla açığa çıkar.

İç zar ise yapı, taşıma ve biyosentetik işlevleri olan bir fosfolipid çift katmanı olan yapıdadır. Ayrıca genetik materyalin tutunma yeridir (35).

Enterobacteriaceae familyasının potansiyel yüzey polisakkaritleri arasında enterobakteriyel ortak antijen, kolonik asit ve kapsül olarak bilinen çok çeşitli polisakkarit zarfları bulunur. Enterobakteriyel ortak antijenin tüm ailede önemli ölçüde bulunması, çok az anlaşılmış olsa da önemli bir immün stimulan fonksiyonu dikkat çekmektedir (36). Enterobakterilerin çoğu dış yüzeyinde bir ekzopolisakkarit olan kolanik asit katmanı bulunur. Kolanik asit glikoz, galaktoz ve glukronik asitten oluşan dallanmış bir polisakkarittir (37). Bakteri için kuruma, oksidatif stres ve düşük pH gibi yaşanması zor ortamlarda koruma sağlar (38).

Bakteri dış yüzeyinde bulunan çeşitli antibiyotik ve aşılar için potansiyel hedef olan kapsül yapısı lipopolisakkarit veya α -gliserol fosfata bağlıdır. Kapsüller polisakkarit veya K-antijeni kapsülün yapısında bulunur. K antijenleri O antijenin yüzeyini örterek özgül anti serumlarla reaksiyonunu önlerler. Bu yolla konak-patojen etkileşimini önleyerek virülansa katkıda bulunurlar. Bakteriler K antijenine göre serotiplendirilirler (39, 40).

Enterobakterilerin dış yüzeyinde bulunan flagella bakterinin sıvı ortamdaki motilitesinden sorumludur. Hareketsiz enterobakteriler bile bazen flagellar ifadeye özgü genleri korur ve daha sonra belirli koşullar altında hareket etme yeteneğine sahip olur (41). Yapısında bulunan flagellin proteini antijenik özellik kazandırır. Lipopolisakkarit gibi flagellin de konakçının doğuştan gelen bağışıklık sistemi modeli tanıma reseptörleri (Toll-like reseptörleri, C-lektin reseptörleri, NOD-like reseptörler.) tarafından tanınır ve bu tanıma nötrofil kemotaksisine ve inflamatuvar yanıtın başlatılmasına yol açabilir (42).

Enterobakterilerin çoğu, fimbria (pili) olarak adlandırılan bakteri yüzeyinden uzanan, otoagregasyona ve konakçı hücrelere tutunmaya aracılık eden ince nanofilamentler üretir (43). Fimbrialar, plazmidler üzerinde bulunan virülans ve antibakteriyel dirençle ilgili genlerin bakteriyel konjugasyonunu kolaylaştırarak hücreler arasında aktarımını da sağlarlar (44).

1.2.4. Virölans Özellikleri

İnsan konakçıyla ilgili enterobakteriler, kommensal bakterilerden oldukça virölans patojenlere kadar çok çeşitli organizmaları içerir. Bu patojenite spektrumu, belirli bir suştaki virölans faktörlerinin değişken ifadesini yansıtır. Moleküler Koch varsayımı ilkesine göre; bir virölans faktörünün ciddiyeti; bu faktörü kodlayan genin mutasyonu ile hafifletilen ve daha sonra vahşi tip allelin yeniden dahil edilmesiyle eski haline dönen bir hastalığa neden olan bir hastalık etmeni olarak tanımlanır (44). Tüm mikropalarda olduğu gibi, patojenitenin ortak temaları giriş, yerleşme, çoğalma, konak savunmasından kaçış, doku hasarı ve çıkışı içerir.

Konak hücreye tutunmada fimbrialar, dış zar proteinleri ve yüzey karbonhidratları sorumludur. Fimbrialar başta *E. coli* olmak üzere değişik türden bakterilerin dış yüzeyinde bulunan hedef organlardaki hücrelere adezyonu sağlayan protein yapıdaki hücre dışı uzantılardır. Hemagglütinasyon oluşturma özelliğine, oluşan agglütinasyonun mannoz ile inhibe olabilmesine göre, eritrosit dışında farklı hücrelere tutunabilme özelliklerine göre beş tip fimbria tanımlanmıştır. Tip I fimbria Enterobakteriyel adezhinin prototipidir ve barsak epiteline adezyonunu sağlar (45). Konak hücre yüzeyindeki glikopeptitlere ve glikolipitlerdeki mannoz kalıntılarına tutunur (46). Tip 1 fimbria, en sık görülen, virölans faktörü olarak iyi bilinen bir yapıya sahip olmasının yanı sıra kolonizasyon ve otoagregasyonda da önemlidir (47).

Enterobacteriaceae familyasının birçok üyesi çevreye salınan veya konakçı hücrelere etki eden toksinler üretir. Üretilen ekzotoksinler bakteri yokluğunda hastalık oluşturmazken bakteri varlığında patojenitede önemli role sahiptirler (48). *E. coli*'nin enteropatojenik türleri tarafından üretilen ısıya duyarlı labil toksini ve ısıya dirençli stabil toksini örnek olarak gösterilebilir.

Lipopolisakkarit, virölans faktörü olarak da işlev görebilen, tüm gram-negatif bakterilerin dış zarının önemli bir bileşenidir. Lipopolisakkaritin temel bileşenleri lipit A, çekirdek oligosakkaritleri ve bunlara bağlı polisakkaritlerdir. (O antijeni). Lipid A, endotoksinin ana biyoaktivitesinden sorumludur ve bağışıklık hücreleri tarafından patojenle ilişkili bir molekül olarak tanınır (49).

Enterobakteriyel kapsüller, fagositozu önleyerek bakterilerin insan serumunda hayatta kalmasına yardımcı olabilir. Belirli suşlardan alınan kapsüller belirli patojenik özelliklere katkıda bulunur(50, 51).

Birçok enzim için kofaktör olan demir minerali bakteriyel enzimler için de önemli bir kofaktördür. Birçok enterik bakteri konağın demir bağlayıcı proteinleriyle yarışan şelatörler geliştirmiştir. Patojenitede önemli rolleri olan enterobactin ve aerobactin Enterobacteriaceae için önemli şelatörlerdir (52, 53) *K. pneumoniae* suşlarında artan kapsül sentezi ve aerobactin üretimi hipervirülan *K. pneumoniae* (hvKP) suşlarının ortaya çıkmasına neden olmaktadır (54).

1.3. Antimikrobiyal Direnç

Antibiyotik direnci; normal koşullar altında onu öldürebilecek veya çoğalmasını durdurabilecek antimikrobiyal ajanla maruziyetinden sonra hayatta kalmasıyla gelişir. Enterobacterales türleri arasında antibiyotik direnci önemli bir sorun olarak karşımızda durmaktadır (55). Çoklu ilaca dirençli enterobakterilere bağlı enfeksiyonlar, yetersiz tedavi seçenekleri ve yeni antimikrobiyal ilaçların tarihsel olarak gecikmeli gelişme hızı nedeniyle önemli bir uluslararası halk sağlığı sorunu haline gelmiştir (56). Dünya Sağlık Örgütü verilerine göre 2019 yılında 1.27 milyon insan ölümü doğrudan antimikrobiyal dirence atfetmiş, 4.9 milyon ölümü dolaylı olarak antimikrobiyal dirençle ilişkilendirilmiş, 2050 yılında yaklaşık 10 milyon ölümün antimikrobiyal dirence bağlı olabileceği ön görülmüştür (1). 1980'li ve 1990'lı yıllardaki ilk çalışmalar, enterobakterilerin tedavisinde sefalosporin sınıfı antibiyotiklerin gereksiz veya aşırı kullanımıyla ESBL üreterek direnç geliştirdiği göstermiştir (57). 1990 sonrası yapılan sonraki çalışmalarda, artan karbapenem kullanımıyla beraber CRE sıklığının arttığı, bu suşların (özellikle *K. pneumoniae*) bazı durumlarda mevcut antimikrobiyal ajanlarla tedavi edilemeyen dramatik artışları gözlenmiştir (58-60). CDC CRE'yi herhangi bir karbapeneme duyarlı olmayan veya karbapenemaz ürettiği kanıtlanmış enterobakteriler olarak tanımlar (8).

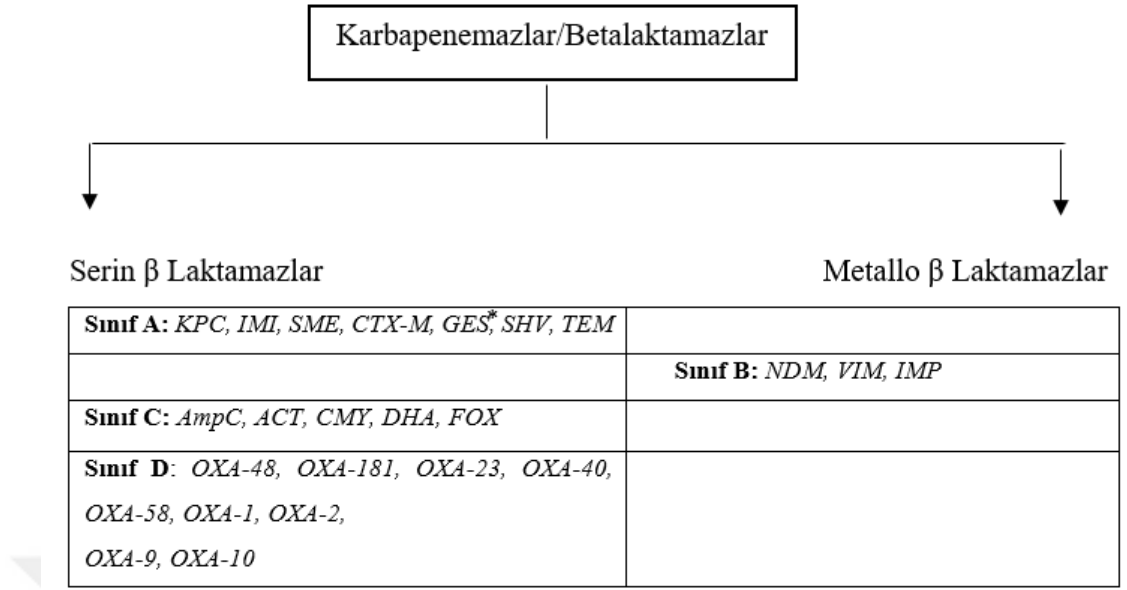
Profilaksi ve tedavide antimikrobiyallerin yetersiz kullanımı, hastanede yatış süresinin uzaması, yoğun bakımda kalış sayısı ve süresinin artması, hastanede yatan hastalarda çoklu komorbiditeler, kök hücre ya da solid organ transplantasyonu, invaziv cihaz ve kateterlerin artan kullanımı, etkisiz enfeksiyon kontrol uygulamaları, kolonize hastaların hastaneden hastaneye nakli, tarımsal alanda artan antibiyotik kullanımı, ulusal ve uluslararası seyahatlerin artması çoklu ilaç dirençli (MDR) Enterobacteriaceae edinilmesi açısından risk faktörleridir (61). Özellikle mekanik

ventilatörlere, üriner veya intravenöz kateterlere ihtiyaç duyan hastaların yanı sıra uzun süre antibiyotik veya immünsüpresif ajan kullananlar ve bağışıklık sistemi zayıf olanlar CRE enfeksiyonları açısından risk altındadır (62).

1.3.1. CRE Direnç Mekanizmaları

1.3.1.1 Enzimatik Hidroliz

Karbapenem direncinin anahtar mekanizmalarından biri, karbapenemlerin esas olarak plazmidler üzerinde kodlanan ve oldukça bulaşıcı olan beta laktamaz enzimlerinden karbapenemazlar tarafından hidrolizidir (63). Beta-laktamazlar Bush-Jacoby Medeiros sistemi ile fonksiyonel, Ambler sınıflama sistemiyle de moleküler olarak sınıflandırılmaktadır (64). Fonksiyonel olarak beta laktamazlar; sefalosporinazlar, genişletilmiş spektrumlu beta-laktamazlar ve serin karbapenemazlar, metallo- beta- laktamazlar şeklinde sınıflanmaktadır (65). Moleküler olarak Ambler sınıflamasına göre dört grupta (A,B,C,D) sınıflandırılmıştır (66). A, C ve D sınıfı beta- laktamazlar aktif katalitik bölgelerinde serin elementi içerirken, B sınıfı beta laktamazlar aktif katalitik bölgelerinde çinko içerir ve metallo-beta-laktamazlar (MBL) olarak anılırlar. A, B ve D sınıfı beta-laktamazların karbapenemaz aktivitesi mevcutken C sınıfı beta-laktamazların karbapenemaz aktivitesi olmayıp karbapenem direncine farklı mekanizmalarla neden olurlar (67).



Kısaltmalar: *ACT*, *AmpC* tipi beta-laktamaz; *AmpC*, ampicilin kromozomal sefalosporinaz; *CMY*, sefamisin hidrolize edici beta-laktamaz; *CTX-M*, sefotaksim-hidrolize edici beta-laktamaz-Müni; *FOX*, plazmit aracılı sınıf C beta-laktamaz; *GES*, Guyana geniş spektrumlu beta-laktamaz; *IMI*, imipenem-hidrolize edici beta-laktamaz; *IMP*, imipenemaz metalo- β -laktamaz; *KPC*, *Klebsiella pneumoniae* karbapenemaz; *NDM*, Yeni Delhi metalo-beta-laktamaz; *OXA*, oksasiline karbapenemaz/oksasiline; *SHV*, *TEM* enziminin sülfhidril çeşidi; *SME*, *Serratia marcescens* enzimi; *TEM*, Temoneira sınıf A genişletilmiş spektrumlu beta-laktamaz; *VIM*, Verona integron tarafından kodlanan metalo-beta-laktamaz (68). * ile işaretli genlerin bazı varyantları karbapenemaz aktivitesine sahiptir.

Şekil 2. Karbapenemazların/beta-laktamazların merkezi katalitik bölgelerine göre sınıflandırılması.

Karbapenemazlar da dahil olmak üzere beta-laktamazlar, kromozomlar veya plazmidler üzerinde bulunan genlerden kodlanır. Plazmidlerde bulunan genler sıklıkla aynı tür içindeki diğer bakterilere veya diğer cinslere aktarılma yeteneğine sahiptir ve bu da hızla yayılan salgınlara yol açabilir. Bunun aksine, kromozomlarda bulunan genler diğer bakterilere o kadar kolay aktarılamaz ve kromozomal genleri barındıran izolatların salgınları tipik olarak tek bir bakteri klonunun yayılması yoluyla meydana gelir (69).

A sınıfı karbapenemazlar: A sınıfı karbapenemazlardan *SME* kromozom tarafından, *KPC*, *GES* genleri plazmid üzerinden, *IMI* ise hem plazmid hem de kromozomal olarak aktarılabilmektedir (70). En yaygın olanı *KPC* olup tüm dünyaya yayılmıştır ve *Acinetobacter*, *Pseudomonas* ve *Enterobacteriaceae* izolatlarında sıklıkla izole edilebilmektedir (71).

B sınıfı karbapenemazlar: MBL olarak bilinen Ambler B sınıfı karbapenemazları B1, B2 ve B3 olarak 3 alt gruba ayrılır, B1 en geniş alt grubu oluşturur. Verona integron tarafından kodlanan MBL (VIM), İmipenemaz (IMP) ve Yeni Delhi MBL (NDM) B1 alt sınıfına aittir. Bu MBL'ler genellikle, bakteriler arasında direnç genlerinin transferini kolaylaştıran mobil plazmidler veya transpozonlarla bağlantılı olan farklı integron yapıları içerisinde bulunur (72).

D sınıfı karbapenemazlar: OXA tipi β -laktamazlar olarak da bilinen D sınıfı karbapenemazlar *A. baumannii* ve *K. pneumoniae* suşlarında keşfedilen bir grup enzimdir (73). Bu karbapenemazlardan özellikle OXA-48 ve varyantları tedaviyi zorlaştırdıkları için klinik öneme sahiptirler (74). Tedavilerinde avibactam dışında kullanılan beta laktamaz inhibitörlerine dirençlidirler (75).

C sınıfı karbapenemazlar: C sınıfı enzimler karbapenemaz olarak kabul edilmeyip, bununla birlikte düşük bir karbapenem hidroliz potansiyeline sahip oldukları ve aşırı ekspresyonlarının dış membran geçirgenliğinin azalması veya akış pompasının aşırı ekspresyonu ile birlikte karbapenem direncine katkıda bulunabileceği gösterilmiştir (76).

***Klebsiella Pneumoniae* Karbapenemaz (KPC)**

İlk olarak 1990'lı yılların sonlarına doğru ilk olarak Amerika Birleşik Devletleri doğu kıyılarında fark edilen *K. pneumonia* KPC kısa zamanda tüm dünyada en yaygın görülen karbapenemaz haline gelmiştir (22, 76, 77). KPC karbapenemazlar TEM-1 SHV-1, CTX-M-1 gibi diğer Ambler A sınıfı serin karbapenemazlarla önemli ölçüde benzeşmektedir (78-81). KPC karbapenemazları geniş ve sık bir aktif bölgeye sahiptir ve bu enzimlerin sefalosporinler, monobaktamlar ve karbapenemler dahil olmak üzere çok çeşitli beta-laktam moleküllerinin hidrolizine olanak tanır (79). KPC tipi beta-laktamazlar EDTA, klavunat ve tazobaktam inhibisyonuna dirençli olup avibactam, vaborbactam ve relebaktam inhibisyonuna duyarlıdır (82, 83). KPC, kromozomal genler yerine mobil elementler tarafından kodlanır (84). KPC beta laktamaz genleri genellikle Tn 4401 transpozonu ile Tn3-Tn4401 kimerası üzerinde yer alır; ilki, *K. pneumoniae*'daki en önemli transpozon olarak kabul edilir (85). Çok lokuslu dizi tiplmesiyle klonal grup 258 (ST258) olarak sınıflandırılan *K. pneumoniae* izolatlarından kaynaklanan plazmidler KPC'nin küresel yayılmasından büyük ölçüde sorumludur (86).

OXA Karbapenemazlar

Ambler D sınıfında yer alan OXA beta-laktamazlardan OXA-23,40,48,162,181,232 karbapenemaz aktivitesine sahiptir (87). OXA karbapenemazları penisilinlere ve karbapenemlere karşı hidrolitik aktiviteye sahiptirler. Avibaktam hariç beta laktamaz inhibitörleriyle inhibisyona dirençlidirler (88-90). OXA-48 eksprese eden izolatlar, sefalosporinlere duyarlı olabilir ve karbapenem MİK değerleri yalnızca orta derecede yüksek olabilir (91). Karbapenemlere karşı yüksek düzeyde direnç genellikle bu izolatlardaki ikincil nonenzimatik direnç mekanizmasından kaynaklanmaktadır (92). Epidemiyolojisine değinilecek olursa OXA-48 beta-laktamazların yayılmasından sorumlu mobil genetik eleman olan *Tn1999* transpozonu, *IncL* konjugatif plazmidleri ile enterobacteriaceae ailesindeki genetik yayılımı sağlamaktadır. (75, 93). OXA-48 karbapenemazlar ilk olarak 2001 yılında Türkiye'deki *K. pneumoniae*'nin klinik izolatları arasında tanımlanmış ve daha sonra Avrupa ve Akdeniz bölgesine yayılmıştır (72).

OXA-48 karbapenemaz üreten Enterobacteriaceae şu anda Türkiye'de, diğer Orta Doğu ülkelerinde (Lübnan, Ürdün, Umman, İran ve Suudi Arabistan) ve Kuzey Afrika'da (Fas, Cezayir, Tunus ve Mısır) endemiktir ve önemli nozokomiyal salgın nedenidir (87). Amerika Birleşik Devletleri'nde OXA-48 üretim sıklığı düşük olup, ara sıra lokalize izolatlar rapor edilmektedir (94).

VIM (Verona İntegron Kodlu MBL)

VİM-1 ve VİM-2 MBL'leri ilk defa 1996 ve 1997 yıllarında Fransa ve İtalya'da tanımlanmış olup ikisi de integron içinde bulunan VİM içeren *Pseudomonas aeruginosa* suşlarında tanımlanmıştır (95, 96). Bugün VİM çoğunlukla *Klebsiella* ve *Enterobacter cloacae* izolatlarında bulunmaktadır (97). IMP'den daha sık olmak üzere en az tanımlanan karbapenemazlardandır (98-100). VİM-2 penisilinleri, çoğu sefalosporinleri ve karbapenemleri içeren, aztreonamı içermeyen geniş bir substrat hidroliz yelpazesine sahiptir (95). Epidemiyolojik olarak VİM karbapenemazlar 2006 yılında hızla Güney Avrupa'ya yayılmış, İtalya ve Yunanistan'da *aeruginosa*'ya bağlı salgınlar meydana getirmiş, ardından *K. pneumoniae* 'ya bağlı salgınlar meydana gelmiştir (101-103). Ardından KPC kodlayan *K. pneumoniae*'nin yaygınlığının artmasıyla KPC baskın karbapenemaz konumuna gelmiştir (104, 105). *IncN* plazmidleri VİM'in yayılmasında önemli role sahiptir (106). Son yıllarda KPC üreten

K. pneumoniae tedavisinde kolistine kıyasla daha etkin olması nedeniyle artan seftazidim-avibactam kullanılması VIM üreten *K. pneumoniae* prevalansında artışa neden olmuştur (107).

NDM (Yeni Delhi Metallo-Beta-Laktamaz)

NDM ilk olarak 2009 yılında İsveç'te daha önce Hindistan'da iki hastane başvurusu olan bir hastanın idrar kültüründen izole edilen *K. pneumoniae* suşundan izole edilmiştir (27). NDM Enterobacteriaceae 'da yaygın görülen diğer MBL'lerle çok az dizi homolojisi göstermekte olup en çok benzeştiği MBL, VIM-1'dir (108). Esas olarak IncX3 plazmidleri tarafından kodlanan NDM-1 ve NDM-5, Enterobakterlerde en sık tespit edilen varyantlardır (109). Hindistan'da klinik izolatların retrospektif olarak incelendiği bir çalışmada NDM izolatları ilk defa 2006'da tanımlanmıştır (110). 2012-2014 yılları arasında 40 ülkeden toplanan izolatlarla yapılan bir çalışmada MBL'ler arasında NDM sıklığı %44,2 olarak tespit edilmiştir (97). NDM'nin Hindistan alt kıtasındaki yaygın varlığına ek olarak, Balkan ülkeleri, Kuzey Afrika ve Arap Yarımadası için endemik olduğu görülmektedir ve bu ülkeler enzim için ikincil bir rezervuar görevi görebilir (108). NDM-1 penisilinleri sefalosporinleri ve karbapenemleri güçlü bir şekilde hidrolize etmekte, diğer MBL'ler gibi aztreonama ve EDTA ile inhibisyona duyarlıdır (111).

IMP (İmipenemaz)

İlk defa 1990 yılında Japon bilim adamları tarafından Japonya'da ilk defa *aeruginosa* izolatında ortaya çıkan konjugatif bir plazmid üzerinde, daha sonra *S. marcescens* ve diğer enterobakterilerde de tanımlanmıştır (21, 71, 112). IMP enzimleri penisilinler ve sefalosporinlerin yanı sıra karbapenemlere karşı da direnç kazandırır, ancak diğer MBL'lerde olduğu gibi aztreonamı hidrolize etmezler. Birçok izolatta karbapenem direnci düşük düzeyde gözlemlenir; IMP üreten enterobakterilerin %20'si imipeneme duyarlıdır (113). En az sıklıkta görülen MBL sınıfıdır. IMP genleri, genellikle IncL/M ve IncA/C plazmitleri tarafından taşınan sınıf 1 integronlar içindeki kasetlerde yer almaktadır (114, 115).

1.3.1.2. Dış Membran Proteinlerinin Mutasyonu veya Kaybı

OMP, besinlerin ve antibiyotiklerin bakteriye girebildiği, bakteriyel dış membran üzerinde transmembran β -varil formunda spesifik olmayan bir kanaldır.

OMP kaybolduğunda veya down regüle edildiğinde büyüklüğü, sayısı veya elektrostatik özellikleri değişecek, dolayısıyla karbapenemler OMP yoluyla hücreye giremeyerek antibiyotik direncine yol açacaktır (116). OMP'ler arasında OmpF, OmpC, LamB ve Pho yer alır; bunların arasında OmpF ve OmpC, *E. coli*'nin karakteristik OMP'leridir (117). *K. pneumoniae*'nin temsili OMP'leri sırasıyla OmpF ve OmpC gruplarına ait olan OmpK35 ve OmpK36'dır. OmpK35/36 genlerindeki nokta mutasyonları, delesyonları veya eklemeleri, bunların ekspresyonunu veya fonksiyonunu değiştirebilir ve dolayısıyla antibiyotik duyarlılığını azaltabilir (118). Azalan OMP ekspresyonu veya OMP eksikliği olan suşlardaki direnç, karbapenemaz veya diğer beta-laktamaz üretimi gibi diğer direnç mekanizmalarıyla birlikte mevcut olabilir (119).

1.3.1.3. Efflux Sistemi

Efflux pompası yoluyla karbapenemlerin bakterilerden dışarı akışı enterobakterilerdeki ana direnç mekanizmalarından biridir. Direnç-Nodülasyon-Bölünme (RND) akış pompaları ailesi, akış pompalarının ana türüdür. CRE arasında AcrAB-TolC akış pompası en yaygın olanıdır. AcrAB-TolC, AcrA, AcrB ve TolC'den oluşan bir akış pompası sistemidir. AcrA periplazmik füzyon proteinini kodlar, AcrB endozomal RND pompasını kodlar ve TolC dış membran kanal proteinini kodlar. AcrB, antibiyotikleri yakaladıktan sonra konformasyonunu değiştirir ve periplazmik füzyon proteini AcrA'nın yardımıyla antibiyotikleri dış membran kanalı proteini TolC yoluyla dışarı akıtır.

Efflux pompalarının ilaç direnci etkisi, pompa inhibitörleriyle gösterilebilir. Fenilalanin arginin beta-naftilamid (PAbN) gibi doğrudan inhibitör, doğrudan fonksiyonel efflux pompasına bağlandığında, efflux pompasının antibiyotikleri dışarı pompalama yeteneğini azaltabilir (117).

Kuersetin, efflux pompasının merkezi boşluğuna ve aynı zamanda periplazmik ilaç bağlama bölgelerine de bağlanan PAbN 'ye benzer bir efflux pompası inhibitörüdür. (120). Dolaylı inhibitör karbonil siyanür m-klorofenil hidrazin (CCCP), bir proton taşıyıcı görevi görür ve proton dinamiklerini bozup ATP üretimini azaltarak pompa aktivitesini etkiler (117).

1.3.1.4 Penisilin Bağlayıcı Protein (PBP) Değişimi

Penisilin Bağlayıcı Proteinler (PBP'ler), bakteriyel hücre duvarı peptidoglikanlarının sentezi için gerekli proteinlerdir. Karbapenem, stabil asillenmiş yapılar oluşturmak ve hücre duvarı sentezini inhibe etmek için PBP'lere kovalent olarak bağlanarak antibakteriyel etkiler gösterir (121). Yapısal değişiklikler, PBP ekspresyonunun artması, antibiyotiklere affinitenin azalması ve yeni PBP'lerin oluşması ilaç direncinin önemli nedenleridir (122). PBP mutasyonlarının MİK değerlerinin yükselmesine yol açmasına rağmen, PBP mutasyonunun tek başına klinik karbapenem direnci ile anlamlı bir korelasyonunun olmadığı, PBP mutasyonunun porin üretiminin azalması veya karbapenemaz üretiminin artmasıyla birlikte klinik ilaç direncine yol açabileceği öne sürülmüştür (123).

1.3.1.5. Değiştirilmiş Biyofilm Bileşenleri

Biyofilm bakterilerin kendilerini korumanın ve zorlu ortamlara karşı savaşmasının bir yoludur; biyofilm bileşenleri arasında lipopolisakkarit, flagella ve tip I ve III fimbria vb. yer alır (124). Modüle edici biyofilm elemanları, biyofilm üretimini düzenleyebilir ve bakterilerin ilaç stresinden kurtularak ilaca direnç göstermesine olanak tanıyabilir (125).

1.4. Karbapenemler

Karbapenemler, beta-laktam grubunda bulunan ve uzun süredir ciddi gram negatif mikroorganizmaların neden olduğu dirençli enfeksiyonların tedavisinde güvenle kullanılan potent antibiyotiklerdir (126). Karbapenemler ilk olarak 1970'lerin ortalarında tienamisininden türetilmiş olup, 1- pozisyonunda kükürt yerine karbonun mevcut olduğu yeni bir beş üyeli halkaya kaynaşmış tipik dört üyeli beta-laktam yapısına sahip, güçlü bir geniş spektrumlu antibiyotik olarak tanımlanmıştır (127). Bakteri duvar sentezini transpeptidasyon aşamasında inhibe ederek hücre lizisine neden oldukları için bakterisidal aktiviteye sahiptirler. Gram negatif bakteri hücre zarına sınırlı difüzyonları olan karbapenemlerin periplazmik aralığa geçişinde OMP'leri önemli rol üstlenirler. Periplazmik aralığa geçtikten sonra PBP'leri kalıcı olarak asetilleştirerek aktivitelerini bozarlar (128). Karbapenemler genel olarak gram negatif bakterilerdeki PBP2'ye güçlü bir şekilde bağlanır, ancak aynı zamanda PBP1a,

1b ve 3'e de bağlanabilir, böylece direncin ortaya çıkmasını azaltmaya hizmet edebilecek tamamlayıcı öldürme mekanizmaları sağlayabilir (129).

Karbapenemler gram pozitif gram negatif ve anaerobik etki spektrumuna sahip beta laktam grubu antibiyotiklerdir. Grubun ilk üyesi tiyenamisin 2-pozisyonuna N-formimidoil grubunun eklenmesiyle stabilize edilmiş ve imipenem elde edilmiştir. İmipenem, gram-pozitif, gram-negatif ve anaerobik bakterilerin neden olduğu enfeksiyonlarda, özellikle karbapenemaz üretmeyen enterik bakteriler arasında, bu organizmalara karşı sürekli yüksek aktivitesi nedeniyle yaygın olarak kullanılmaktadır (130). İmipenemin, ilacın inaktivasyonuna neden olan insan renal dehidropeptidaz (DHP) tarafından hidrolize karşı kararsız olması nedeniyle aynı zamanda nefroprotektan olarak da görev yapan bir DHP inhibitörü olan silastatin ile kombinasyon halinde kullanılır (131).

Meropenem, ertapenem ve doripenem, etki spektrumları olarak benzer organizmalar hedeflenerek geliştirilmiştir (132). Kimyasal olarak daha stabil olduklarından İmipeneme göre daha uzun raf ömrüne ve infüzyon süresi potansiyeline sahiptirler (133). İmipenem gibi bunlar da karbapenemazlar dışındaki çoğu beta-laktamaza karşı oldukça stabildir (134).

Karbapenemler, Gram-negatif bakterilere karşı geniş spektrumlu aktivite gösterirken, Gram-pozitif enfeksiyonlara karşı aktiviteleri biraz daha sınırlıdır. *aeruginosa*'ya karşı benzer etki gücüne sahip iken, İmipenem Gram-pozitif bakterilere karşı daha aktif (135), meropenem Gram-negatiflere karşı daha yüksek aktiviteye sahiptir (136). Gram negatif etkinliği ve kimyasal stabilitesi diğer karbapenemlerden daha güçlü olan Doripenem; imipenem ve meropenemden daha düşük MİK'lerle *aeruginosa*'ya karşı özellikle aktiftir (137). Meropenem, meninkslere nüfuz etme kabiliyeti nedeniyle menenjit tedavisinde daha çok tercih edilen karbapenemdir. Ertapenem, imipenem ve meropenem ile karşılaştırıldığında daha uzun yarı ömre ve biraz daha dar bir kullanım spektrumuna sahiptir ve *aeruginosa*'ya karşı etkisizdir (138). *Acinetobacter baumannii* tedavisinde en etkili karbapenem doripenemdir.(139). Ülkemizde kullanımı olmayan razupenem ise antiMRSA etkinliğe sahip karbapenemdir (140)

Etki spektrumu meropenem ve doripeneme benzeyen biapenem ve antipseudomonal etkinliği olmayan tedipenem Japonya'da kullanılmaktadır (141,

142). Doripenem, meropenem ve imipenemle kıyaslandığında beta laktamazların hidrolitik aktivitesine karşı daha stabildir (138). Meropenem, klavunat ile kombinasyon halinde çoklu ilaca dirençli *Mycobacterium tuberculosis* tedavisinde kullanılabilir (143).

1.5. Karbapenem Direncinin Tespiti

CRE enfeksiyonun kontrolü ve yönetimi önemli oranda hızlı ve güvenilir tespitine bağlıdır. Bununla birlikte, CRE direnç genlerinin heterojen ekspresyonu ve direnç oluşturmadaki mekanizmaların çokluğu CRE'nin tespitini zorlaştırmaktadır. Karbapenem direnci esas olarak bakterilerde MİK düzeyi ve disk difüzyon zon çapı ölçümleriyle belirlenir. Antimikrobiyal duyarlılık kriteri olarak Klinik ve Laboratuvar Standartları Enstitüsü (CLSI) ve Avrupa Antimikrobiyal Duyarlılık Testi Komitesi (EUCAST) tarafından tanımlanan duyarlılık sınır değerleri kullanılır. EUCAST'ın 2024 yılı verilerine göre Enterobacterales için sınır değerleri ertapenem için $MİK \leq 0,5$ mg/L, zon çapı ≥ 23 mm, imipenem ve meropenem için $MİK \leq 2$ mg/L, zon çapı ≥ 22 mm olarak tanımlanmıştır (*morganella* için imipenem MİK değeri $0,001 < \text{mg/L}$, zon çapı > 50 mm) (144). Karbapenem direncinin tespitinde bazı fenotipik ve moleküler yöntemler kullanılmaktadır. CLSI tarafından kullanımı önerilen yöntemler:

- Bir antibiyotığın varlığında bakteri çoğalmasına direnci ölçen testler: bunlar Modifiye Hodge testi (MHT) ve karbapenem inaktivasyon yöntemi (mCIM)'dir.

- Karbapenemaz enzimleri tarafından katalize edilen hidroliz ürününü tespit eden hidroliz yöntemleri: Bunlar Carba-NP ve matris destekli lazer desorpsiyonu-uçuş kütle spektrometrisinin iyonizasyon süresi (MALDI-TOF MS) yöntemleridir (145).

Spesifik antikorların kullanımı yoluyla karbapenemaz enzimlerini tespit eden yanal akışlı immünolojik testler de mevcuttur (146).

Bir karbapenemaz tespit testinin seçimi, yerel karbapenemaz prevalansı, bölgesel moleküler epidemiyoloji, testin tanısal performans özellikleri, oluşabilecek iş yoğunluğu, maliyeti ve testin yorumlama süresi dahil olmak üzere çeşitli faktörlere bağlıdır.

1.6. Fenotipik Yöntemler

1.6.1. Modifiye Hodge Testi (MHT)

MHT muhtemelen karbapenemaz tespiti için en iyi bilinen yaklaşımdır. Bu, klinik bir izolatin, daha önce karbapeneme duyarlı olduğu bilinen bir *E. coli* suşunun inoküle edildiği agar plakası üzerine yerleştirilmiş olan ertapenem veya meropenem emdirilmiş bir diskten uzaktaki bir hatta çizgi halinde ekimini içerir. MHT, karbapenemaz üreten bakterilerin, karbapenem antibiyotiklerinin lokal konsantrasyonunu azaltma yeteneğine dayanır ve karbapeneme duyarlı *E. coli* izolatının, karbapenem diski yakınındaki çizgi çevresinde engellenmeden büyümesini sağlayarak yonca yaprağı görünümü oluşturmaya olanak tanır. Bu test, başta KPC enzimleri olmak üzere çoğu karbapenemaz için kabul edilebilir hassasiyet gösterirken, MBL'ler için düşük hassasiyet gösterir (147, 148). ABD'deki bir çalışmaya göre bu testin KPC için hassasiyeti %93 ila %98 arasında görülmüştür (149). Porin mutasyonlarıyla birlikte ESBL'ler veya AmpC sefalosporinazları üreten izolatlar sıklıkla yanlış pozitif MHT sonuçlarına neden olabilmektedir (149). MHT ucuz ve bileşenlerinin kolay bulunabilmesine rağmen, antibiyotik duyarlık testi sonrasında 24 saatlik ek inkübasyon gerektirmesi nedeniyle yorumlaması zor ve zaman alıcıdır (148). Bu nedenle 2018'de CLSI tarafından karbapenemaz tespiti için önerilen metotlar arasından çıkarılmıştır (150).

1.6.2. Karbapenem İnaktivasyon Yöntemi (CİM)

Bu yöntem karbapenemaz tespiti için ilk defa 2015 yılında kullanılmaya başlanmıştır. Bu yöntemle hazırlanan test suşu içerisine meropenem diski eklenerek 37 C de yaklaşık 2 saat inkübe edilir. Duyarlılığı bilinen bir *E. coli* suşu Mc Farland 0,5'e ayarlanarak Muller-Hinton agara yayıldıktan sonra meropenem diski besiyerinin merkezine yerleştirilerek inkübasyona alınır. Eğer test suşu karbapenemaz üreten bir suş ise diskteki meropenem hidrolize edileceğinden besiyerindeki *E. coli* dirençliymiş gibi inhibisyon zonu oluşmayacaktır. Eğer karbapenememazı yoksa net bir inhibisyon zonu oluşacaktır. Bu yöntem KPC, OXA-48, NDM, VIM ve IMP karbapenemaz üreten *Enterobacteriaceae* suşlarına karşı %99'a ulaşan hassasiyetle doğrulanmıştır (149, 151). Maliyeti düşük olup ve özel bir ekipman veya

beceri gerektirmez (152). Bu nedenlerle CLSI tarafından karbapenemaz tespiti için önerilen doğrulama testlerinden biridir (150).

1.6.2.1. Etilendiamintetraasetik Asit (EDTA) İle Karbapenemaz İnaktivasyon Testi

EDTA metal iyonlarını şelatlama yeteneğinden faydalanarak MBL tespiti için geliştirilen bir yöntemdir. Bu yöntem ile meropenem diskine EDTA eklenerek karbapenemaz üreten şusla inoküle besiyerine EDTA'sız (kontrol) meropenem diskiyle beraber yerleştirilir. Oluşan zon çapı EDTA'sız diske göre daha geniş ise MBLvarlığı söz konusudur (153, 154).

1.6.2.2. Boronik Asit İle Karbapenemaz İnaktivasyon Testi

Boronik asit C sınıfı beta laktamazlar ve A sınıfı karbapenemazlar için iyi bir inhibitördür. Bu özelliği ile KPC tespitinde kullanılmıştır (155). Bu test ile ertapenem veya meropenem diskine 300 veya 400 µg 2-aminofenil boronik asit uygulanır. Tek başına ertapenem veya meropenem diski (kontrol) ile karşılaştırıldığında inhibisyon bölgesindeki ≥ 5 mm'lik bir artış, KPC üretiminin göstergesidir (156).

1.6.3. Karbapenemaz Nordmann-Poirel (Carba NP) Testi

Carba NP testi, karbapenemaz hidroliz ürünlerinin tespiti için oluşturulan biyokimyasal kolorimetrik bir testtir (157). Karbapenemaz üreten şuşların imipenemi H^+ üretecek şekilde hidrolize edebilmesi prensibine dayanmaktadır. H^+ artışı pH'da bir düşüşe ve Carba NP reaktifinde görsel olarak gözle görülür bir değişikliğe neden olur ve fenol kırmızısı göstergesinin kırmızıdan sarıya renk değişimine neden olur (158). Çoğu karbapenemazı tespit etmede yüksek duyarlılığa sahiptir. Ancak OXA-48 ve GES-5 gibi nispeten zayıf karbapenemazların ve ayrıca bazı mukoid şuşların aktivitesinin belirlenmesinde daha düşük performans gösterir (159). Carba NP testi, karbapenemaz üretiminin tespiti için CLSI tarafından onaylanan yöntemlerden biridir (150).

1.6.4. Matriks Destekli Lazer Dezorpsiyon/İyonizasyon Uçuş Zamanı Kütle Spektrometresi (MALDI-TOF MS)

Bu yöntem ile karbapenemaz tespiti iki yolla olmaktadır. İlki karbapenem hidroliz ürünlerinin kütle ölçümüne dayalıdır. Kısaca karbapenem antibiyotikleri bakteri kültürleriyle inkübe edilir, kültürler santrifüj edilir ve süpernatantlar MALDI-TOF MS ile beta-laktam hidrolizi açısından analiz edilir. Bu yöntem ile yaklaşık 4 saat gibi kısa bir sürede sonuç elde edilir. Ancak *OXA-48* türü karbapenemazlar karbapenemleri zayıf hidrolize ettiği için tespiti daha zordur (160-162).

Karbapenemaz tespitinin ikinci yolu ise “plazmidle ilişkili tepe yaklaşımı” olarak bilinen karbapenemaz taşıyan plazmidle ilişkili sentezlenen protein pikinin saptanmasını içerir. Bu yöntemin en büyük dezavantajı ise daha önce tanımlanan plazmidle ilişkili protein pikinin ölçümüyle karbapenemaz geninin tespiti hedeflenir. Daha önceden tanımlanmayan plazmidle ilgili değerlendirme yapamaz (163).

1.6.5. Yanal Akış İmmünoanalizleri (LFIA)

LFIA’lar karbapenemaz tespiti için tasarlanmış antikor bazlı testlerdir. Geliştirilen LFIA’lar epidemiyolojik açıdan önemli sadece birkaç karbapenemazın tanınmasına olanak sağlar. Uygulaması kolay maliyeti ucuzdur. Uygulama için yetiştirilmiş personel gereksinimi yoktur. Son zamanlarda NG-Test Carba 5 isimli ticari kiti üretilmiş olup *KPC*, *NDM*, *OXA-48*, *IPM* ve *VIM* karbapenemazların tespitine olanak sağlamaktadır. Duyarlılığı yüksek olup karbapenemaz olmayan *OXA* sınıfı beta-laktamazların bazılarını *OXA-48* gibi yanlış sınıflandırabilmektedir (164).

1.7. Genotipik Metodlar

Karbapenemaz genlerinin kesin tanımlanmasında altın standart yöntemler moleküler tekniklerdir (158). Moleküler analizler arasında PCR, mikrodiziler ve tam genom dizilimi (WGS) yer alır. Bu yöntemler, karbapenem direncini oluşturan kesin mekanizmayı belirleme avantajına sahiptir ve bu nedenle özellikle salgın taramaları sırasında ve epidemiyolojik çalışmalara yardımcı olabilir. Fenotipik yöntemlerden farklı olarak karbapenemaz genlerinin doğrudan idrar, kan veya sürüntü gibi örneklerden taranmasına olanak sağlar. PCR ile karbapenemaz genleri primerler ve probalar yardımıyla hızlıca analiz edilebilir. Belirlenen genlerin araştırılması için çok

spesifiktir ve ayrıca bir gen ailesinin spesifik alt gruplarını tespit edecek şekilde de çalıştırılabilir. PCR temelli tetkiklerin geliştirilmesi ve/veya uygulanması pahalı olabileceğinden, kullanılacak spesifik PCR tetkiki araştırma yapılacak bölgede sık rastlanan direnç genlerine bağlı olacak veya çoklu bir tahlilde aynı anda birden fazla geni hedefleyecektir (165).

Mikrodizi teknolojisi, direnç genleri de dahil olmak üzere DNA hedeflerine hibridize olan bir dizi DNA probunu kullanır. Mikrodiziler, hedef dizilerin PCR amplifikasyonu ile eşleştirilebilir veya bakteriyel izolatlar veya hasta numunelerindeki DNA'yı doğrudan sorgulamak için kullanılabilir. Bir dizinin PCR analizlerine göre avantajı, sorgulama için mevcut hedeflerin sayısıdır; PCR tipik olarak test başına maksimum dört ila beş hedefi barındırabilirken, mikrodiziler platforma bağlı olarak düzinelerce ila yüzlerce hedefi içerebilir (166, 167).

Mevcut en kapsamlı moleküler test, tam genom dizilimidir (WGS). Bu teknoloji, bilinen tüm direnç mekanizmaları için tüm bakteri genomunu sorgulayabilir ve böylece yalnızca karbapenemazları hedeflemek yerine çok sayıda antimikrobiyal sınıf için direnç bilgisi sağlayabilir ve porin mutasyonları gibi direnç katkısında bulunan diğer faktörleri belirleyebilir. WGS aynı zamanda direnç genlerini taşıyan plazmidin türü, bakterinin evrimsel kökeni ve izolatların akrabalığı hakkında da bilgi sağlar; bunların tümü izolatın kaynağının aydınlatılmasına veya salgın araştırmalarının bilgilendirilmesine yardımcı olabilir (168).

PFGE (Pulsed Field Gel Elektroforezi) mikroorganizmanın genomik yapısını epidemiyolojik olarak değerlendirmektedir. Bakteri genomunun kesim enzimleri ile bölünerek elde edilen bantların karşılaştırılmaları esasına dayanan PFGE, salgınların epidemiyolojik araştırmalarında altın standart yöntem olarak kullanılmaktadır (169).

1.8. CRE Tedavisi İçin Önerilen Beta Laktamlar Ve Beta Laktam-Beta Laktamaz Kombinasyonları

1.8.1. Seftazidim/Avibactam

Avibactam 2011 yılında geliştirilen diazabisikloktan yapısında olan beta laktamaz inhibitörüdür. Seftazidimi ESBL enzimleri tarafından hidrolize karşı başarılı bir şekilde koruyabilmektedir (170). Seftazidim-avibactam, 2015 yılında ABD Gıda ve İlaç Dairesi (FDA) ve Avrupa İlaç Ajansı (EMA) tarafından komplike ürünler

enfeksiyonlar ve komplike intraabdominal enfeksiyonlar için metronidazol ile kombinasyon halinde kullanımı onaylanmıştır. Serin beta-laktamazlara kovalent ve reversibl olarak bağlanır ve sınıf A (*KPC*) ve sınıf D (*OXA-48* benzeri) karbapenemazlara karşı aktiviteye sahiptir (171), ancak MBL'lere (*NDM*, *VIM*, *IMP*) karşı aktivitesi yoktur (172, 173).

1.8.2. İmipenem/Relebactam

İmipenemle kombine edilen yeni bir beta laktamaz olan Relebactam, yapısal olarak avibactama benzeyen ancak yapısına bir piperidin halkası eklenmiş bir diazabisiklooktan beta laktamaz inhibitörüdür (174). İmipenem relebactam A sınıfı karbapenemazlara ve C sınıfı beta-laktamazlara karşı aktif olup MBL'lere ve sınıf D (*OXA-48* benzeri) karbapenemazlara karşı aktivitesi bulunmamaktadır (175). FDA tarafından 2019'da komplike üriner sistem enfeksiyonları ve komplike intraabdominal enfeksiyonları için kullanım onayı verilmiştir.

1.8.3. Meropenem/Vaborbactam

Siklik boronik asit farmakolojik formunu içeren yeni bir beta-laktamaz inhibitörü olan vaborbactamın meropeneme eklenmesiyle oluşur (176). 2017 yılında FDA 2018 yılında ise EMA tarafından komplike üriner sistem enfeksiyonları, komplike intraabdominal enfeksiyonlar ve ventilatör ilişkili pnömonide kullanım onayı almıştır. A sınıfı karbapenemazlara karşı etkin olup MBL'lere ve D sınıfı karbapenemazlara (*OXA-48* benzeri) karşı aktivitesi bulunmamaktadır (177).

1.8.4. Sefiderokol

Sefiderokol, bir sefalosporin parçası ve katekol tipi bir siderofordan oluşan, demire bağlanan ve aktif demir taşıyıcıları kullanarak bakteriyel hücre girişini kolaylaştıran sentetik bir konjugattır. Periplazmik boşluğa girdiğinde demirden ayrışır ve sefalosporin kısmı öncelikle PBP-3'e bağlanarak bakteriyel hücre duvarı sentezini inhibe eder. Sefiderokol 2019 yılında komplike üriner sistem enfeksiyonlarında, 2020 yılında ise nozokomiyal ve ventilatör ilişkili pnömoni endikasyonlarında kullanımı için FDA'dan onay almıştır. Diğer tüm yeni beta laktam ajanlardan farklı olarak sefiderokol serin karbapenemaz ve MBL'lerin tümüne karşı aktiftir (178).

1.8.5. Seftozolan/Tazobactam

Seftolozan tazobactam antipseudomonal bir sefalosporin olan Seftolozan ile yine antipseudomonal aktivitesi olan geniş spektrumlu beta-laktamaz inhibitörü olan tazobactam ile kombinasyonudur. Seftolozan PBP-3 inhibitörü olup, PBP-1B ve PBP-1C'ye de affinitesi yüksektir. Bu nedenle antipseudomonal etkinliği güçlüdür. AmpC beta laktamazlara karşı oldukça stabil yapıya sahip olup porin mutasyonu veya efflux sistemi kaynaklı dirençten de oldukça az etkilenir. Bu nedenle antipseudomonal etkinliği diğer antipseudomonal ajanlardan daha üstündür. Tazobactam kombinasyonu ile A sınıfı serin beta laktamazları ve ESBL'yi güçlü şekilde inhibe eder ancak karbapenemazlara karşı etkinliği yoktur (179). Komplike intraabdominal enfeksiyonlar, komplike üriner sistem enfeksiyonları ve ventilatör ilişkili pnömonide kullanım için onay almıştır (180).

1.9. Tanımlamalar

1.9.1. Ventilatör İlişkili Pnömoni (VIP)

Ventilatör ilişkili pnömoni (VIP) mekanik ventilasyon desteği alan entübe bir hastada entübastonun 48. saatinden sonra gelişen pnömoniyi tanımlar. Yoğun bakım ünitelerinde mortalitenin en sık 2. nedeni olmasının yanında, uzamış hastane ve yoğun bakım yatışı, artan tedavi maliyeti ve sağlık iş gücü kaybı nedenidir. (181). VIP temel olarak 3 mekanizma ile gelişebilir. Bunlardan ilki ve en yaygın olanı üst solunum yollarına kolonize olan bakterilerin trakeal kolonizasyona ardından akciğer parankimine ulaşarak pnömoniyi neden olmasıdır. Diğer bir mekanizma entübe hastada öksürük refleksinin olmayışı ve siliyer disfonksiyon sonucu oluşan mekanik bariyer elemanı olan mukus salgısının uzaklaştırılamamasıdır. Stres ülser profilaksisi nedeniyle PPI alan hastada gastrik kolonizasyonun aspirasyonu da 3. mekanizma olarak sayılabilir (182). Ateşi ve lökositozu olan hastada, kontrol akciğer X-ray görüntülemesinde yeni bir infiltrasyon oluşması, hastanın solunum durumunda değişim (artmış ventilasyon desteği veya oksijen gereksinimi), hastanın aspirat sekresyon pürülansında artış ve balgam kültür pozitifliği ile VIP tanısı konur (183).

1.9.2. Komplike Üriner Sistem Enfeksiyonu

Ateş, üşüme, titreme bulantı kusma halsizlik yan ağrısı ve kostovertebral aç hassasiyeti olan, idrarda piyürisi olan hastada bu semptomlardan bir veya birkaçının varlığında komplike üriner sistem enfeksiyonu varlığı düşünülmelidir. Komplike üriner sistem enfeksiyonu; komplike sistit, piyelonefrit, kateter ilişkili üriner enfeksiyon, rekürren üriner enfeksiyon, erkekte üriner enfeksiyon, diyabeti veya immünsüpresif hastalığı olan hastalardaki üriner enfeksiyonlar komplike üriner sistem enfeksiyonu olarak sınıflandırılır (184-186). Komplike üriner enfeksiyonların laboratuvar tanısında tam kan sayımında lökositoz ve sola kayma, CRP ve prokalsitonin gibi akut faz parametrelerinde yükseklik, idrarda lökosit pozitifliği, lökosit esteraz ve/veya nitrit pozitifliği ve idrar kültüründe $\geq 10^3$ CFU/ml bakteri üremesi gözlenir.

1.9.3. Kan Dolaşımı Enfeksiyonu

Kan dolaşımı enfeksiyonu herhangi bir vücut bölgesindeki enfeksiyona ikincil olarak veya travma, geçirilmiş cerrahi, yanık, malignite, intravasküler kateterizasyon veya herhangi bir immün süpresif duruma sekonder olarak kan dolaşımına mikroorganizmaların karışması durumudur (187). Nozokomiyal kan dolaşım enfeksiyonu ise bir hastanın hastane yatışının 48. saatinden sonra gelişen ya da santral kateter takıldıktan 48 saat sonra gelişen kan dolaşımı enfeksiyonudur (188). Kateter ilişkili kan dolaşımı enfeksiyonu kateteri olan hastalardan kateter dışında başka odak saptanmadan periferik kan kültüründen ve kateterden alınan semikantitatif (>15 KOB/kateter segmenti) veya kantitatif kültürden ($>10^3$ KOB/kateter segmenti) aynı mikroorganizmanın üretilmesi (aynı türden ve aynı antibiyotik duyarlılık paternine sahip), eş zamanlı kantitatif kan kültürlerinde santral venöz kateter/periferik kan kültüründeki üreme oranının $>3/1$ olması, kateterden alınan kan kültüründe, eş zamanlı olarak alınan periferik kan kültürüne oranla en az 2 saat erken üreme saptanması kateter ilişkili kan dolaşımı enfeksiyonu olarak tanımlanır (189).

2. GEREÇ VE YÖNTEM

2.1. Tasarım

Hastanemiz Dahili ve Anestezi yoğun bakımlarında 01.09.2023-01.03.2023 tarihleri arasında takip edilen, yatışının 72. saatinden sonra kan dolaşım enfeksiyonu, ventilatörle ilişkili pnömoni ve piyelonefrit tanısı alan hastalardan alınan kan, endotrakeal aspirat ve idrar kültürleri çalışmaya dahil edildi. Kültürlerde üretilen izolatlardan yarı otomatize sistem ile karbapenem duyarlılıkları araştırıldı. Karbapeneme dirençli izolatlardan CİM ve EDTA'lı CİM (eCİM) metoduyla beta laktamaz varlığı araştırıldı. CİM ve eCİM negatif olanlar çalışmadan dışlanıp kalan numunelerden *blaKPC*, *blaNDM*, *blaVIM*, *blaIMP* ve *blaOXA-48* varlığı PCR metoduyla araştırıldı. Suşlar arasındaki klonal ilişki DNA Agaroz Jel Elektroforezi yöntemiyle araştırıldı. CRE izolatlarından İmipenem-relebactam, Meropenem-vaborbactam, Seftazidim-avibactam, Sefiderocol ve Seftolozan-tazobactam antibiyotik duyarlılıkları araştırıldı. Bu Tez Çalışması Fırat Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri (Fübab) Tarafından TF.24.09 Proje Numarasıyla Desteklenmiştir.

2.2. Verilerin Toplanması Ve Tanımlamalar

Hasta verileri hastaların yatakbaşı vizitleri ve hastane bilgi sisteminden edinilerek oluşturuldu. Hastalar yaş, cinsiyet, sahip oldukları komorbid durumlar, yoğun bakıma yatış tanıları, yoğun bakımda kültür alınımından önceki antibakteriyel kullanımları, kültür esnasında aldıkları antibiyotikler, kültür sonrası tedavileri, kültür alımı esnasındaki tam kan sayımı, C-Reaktif protein düzeyi, prokalsitonin düzeyi, karaciğer ve böbrek fonksiyon testleri, PAAC grafipleri ile değerlendirildi. 18 yaşından büyük olup klinik ve laboratuvar testleriyle doğrulanan pnömoni, ventilatör ilişkili pnömoni, kateterle ilişkili kan dolaşımı enfeksiyonu olan Hastalardan örnekler alınırken aşağıdaki tanımlamalar dikkate alınarak etken düşünülen izolatlar çalışmaya dahil edildi.

Kan dolaşımı enfeksiyonu bir veya daha fazla kan kültüründen patojen olduğu bilinen bir mikroorganizmanın izole edilmesi ve bu patojenin başka bir yerdeki enfeksiyon ile ilişkili olmaması (başka bir yerdeki enfeksiyonla ilişkili patojen kan kültüründe ürerse bu “sekonder kan dolaşımı enfeksiyonu” olarak kabul edildi) veya cilt flora üyesi bir mikroorganizmanın farklı zamanlarda alınmış iki veya daha fazla

kan kültüründe üremesi olarak tanımlandı. Kateteri olan hastalardan periferik kan kültüründen ve kateterden alınan semikantitatif (>15 kob/kateter segmenti) veya kantitatif kültürden ($>10^3$ kob/kateter segmenti) aynı mikroorganizmanın üretilmesi (aynı türden ve aynı antibiyotik duyarlılık paternine sahip), eş zamanlı kantitatif kan kültürlerinde santral venöz kateter/periferik kan kültüründeki üreme oranının $>3/1$ olması, kateterden alınan kan kültüründe, eş zamanlı olarak alınan periferik kan kültürüne oranla en az 2 saat erken üreme saptanması kateter ilişkili kan dolaşımı enfeksiyonu olarak tanımlandı.

Ateş, pollaktüri, dizüri veya suprapubik duyarlılık bulgularından biri olan hastada idrar kültüründe $>10^3$ koloni/ml üreme olması ve en çok iki tür bakteri üremesi, tam idrar tetkikinde nitrit veya lökosit esteraz pozitifliği, piyüri (>10 lökosit/ml idrar veya santrifüj edilmemiş idrarın büyümesinde >3 lökosit) piyelonefrit olarak tanımlandı.

Ventilatör ilişkili pnömoni tanısı için, kontrol akciğer X-ray görüntülemesinde yeni bir infiltrasyon oluşması, hastanın solunum durumunda değişim (artmış ventilasyon desteği veya oksijen gereksinimi) hastanın aspirat sekresyon pürülansında artış ve balgam kültür pozitifliği ile belirlendi.

2.3. Mikrobiyolojik Çalışmalar

Alınan kan kültürleri BACTEC otomatize kan kültür sisteminde inkübe edilip pozitif sinyal saptandıktan sonra kanlı agar ve EMB agara ekimleri yapıp 24 saat 37°C 'de etüv de inkübasyona bırakıldı. Endotrakeal aspirat (ETA) örnekleri kültüre alınmadan önce mikroskopik incelemeye alındı. Mikroskopide onluk büyütmeye yapılan incelemede lökosit/epitel oranının 2,5 katı ve üzerinde olan örnekler kanlı agara ve Eozin Metilen-Blue Laktoz Sükroz (EMB) agara ekimleri yapıldıktan sonra 37°C 'de 24 saat inkübasyonda bekletildi. Hastalardan steril alınan idrar örnekleri de kanlı ve EMB agara ekimleri yapılarak inkübasyona alındı.

Etüvde inkübasyon sonrasında üreyen bakterilerin gram boyaması yapılarak gram negatif bakterilerin tiplendirilmesi ve antibiyotik duyarlılıkları konvansiyonel yöntemler ve Phoenix otomatize sistem ile belirlendikten sonra antibiyogramda en az bir karbapenem grubu antibiyotiğe direnç saptanan enterobacteriaceae ailesinden bakteriler stok besiyerine alınarak genotipik inceleme zamanına kadar -80°C 'de

saklandı. Belirlenen zaman aralığında numune toplama işlemi sonlandırıldıktan sonra stok besiyerindeki bakteriler kanlı ağara ekilerek canlandırıldı. Pasajlanarak tekrar saflaştırılan bakteriler önce CİM ile direncin beta-laktamazlara bağlı olarak gerçekleştiği kanıtlandı.

2.3.1. Karbapenem İnaktivasyon Metodu (CIM)

CIM için kanlı agarda üreyen bakterilerden iki öze dolusu alınarak 400 µl steril distile su içeren mikrosantrifüj tüpünde süspanse edilerek vortekslendi. Bu süspansiyonun içine 10µg meropenem diski eklenerek iki saat 35°C’de inkübe edildi. Karbapenemaza duyarlı *E.coli* ATCC 25922 suşu Mc Farland 0,5’e ayarlanarak MHA besiyerine yayıldı. Meropenem diskleri öze yardımıyla mikrosantrifüj tüplerinden çıkarılarak agar yüzeyine yerleştirildi. Plaklar altı saatlik inkübasyondan sonra değerlendirmede güçlük yaşandığı için bir gece 35°C’de inkübe edildi ve sonrasında disk çevresinde üremenin gözlenmesi durumunda, CIM testinin sonucu pozitif olarak belirlendi (test edilen izolatanın karbapenemaz ürettiği ve meropenemin hidrolize olduğunu gösterir). Disk çevresinde inhibisyon zonunun oluşması durumunda ise CIM testi negatif olarak değerlendirildi (test edilen bakterinin karbapenemaz üretmediği ve meropenemi hidrolize etmediğini gösterir).

2.3.2. İzolatların DNA Ekstraksiyonu ve Karbapenemaz Direnç Genlerinin PCR ile Tespiti

Stoktan çıkarılan izolatlar MHA besi yerine ekildi ve 37°C’de 18-24 saat inkübasyona bırakıldıktan sonra, üreyen kolonilerden bir öze dolusu alındı. Sonrasında 500 mikrolitre steril serum fizyolojik içerisine eklenerek karıştırıldı. Vortekslendikten sonra örnekler 1800 mikrolitre AVE buffer eklendi. Örneklerden DNA izolasyonu QIA Symphony otomatize DNA ekstraksiyon cihazında (Qiagen, Almanya) QIAamp DNA midi kit (Qiagen, Almanya) kullanılarak yapıldı. Moleküler yöntemler kullanılarak *OXA-48*, *KPC*, *NDM*, *IMP*, *VIM* direnç genleri PZR yöntemiyle araştırıldı. Çalışmamızda kullandığımız primerler Tablo 1’de verilmiştir.

Tablo 1. Kullanılan primerler

Gene	Sequence	Product (bp)
<i>blaOXA-48</i>	F 5'-GCGTGGTTAAGGATGAACAC-3' R 5'-CATCAAGTTCAACCCAACCG-3'	438
<i>blaNDM</i>	F 5'-GGTTTGGCGATCTGGTTTTC-3' R 5'-CGGAATGGCTCATCACGATC-3'	621
<i>blaKPC</i>	F 5'-CGTCTAGTTCTGCTGTCTTG-3' R 5'-CTTGTTCATCCTTGTTAGGCG-3'	798
<i>blaIMP</i>	F 5'-GGAATAGAGTGGCTTAAYTCTC-3' R 5'-GGTTTAAYAAAACAACCACC-3'	232
<i>blaVIM</i>	F 5'-GATGGTGGTTTGGTCGCATA-3' R 5'-CGAATGCGCAGCACCAG-3'	390

Hazırlanan PZR karışımın içeriği Tablo 2’de belirtilmiştir.

Tablo 2. Karbapenemaz genleri için hazırlanan PZR reaksiyon karışımının içeriği

İçerik	Miktar (µl)
Su	15
Taq DNA polimeraz	0,5
MgCl ₂	1,5
dNTP	0,5
Primer OXA-48 F	0,3
Primer OXA-48 R	0,3
Primer KPC F	0,3
Primer KPC R	0,3
Primer NDM F	0,3
Primer NDM R	0,3
Primer IMP F	0,3
Primer IMP R	0,3
Primer VIM F	0,3
Primer VIM R	0,3
PZR tampon	2,5
Kalıp DNA	2
Toplam	25

2.3.3. PZR amplifikasyonunun yapılması:

DNA amplifikasyonu GeneAmp PCR System 9700 (Applied Biosystems) 151 döngü cihazı ile gerçekleştirildi. Amplifikasyon programı Tablo 3’te verilmiştir.

Tablo 3. Amplifikasyon programı

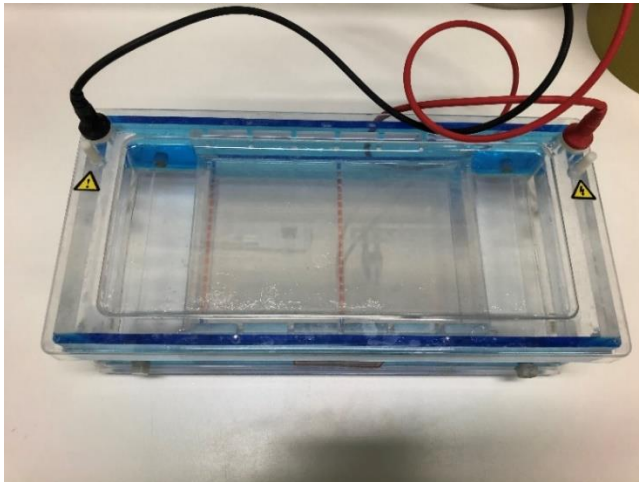
Aşamalar	Karbapenemaz	
	Sıcaklık(°C)	Süre
1. İlk denatürasyon	94	10 dk
2. Denatürasyon	94	30 sn
3. Primer birleşme	52	40 sn
4. Primer uzama	72	50 sn
5. Son uzama	72	5 dk

İlk denatürasyon aşamasından sonra, denaturasyon, primer birleşme ve primer uzama basamakları 36 döngü olacak şekilde programlandı. Sonrasında son uzama işlemiyle reaksiyon tamamlandı.

2.3.4. DNA Agaroz Jel Elektroforezi

Karbapenemaz gen bölgelerini göstermek için yapılan PZR sonrası elde edilen amplikonların incelenmesi için; konsantrasyonu %1,5 olacak şekilde 1X Tris Borik asit EDTA (TBE) tamponu ile jel hazırlandı. Mikrodalga fırında eritilen agaroz, yaklaşık 60°C'ye geldiğinde 20 mikrolitre etidyum bromid eklenerek karıştırıldı. Uygun tarakların yerleştirildiği yatay elektroforez jel kabına döküldü ve soğumaya bırakıldı. Agaroz jel kuyucuklarına 8 µl amplifikasyon ürünü, 2 µl 6X yükleme tamponu ile karıştırılarak uygulandı. Örneklerin doğru değerlendirilebilmesi için büyüklüğü bilinen bir marker da ilk, orta ve son kuyucuklara eklendi. 180 dakika boyunca 80 V elektrik akımı altında moleküler boyutlarına göre DNA bantları ayrıştırıldı. Oluşan bantların fotoğrafları Gel logic 2200 imaging system (1708X1280 pixel, Kodak Company, NY, USA) ile çekilerek değerlendirme yapıldı.

Kullanılan elektroforez cihazı Şekil 3'de gösterilmiştir.



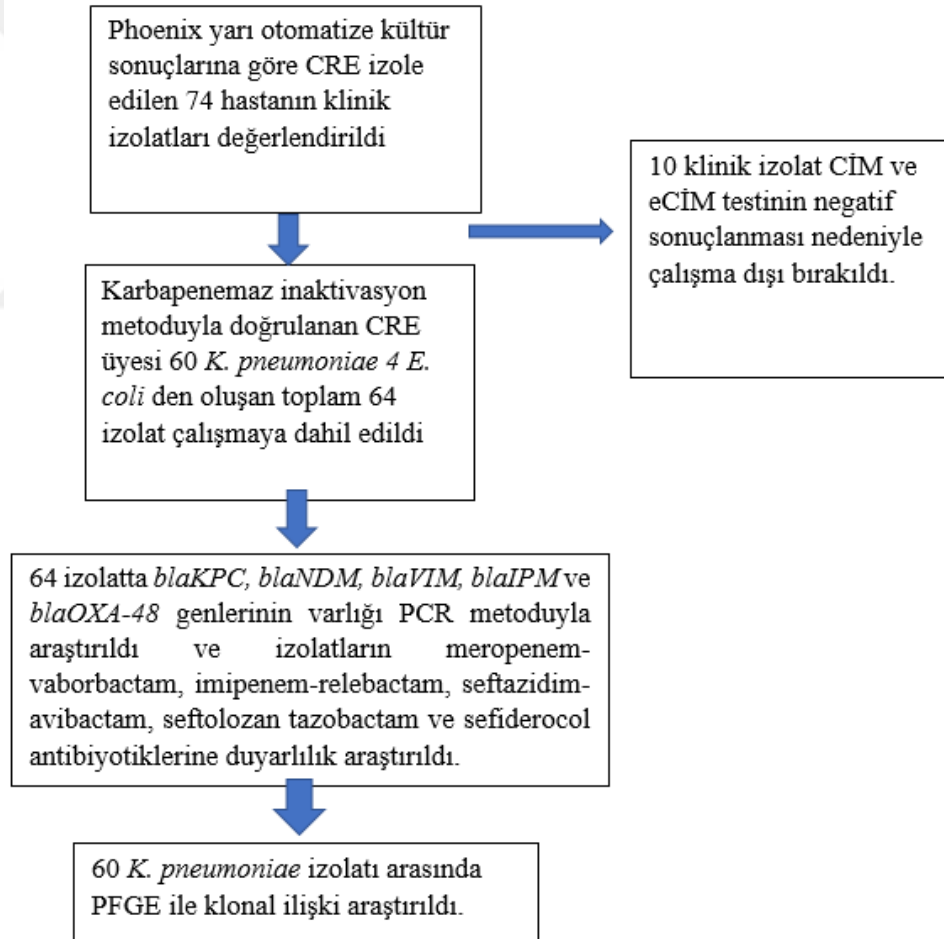
Şekil 3. Elektroforez cihazı

İzolatların seftazidim avibaktam, meropenem vaborbactam, imipenem silastatin relebactam, sefiderokol ve seftolozan tazobactam duyarlılıkları disk difüzyon metoduyla EUCAST rehberindeki zon çapları esas alınarak araştırıldı.

Tablo 4. Antibiyotik duyarlılık zon çapları

Antibiyotik adı	Zon çapı mm (R)<	Zon çapı mm (S) ≥
Seftazidim-avibactam	13	13
Meropenem-vaborbactam	20	20
İmipenem-relebactam	22	22
Seftazolan-tazobactam	22	22
Sefiderokol	23	23

2.4. Çalışmanın Akışı



Şekil 4. Çalışma akışı

Çalışmaya hastanemiz Dahili ve Anesteziyoloji ve Reanimasyon yoğun bakım ünitelerinde yatmakta olan ve klinik olarak enfeksiyon bulguları olan hastalardan alınan kan, idrar ve ETA kültürlerinde üretilen ve CRE olduğu doğrulanan 74 izolat dahil edildi. 10 izolat CIM testinin negatif olması nedeniyle çalışma dışı bırakıldı. Hastaların demografik özellikleri, klinik ve laboratuvar bulguları, kültür alınma anında aldıkları tedavileri, antibiyogram sonucunda verilen tedavilerinin mortalite ile ilişkisi incelendi. İzolatların ürettikleri karbapenemaz genleri PCR metoduyla araştırılıp, izolatlar arasındaki klonal ilişki elektroforez yöntemiyle araştırıldı.



3. BULGULAR

Çalışmamıza dahil edilen 64 hastanın 28'inde 14 günlük tedavi sonunda klinik iyileşme gözlenirken (%43,75), 36 hasta tedavi altındayken öldü (%56,25). Cinsiyete göre dağılım ise 28'i kadın, 36'sı erkek şeklindeydi (%43,75-%56,25).

14 günlük tedavi sonucunda iyileşen hastalarda median (min-max) yaş değeri 69 (19-86), ölen hastalarda ise 70'ti (42-90). Her iki gruptaki hastalar arasında yaş ve cinsiyet dağılımı açısından istatistiksel açıdan anlamlı fark görülmedi ($p=0,291$), ($p=0,899$).

Hastaların 39'u Dahili yoğun bakım ünitesinde yatmaktaydı (%60,9). 14 günlük tedavi sonunda iyileşen hastaların 12'si Dahili yoğun bakım ünitesinde, 16'sı ise Anesteziyoloji ve Reanimasyon yoğun bakım ünitesinde yatmaktaydı (%42,8-%57,2). Tedavi sırasında ölen hastaların 27'si Dahili yoğun bakım ünitesinde yatmaktaydı (%75). Hayatta kalan hastaların yattıkları yoğun bakım ünitesiyle ilişkisi incelendiğinde Anesteziyoloji ve Reanimasyon yoğun bakım ünitesinde yatmaları ile sağ kalım arasındaki ilişki istatistiksel olarak anlamlı bulundu ($p=0,018$).

Yoğun bakım ünitelerine kabul sırasında en sık saptanan tanılar pnömoni (%28) ve kalp yetmezliği (%28) idi. Akut serebrovasküler hastalıklar, travma ve diyabete bağlı komplikasyonlarla ilgili tanılar azalan sıklıklarla ön plana çıkan öteki tanılar arasındaydı.

Daha az sıklıktaki tanılar arasında akut mezenter iskemisi, akut spontan bakteriyel peritonit, gastrointestinal sistem kanaması, akut böbrek yetmezliği, çeşitli hematolojik ve solid organ maligniteleri gözlemlendi (%18,7)

Tablo 5. Hastaların demografik özellikleri, yattıkları yoğun bakım üniteleri.

Özellik		Sağkalan n=28	Exitus n=36	Toplam n=64	P değeri
		n(%) yada med(min-max)	n(%) yada med(min-max)	n(%) yada med(min-max)	
Yaş		69 (19-86)	70 (42-90)	69 (19-90)	0,291
Cinsiyet	Kadın	13 (%46,4)	15 (%41,7)	28 (%43,7)	0,899
Yattığı YBÜ	Dahili	12 (%42,8)	27 (%75)	39 (%60,9)	0,018

Tablo 6. Yoğun bakıma kabuldeki tanıların sağ kalan ve ölen hastalardaki dağılımı.

YBÜ yatış tanıları	Sağkalan n=28 n(%)	Exitus n=36 n(%)	Toplam n=64 n(%)
Pnömoni	8(%28,6)	10(%27,8)	18(%28,1)
SVO-SVH	1(%3,5)	5(%13,9)	6(%9,3)
Kalp yetmezliği	10(%35,7)	8(%22,2)	18 (%28,1)
Travma	5(%17,8)	0	5(%7,8)
Diyabetik komplikasyonlar.	0	4(%11,1)	4(%6,2)
Üriner enfeksiyon	1(%3,8)	0	1(%1,5)
DİĞER	3(%10,7)	9(%25)	12(%18,7)

YBÜ: Yoğun bakım ünitesi, SVO: serebrovasküler olay SVH: serebrovasküler hastalık. DİĞER: GİS (gastrointestinal sistem) kanama, Akut mezenter iskemisi, ABY (akut böbrek yetmezliği), peritonit, malignite.

Hastalarda en sık gözlenen enfeksiyon odağı akciğer olarak tespit edildi (%71,8) ve dağılımında gruplar arasında belirgin farklılık yoktu (%75-%69,4). İntravasküler kateter ilişkili enfeksiyonlar ölen hasta grubunda daha fazla görüldü (14,3-%27,8). Üriner sistem enfeksiyonları en az sıklıkta görüldü (%10,7-%2,8).

Hastalardan sadece klinik olarak anlamlı kabul edilen ETA (n=43), kan (n=16) ve idrar (n=5) kültürleri çalışmaya alındı. Kültürler alınırken sağ kalan hastaların 19’ünde (%67,8), ölen hastaların ise 23’ünde (%63,9) ölçülen 38 °C üstü ateş mevcuttu (p=0,947). Pnömoni veya VIP tanılarıyla ETA kültürü alınan 22 hasta tedavi altındayken öldü ve bu hastalar ölen hastaların %61,1’lik bölümünü oluşturuyordu. Kan dolaşımı enfeksiyonu olan hastaların sadece 4’ünde 14 günlük tedavi sonunda iyileşme gözlemlendi, bu hastaların iyileşen hastalar arasındaki oranı %14,3 olarak bulundu. Üriner sistem enfeksiyonu olan 3 hasta tedavisini tamamlayabilen grupta yer aldı ve bu hastalar da sağ kalan hastaların %10,7’sini oluşturdu.

Her iki grupta da ETA kültürleri alınan hastalarda kültür alınma zamanında çekilen PAAC grafiğinde yeni gelişen infiltrasyon mevcuttu (p>0,99).

Hastalardan kültür alınma sırasındaki tam kan sayımında gruplar arasında anlamlı farka neden olacak bulguya rastlanmadı. Biyokimyasal parametrelerden sadece kreatin değeri ölümle sonuçlanan hasta grubunda anlamlı oranda daha yüksek bulundu (p=0,019).

Tablo 7. Sağ kalan ve ölen hasta grupları arasında enfeksiyon odağı ve alınan kültürlerin dağılımı

		Sağkalan n=28 n(%)	Exitus n=36 n(%)	Toplam n=64 n(%)
Enfeksiyon odağı	Akciğer	21(%75)	25 (%69,4)	46 (%71,8)
	Kateter	4(%14,3)	10(%27,8)	14(%21,9)
	Üriner	3 (%10,7)	1(%2,8)	4(%6,3)
Klinik anlamlı kabul edilen kültür türü	ETA	21 (%75)	22(%61,1)	43(%67,2)
	Kan	4 (%14,3)	12(%33,3)	16(%25)
	İdrar	3(%10,7)	2(%5,6)	5(%7,8)

Tablo 8. Hasta grupları arasında kültür alınma zamanındaki klinik ve laboratuvar bulgularının karşılaştırılması.

	Sağkalan n=28	Exitus n=36	Toplam n=64	P değeri
Kültür alınırken ateş varlığı	19(%67,8)	23(%63,9)	42(%65,6)	0,947
ETA alınırken PAAC infiltrasyon varlığı	19(%67,8)	23(%63,9)	42(65,6)	>0,99
WBCx1000/mm³	12.3 (3.9-29.9)	15.7 (0,1-41)	14.4(0,1-41)	0,116
Nötrofil %	81,3(63-98)	83,5(0-96)	82(0-98)	0,350
Lenfosit %	9,3(1-25)	7,5(0-42)	8(0-42)	0,186
Trombosit x1000/mm³	228(22-666)	170,5(4-553)	187,5(4-666)	0,106
eGFR ml/dk/1,73 m²	51(9-90)	25(12-90)	31(9-90)	0,057
Kreatin mg/dL	1,1(0,3-4,5)	2,1(0,6-4,6)	1,81(0,3-4,6)	0,019
C-Reaktif protein mg/dL	153(18-199)	161(12-199)	157(12-199)	0,431
Prokalsitonin ng/dL	1,48(0,1-56)	2,95(0,26-100)	2,45(0,1-100)	0,206

ETA: endotrakeal aspirat, PAAC: posteroanterior akciğer grafisi, WBC: white blood cell, GFR: glomerüler filtrasyon hızı

Gruplar arasında en sık gözlenen komorbidite hipertansiyon olup hastaların 34'ünde gözlemlendi ve gruplar arasından istatistiksel fark gözlenmedi (%53,1) (p=0,487). İskemik kalp hastalığı veya koroner arter hastalığı ikinci en sık görülen komorbidite (%43,7) (p=0,703) ve diabetes mellitus 3. en sık görülen komorbiditeydi (%37,5) (p>0,99).

Tablo 9. Komorbiditelerin hasta gruplarında insidansı ve mortalite ile ilişkisi

Komorbiditeler	Sağ kalan n=28	Exitus n=36	Toplam n=64	P değeri
Komorbidite sıklığı	26(%92,9)	31 (%86,1)	57 (%89)	*
Diyabetes mellitus	10 (%35,7)	14 (%38,9)	24 (%37,5)	>0,99
Hipertansiyon	13 (%46,4)	21 (%58,3)	34 (%53,1)	0,487
İskemik kalp hastalığı veya koroner arter hastalığı	11 (%39,3)	17 (%47,2)	28 (%43,7)	0,703
Kronik obstrüktif akciğer hastalığı	3 (%10,7)	3 (%8,3)	6 (%9,3)	>0,99
Malignite	5 (%17,8)	4 (%11,1)	9 (%14,1)	0,488
Nörolojik hastalıklar	6 (%21,4)	8 (%22,2)	14 (%21,8)	>0,99
Kronik böbrek yetmezliği	2 (%7,1)	7 (%19,4)	9 (%14,1)	0,278

Komorbiditelerin hastaların yattığı kliniğe göre dağılımı incelendiğinde her iki yoğun bakım arasında komorbidite dağılımı açısından istatistiksel olarak anlamlı fark gözlenmedi.

Tablo 10. Hastaların yattığı klinik ile komorbidite dağılımı arasındaki ilişki.

	Dahili YBÜ n= 39	Anesteziyoloji YBÜ n=25	Toplam n= 64	P değeri
Komorbidite sıklığı	32(%82)	25 (%100)	57(%82)	*
İskemik kalp hastalığı veya koroner arter hastalığı	14(%36)	14(%56)	28(%44)	P=0,186
Hipertansiyon	21(%54)	13(%52)	34(%53)	P>0,99
Diabetes mellitus	11(%28)	13(%52)	24(%37,5)	P=0,098
Nörolojik hastalıklar	9(%23)	5(%20)	14(%25)	P>0,99
Malignite	5(%13)	4(%16)	9(%14)	P=0,73
Kronik böbrek yetmezliği	7(%18)	2(%8)	9(%14)	P=0,463
KOAH	5(%13)	1((%4)	6(%9,4)	*

YBÜ: Yoğun bakım ünitesi, KOAH: Kronik obstrüktif akciğer hastalığı

Yatışlarının ortalama 15. günlerinde klinik bulguları olan hastalardan kan, idrar ve ETA kültürleri alındı (min-max:3-90). Sağ kalan hasta grubunda ortalama 12. günde (min-max=3-90), ölen hastalarda ise ortalama 16. günde (min-max:3-54) kültürler alındı. Alınan kültürlerden CRE olduğu doğrulanan 60 izolatta *K. pneumonia*, 4 izolatta ise *E. coli* bakterileri üredi (%93,8-%6,2). Hastaların 15'i kültür alınma zamanı karbapenem sınıfından bir antibiyotikle tedavi edilmekteydi (%23,4). 22 hasta karbapenem ve glikopeptid antibiyotik kombinasyonu ile tedavi edilmekte (%34,2),

12'si ise karbapenem ve polimiksin grubu antibiyotikleriyle oluşturulan kombinasyon tedavilerini almaktaydı (%18,2). 9 hasta ise kültür alınma anında karbapenem, polimiksin ve glikopeptid tedavi kombinasyonu ile tedavi edilmekteydi (%14,1). Tedavi sonunda sağ kalan hastalar ortalama 14 gün tedavi almış olup tedavi sırasında ölen hastalar ortalama 3 gün etkin tedavi alabildiler (%43,8-%56,2). Kültür alınma anında ve kültür alınımından sonra revize edilen tedavileri, kaç gün tedavi aldıkları Tablo 10'da özetlenmiştir.

Tablo 11. Kültürlerdeki etkenler ve kültür öncesi-sonrası tedavinin hasta gruplarındaki dağılımı

		Sağ kalan n=28	Exitus n=36	Toplam n=64
		n(%)	n(%)	n(%)
Kültür alınma zamanı		12(3-90)	16(3-54)	15(3-90)
Kültürde üreyen etken	<i>K. pneumoniae</i>	26(%92,8)	34(%94,4)	60(%93,8)
	Karbapenem	10(%35,7)	5(%13,9)	15(%23,4)
Kültür alınma zamanı tedavi	Karbapenem/glikopeptid.	11(%39,3)	11(%30,6)	22(%34,3)
	Karbapenem/polimiksin.	4(%14,3)	8(%22,2)	12(%18,7)
	Karbapenem/glikopeptid/ polimiksin	1(%3,6)	8(%22,2)	9(%14,1)
	Diğer	2(%7,1)	4(%11,1)	6(%9,4)
	Seftazidim/avibactam	14(%50)	10(%27,8)	24(%40)
Kültür sonrası tedavi	Seftazidim/avibactam +Aminoglikozit	3(%10,7)	2(%5,6)	5(%7,8)
	Meropenem	2(%7,1)	6(%16,7)	8(%12,5)
	Meropenem+aminoglikozit	5(%17,8)	4(%11,1)	9(%14,1)
	Meropenem+glikopeptid	1(%3,6)	4(%11,1)	5(%7,8)
	Meropenem+polimiksin	0	7(%19,4)	7(%10,9)
	Sefoperazon/sulbaktam+polimiksin	3(%10,7)	3(%8,3)	6(%9,4)

14 günlük tedavinin ardından sağ kalan hastaların tamamının tedavisinde antibiyogramda duyarlı olduğu gösterilen en az bir ajan kullanıldı. Ölen hastalardan 7'si kültür-antibiyogram sonuçlanmadan öldükleri için etkin sayılabilecek bir ajanla tedavi revizyonu yapılamadı (%19,44), kalan hastaların tedavileri ise kültür-antibiyogramın sonuçlandığı 48. saatten sonra etkin ajanlarla revize edildi (%80,56). Kültür öncesi dönemde hastaların %70'inde karbapenem, %62,5'inde glikopeptit, %62,5'inde sefalosporin, %34,4'ünde polimiksin, %20,3'ünde ise kinolon kullanım öyküsü mevcuttu.

Tablo 12. Tedavi süreleri ve tedavi öncesi antibiyotik kullanımı

	Sağkalan n=28	Exitus n=36	Toplam n=64
	n(%) yada med (min-max)	n(%) yada med(min-max)	n(%) yada med (min-max)
İlk 3 günde etkin sayılabilecek tedavi başlanan hasta sayısı	28 (%100)	29(%80,56)	57(%89,06)
Tedavi süresi	14(14-14)	3(1-10)	8(1-14)
Kültür öncesi karbapenem kullanımı var mı?	20 (%71,4)	25 (%69,4)	45 (%70)
Kültür öncesi glikopeptit kullanımı var mı?	19 (%67,8)	21 (%58,3)	40 (%62,5)
Kültür öncesi polimiksin kullanımı var mı?	11 (%39,3)	11 (%30,6)	22 (%34,4)
Kültür öncesi sefalosprin kullanımı var mı?	19 (%67,8)	21 (%58,3)	40 (%62,5)
Kültür öncesi aminoglikozit kullanımı var mı?	9 (%32,1)	3 (%8,3)	12 (%18,7)
Kültür öncesi florokinolon kullanımı var mı?	5 (%17,9)	8 (%22,2)	13 (%20,3)

Kültürde izole edilen etkenlerin antibiyotik duyarlılıkları incelendiğinde trimetoprim/sülfametoksazol 64 hastadan sadece 10'unda duyarlı bulundu (%15,7) (sağkalan=2, ölüm=8). İki grup karşılaştırıldığında aralarında istatistiksel olarak anlamlı fark görülmedi ($p=0,165$). Seftriakson, meropenem ve ertapeneme her iki grupta da duyarlı izolat yoktu. İmipenem, piperasilin/tazobaktam, siprofloksasin ve levofloksasine sadece tek izolatta duyarlılık bulunmaktaydı. Aminoglikozitlerin duyarlılık sonuçları incelendiğinde 5 izolat dirençli görüldü (sağkalan=2, ölüm=3).

Tablo 13. Hasta gruplarında antibakteriyel duyarlılık sonuçları

Antibiyotikler	Sağkalan n=28	Exitus n=36	Toplam n=64
Seftriakson direnci	28(%100)	36 (%100)	64(%100)
Trimetoprim-sülfametoksazol direnci	26 (%92)	28 (%77,8)	54 (%84,3)
Meropenem direnci	28(%100)	36 (%100)	64(%100)
İmipenem direnci	28 (%100)	35 (%97,2)	63(%98,4)
Ertapenem direnci	28(%100)	36 (%100)	64(%100)
Piperasilin tazobaktam direnci	27(%96,4)	36(%100)	63(%98,4)
Aminoglikozit direnci	2 (%7,1)	3 (%8,3)	5 (%7,8)
Siprofloksasin direnci	27(%96,4)	36(%100)	63(%98,4)
Levofloksasin direnci	28 (%100)	35 (%97,2)	63(%98,4)

Seftazidim/avibactam, meropenem/vaborbactam, imipenem/relebactam, seftolozan/ tazobactam ve sefiderokol için disk difüzyon metoduyla yapılan antibiyotik duyarlılık test sonuçlarına göre; seftazidim/avibactam için 64 izolatın 57'si duyarlı bulundu (%89) (%85,7-%91,6). İmipenem relebactam 59 hastada duyarlı bulundu (%92,1) (%89,2-%94,4). Meropenem vaborbactam duyarlılığı ise 52 izolatta gözlemlendi (%81,2) (%82,1-80,5). Seftolozan tazobactam duyarlı sadece 6 izolat gözlemlendi (%9,3). Sefiderokol duyarlılığı 62 izolatta saptandı (%93,7) (92,8-94,4).

Tablo 14. Hasta gruplarında yeni antibiyotiklerin duyarlılık oranları

Antibiyotikler	Sağkalan n=28 n(%)	Exitus n=36 n(%)	Toplam n=64 n(%)
Seftazidim-avibactam duyarlılığı	24(%85,7)	33 %91,6)	57 (%89)
İmipenem silastatin relebactam duyarlılığı	25 %89,2)	34 (%94,4)	59(%92,1)
Meropenem vaborbactam duyarlılığı	23(%82,1)	29(%80,5)	52(%81,2)
Seftolozan tazobactam duyarlılığı	3 (%10,7)	3(%8,3)	6 (%9,3)
Sefiderokol duyarlılığı	26(%92,8)	34(%94,4)	60(%93,7)

CRE izolatlarından *blaKPC*, *blaNDM*, *blaVIM*, *blaIPM* ve *blaOXA-48* genleri PCR yöntemiyle tarandı. 60 *K. pneumoniae* izolatından 28 *blaKPC*, 32 izolattan da *blaOXA-48* saptandı (%46,9-%53,1). *E. coli* izolatlarının 2'sinde *blaKPC*, diğer ikisinde de *blaOXA-48* saptandı. *blaNDM*, *blaVIM*, *blaIPM* ise izolatların hiçbirinde saptanmadı. *BlaKPC* tedavi tamamlayan hastaların 15 'inde saptandı (%53,6). Ölümle sonuçlanan grupta da 15 izolatta saptandı (%41,7) *blaOXA-48* ise tedavi sonunda sağ kalan grupta 13 izolatta saptanırken (%46,4), ölümle sonuçlanan grupta ise 21 hastada saptandı (%58,3). İki grupta direnç genlerinin dağılımında istatistiksel anlamlı farklılık görülmedi (p=0,487).

Tablo 15. Direnç geni mortalite ilişkisi

Direnç geni	Sağkalan n=28 n(%) yada med(min-max)	Exitus n=36 n(%) yada med(min-max)	Toplam n=64 n(%) yada med(min-max)	P değeri
KPC	15 (%53,6)	15 (%41,7)	30 (%46,9)	0,487
OXA-48	13 (%46,4)	21 (%58,3)	34 (%53,1)	

İzolatlar üzerinde seftazidim/avibactam meropenem/vaborbactam, imipenem/relebactam, seftolozan/tazobactam ve sefiderokol antibiyotiklerine karşı duyarlılık

araştırıldı. Seftazidim avibactam için yapılan araştırma sonucuna göre sadece yedi suşta direnç gözlemlendi (*blaKPC*=%83,3, *OXA-48*=%94,1). İzolatların sadece 5'inde imipenem/relebactam direnci saptandı. (*KPC*=%96,6, *OXA-48*=%88,2). Sefiderokol için yapılan duyarlılık testi sonucuna göre her iki direnç geninde 2'şer hastada direnç gözlemlendi (*blaKPC*=%93,3, *blaOXA-48*=%94,1). Meropenem/vaborbactam için yapılan antibiyotik duyarlılık test sonucunda *blaKPC* suşlarının tamamı, *blaOXA-48* suşlarının ise 22'si duyarlı bulundu (*KPC*=%100, *OXA-48*=%64,7). Seftolozan-tazobactam kolunda ise sadece 6 *blaOXA-48* taşıyan suş duyarlı bulundu (*OXA-48*=%17,6).

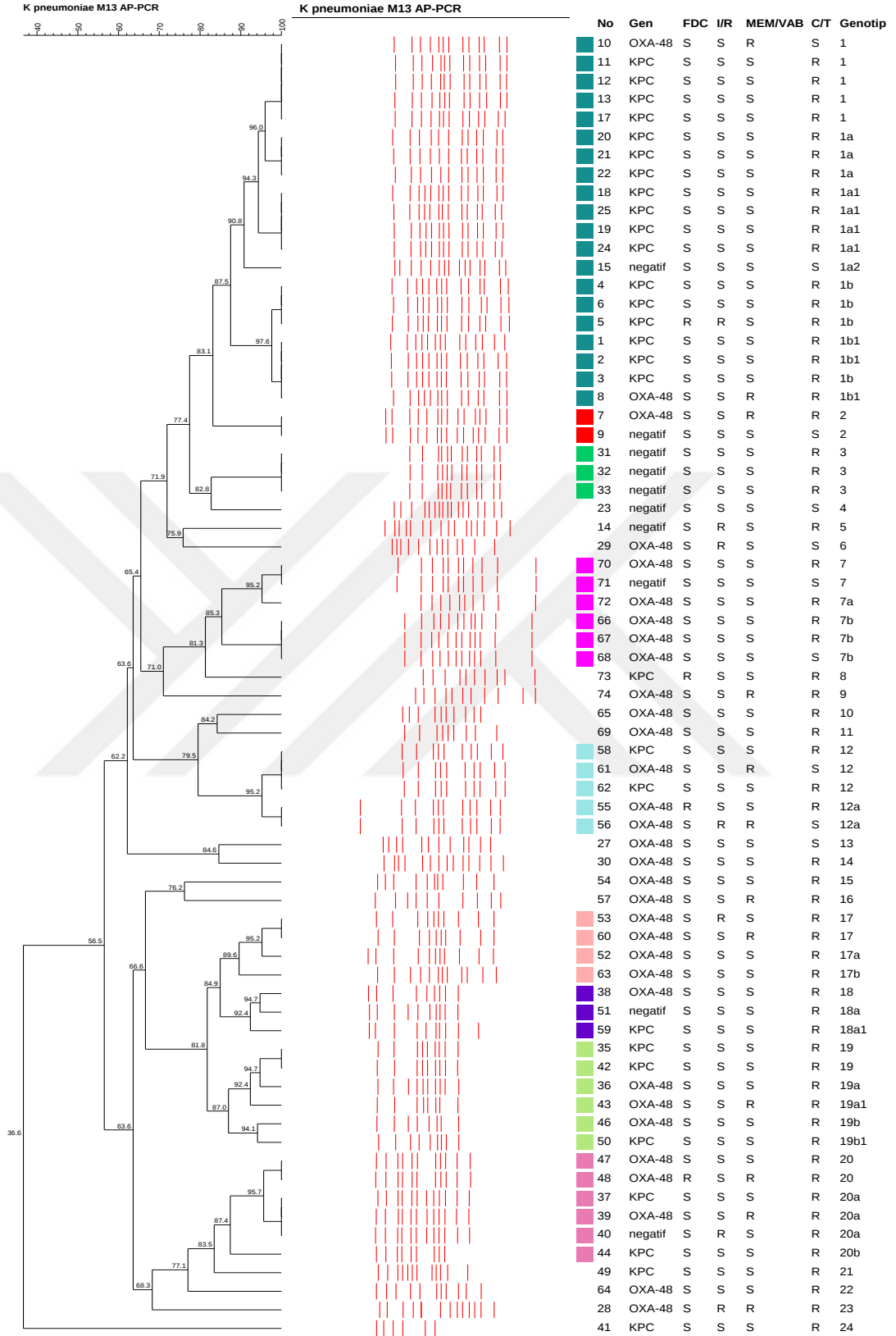
Tablo 16. Yeni antibiyotiklerin duyarlılıklarının direnç genleriyle ilişkisi

Antibiyotikler	KPC n=30 n(%)	OXA-48 n=34 n(%)	Toplam n=64 n(%)
Seftazidim avibactam	25 (%83,3)	32 (%94,1)	57 (%89)
İmipenem relebactam	29 (%96,6)	30 (%88,2)	59(%91)
Sefiderocol	28 (%93,3)	32 (%94,1)	60(%93,7)
Meropenem vaborbactam	30 (%100)	22 (%64,7)	52 (%81,25)
Seftalozan tazobactam	0	6 (%17,6)	6 (%9,3)

İzolatlar arasındaki klonal ilişki elektroforez yöntemiyle araştırıldı ve izolatlar arasındaki benzerlikle ilgili dendogram oluşturuldu.

İzolatlar benzerlik katsayıları göz önüne alınarak birbirleriyle %85'in üzerinde benzerlik gösteren klonal olarak ilişkili kabul edilmiştir. Buna göre Dice benzerlik katsayısı %100 olanlar ayırt edilemez, %90-99 olan izolatlar yakın ilişkili, %85-90 arasında olanlar muhtemel ilişkili olarak kabul edilmiştir. Benzerlik oranları %85'in altında olan suşlar ise diğerlerinden farklı veya ayrı olarak değerlendirilmiştir.

Toplam 70 *Klebsiella pneumoniae* izolatı çalışmaya dahil edildi. 70 *K. pneumoniae* izolatı arasında 24 farklı genotip tespit edilmiş olup izolatlar 9 farklı küme içerisinde toplanmıştır (tolerans 1, optimizasyon 1, cutoff %85). İzolatların 55'i bir kümenin içerisinde yer almakta olup, kümeleşme oranı %78.6'dır. En büyük küme; 20 izolatın yer aldığı genotip 1 kümesidir.



Şekil 5. İzolatların klonal ilişkisini gösteren dendrogram

4. TARTIŞMA

CRE, sınırlı tedavi seçenekleri ve yüksek morbidite ve mortalite nedeni olmaları nedeniyle küresel çapta önemli bir halk sağlığı problemi olup yakın gelecekte mortalitenin en önde gelen nedenleri arasında olacağı tahmin edilmektedir (56). CRE, CDC'nin 2024 raporunda bakteriyel kritik öneme sahip patojenlerin başında gelmektedir. Enterobacteriaceae'da karbapenem direncinin en önemli nedeni mobil genetik elemanlarla aktarılan beta laktamaz direncidir (58). Neden oldukları mortalite, morbidite ve maddi kayıplar sebebiyle, karbapenemaz üreticilerinin hastanelerde hızlı ve doğru tanımlanması hem tedavi hem de hızlı enfeksiyon kontrol önlemlerinin artırılması açısından son derece önemlidir.

Karbapenemaz tespiti için çeşitli fenotipik ve PCR gibi genotipik yöntemler kullanılmaktadır. CLSI ve EUCAST karbapenemaz tespit testlerinin, enfeksiyon kontrol ve önleme stratejilerinin geliştirilmesi süzveyans sistemlerinin oluşturulması açısından önemli olduğunu belirterek önermektedir (190, 191). Bu Tez çalışması ile 3. Basamak üniversite hastanesi Dahili ve Anesteziyoloji ve Reanimasyon yoğun bakım ünitelerinden toplanan CRE suşlarıyla direnç genetiği araştırılarak yerel ve ulusal süzveyansa katkı sağlamak ve bu suşların antibakteriyel duyarlılıkları araştırılarak özellikle kritik hastalarda ampirik tedavide kullanılabilecek ajanların etkinliğinin değerlendirilmesi amaçlandı.

Enterobacteriaceae ailesinde karbapenem direnci dünya genelinde 2001 yılı öncesinde %1'in altındaydı (192). 2015 yılında Avrupa ve Çin'de görülme sıklığı %1-4 arasında değişmekteydi (193). 2019 yılında yapılan 64 merkezin katıldığı bir çalışmada global CRE insidansı %4,5 olarak bulunmuş (194). 2023 yılı Avrupa verilerine göre özellikle Doğu Avrupa'da CRE insidansı %50'nin üzerinde görülmektedir (195). Ülkemizde 2016 ve 2020 tarihleri arasındaki ulusal sağlık hizmetleriyle ilişkili süzveyans ağı raporlarına göre sırasıyla yıllık karbapenem dirençli *K. pneumoniae* sıklığı sırasıyla %29,5, %32,5, %34,4, %39,9 ve %48,2 olarak bildirilmiş olup 2021 yılı için bu oran %63,57 olarak bildirilmiştir (196). Ülkemizdeki artış hızı durumun ciddiyetini göstermektedir. Bizim çalışmamızda ise yoğun bakım ünitelerinde yatmakta olan 159 hastadan alınan, enterobacteriaceae üyesi olan izolatlarda CRE sıklığı %46,5 olarak tespit edildi.

Kuzey ABD’de yapılan bir araştırmada CRE izolatlarının karbapenemaz üretme sıklığı %59 olarak bulunmuştur. Baskın karbapenemaz geni hala *blaKPC* olup azalan sıklıklarla *blaNDM-1*, *blaVIM* ve *blaOXA-48* olarak görölmüştür.(197, 198) Brezilya’da yapılan bir araştırma sonucunda CRE izolatlarının karbapenemaz sentez sıklığı ABD ile benzer tespit edilmiş olup en yaygın karbapenemaz *blaKPC*, ikinci sıklıkta *blaNDM* ve daha az oranda bu ikilinin birlikteliğidir (199). Yunanistan ve Romanya’da ise CRE izolatlarının %90’ının karbapenemaz sentezledikleri görölmüştür. *blaKPC*, *blaNDM*, *blaOXA-48* en sık görölen karbapenemazlar olup bunların ikili kombinasyonları da azalan sıklıkta görölmüştür (200). Tayland’da 2016-2018 yılları arasında yapılan bir çalışmada CRE izolatlarının %80’inin karbapenemaz sentezlediğı görölmüş, buradaki en yaygın karbapenemaz geni ise *blaNDM* olarak saptanmıştır (201). Hindistan’da 312 CRE izolatu üzerinde yapılan bir çalışmada karbapenemaz sentez oranı %90,3 olup en sık saptanan karbapenemaz geni *blaNDM*, daha az sıklıkta *blaOXA-48* gözlenmiştir (202). Ülkemizde yapılan 18 merkezden toplanan izolatların dahil edildiğı bir çalışmada baskın karbapenemaz geni *blaOXA-48* olup (%84,6), azalan sıklıklarda *blaNDM* (%6,3) ve *blaOXA-48-blaNDM* (%2,1) birlikteliğı görölmüştür (203). 87 CRKP izolatuyla yapılan başka bir çalışmada *blaOXA-48* izolatların %68,9’unda, *blaNDM* %22,9’unda, *blaOXA-48* ve *blaNDM* izolatların birlikteliğı ise %5,7 sinde saptanmış, *blaKPC* sadece tek izolatta görölmüştür (%1,1) (204). Bizim çalışmamızda CRE izolatlarının %86,5’i karbapenemaz üretmekteydi. *blaOXA-48*, *blaNDM*, *blaVIM-1*, *blaIPM* ve *blaKPC* genleri araştırıldı. *blaNDM*, *blaVIM-1*, *blaIPM* MBL izolatları saptanmadı. *blaOXA-48* baskın genotip olup (%53,1) diğeri genotip *blaKPC* (%46,9) olarak saptandı. Ülkemizde yapılan benzer çalışmaların sonuçlarıyla uyumlu olarak *blaOXA-48* en sık rastlanan karbapenemaz geni olup, bizim çalışmamızda farklı olarak MBL’ye rastlanılmadı ve *blaKPC* yoğunluğunun oldukça arttığı gözlemlendi.

Karbapenemaz salgılayan suşlar arasında en sık karbapenemaz üreticisi olarak *K. pneumonia* ön plana çıkmaktadır (205). Bizim çalışmamızda da karbapenemaz inaktivasyon testi ile CRE olduğı kanıtlanan 64 izolatın 60’ı *K. pneumoniae* idi (%93,7). Bu suşların 28’i *blaKPC* (%47), 32’si ise *blaOXA-48* taşıymaktaydı. 4 izolatta ise *E. coli* tespit edildi ve iki *E. coli* izolatu *blaKPC*, diğeri iki izolat da *blaOXA-48* taşıyordu.

CRE ile enfekte hastalarda mortalitenin irdelendiği 62 çalışmanın analizinin yapıldığı bir derlemede CRE ilişkili mortalite; Kuzey Amerika için %25-%41 arasında, Güney Amerika'da %40-%54 arasında, Avrupa'da %41-%58 arasında, Asya'da %38-%52 arasında saptanmıştır. CRKP için hesaplanan mortalite; bu 62 çalışma incelendiğinde %37-%47 arasında bulunmuştur. Aynı derlemede yoğun bakımdaki CRE ilişkili mortalitenin araştırıldığı 12 çalışma incelenmiş ve yoğun bakım mortalite oranları %40-%68 arasında bulunmuştur. Kan dolaşımı enfeksiyonlarında CRE ilişkili mortalitenin araştırıldığı 20 çalışmada mortalite oranları %47-%61 arasında gözlenmiştir (206). Ülkemizde yapılan bir çalışmada CRE ilişkili kan dolaşımı enfeksiyonlarının 28 günlük mortalite oranı %60 olarak hesaplanmıştır (16). Çalışmamızda 14 günlük takip esnasında CRE ile ilişkili ölüm oranı %56,25 olarak bulunmuştur. Çalışmamıza dahil edilen hastalar yoğun bakımda yatan, klinik açıdan stabil olmayan hastalardan oluştuğu için CRE enfeksiyonunun mortaliteyi kolaylaştırıcı faktörlerden biri olduğu düşünülmüştür.

Çalışmaya dahil edilen ve ölen hastaların yaklaşık %19,5'i (36 hastanın 7'si) kültür antibiyogram işlemleri sonlanmadığı için etkin sayılabilecek bir tedaviye başlamadan ölmüştür. Ölüm oranının yüksek olduğu kan dolaşımı enfeksiyonu gelişen grupta ise 16 hastanın 12'si ölmüştür ve sağkalım oranı %25 e düşmüştür. Kan dolaşımı enfeksiyonu gelişen hastalardan 5'i kültür sonuçlanmadan, 4'ü ise kültür antibiyogram sonuçlandıktan sonra başlanan tedavinin 2. gününde ölmüştür. Ölen hastaların kültür sonrası ortalama tedavi alma süreleri 3 gün olarak hesaplanmış olup (min-max=1-10 gün), kültür sonuçlanana dek geçen sürenin yaklaşık 72 saati bulması, etkin tedavinin gecikmesinin ve mortalitenin artmasının nedenlerinden biri olarak yorumlanmıştır.

Çalışmamızda karbapenemlere, kinolonlara ve sefalosporinlere direnç izolatların tamamında gözlenmiş, sonuçlar literatürle uyumlu bulunmuştur. Aminoglikozitlere ise izolatların %92'si duyarlı bulunmuştur. Literatürde bu oran oldukça değişkendir. Duyarlı olduğunun saptanması halinde dahi; aminoglikozitlerin CRE tedavisinde rutin kullanımı önerilmemekte olup, sadece kritik hastalarda betalaktam-betalaktamaz inhibitörleri ile kombinasyon tedavisinin parçası olarak kullanımını destekleyen çalışmalar mevcuttur (207). Çalışmamızda bulunan yüksek duyarlılık oranları nedeniyle özellikle kritik hastalarda ampirik başlanacak tedavide

kombinasyon tedavisinin bir parçası olarak aminoglikozitlerin kullanımının mortalite üzerine olumlu etkileri olacağı düşünülmektedir. Nitekim kendi çalışmamızda da 9 hastaya ampirik olarak karbapenem ve aminoglikozit kombinasyon tedavisi başlanmış, bu hastaların 4'ü ilk 48 saat dolmadan ölmüştür. 5 hastada ise antibiyogram sonuçlandığında ampirik tedaviye yanıt alındığından tedavi revizyonu yapılmamış ve klinik iyileşme sağlanmıştır.

Yapılan bazı meta analiz sonuçlarına göre CRE gelişimi ve mortalitesi için en önemli faktörler önceki antibiyotik kullanımı, yoğun bakım yatışı ve eşlik eden komorbiditeler ve sahip olduğu klinik hastalığın şiddeti olarak tanımlanmıştır (208, 209). Ülkemizde yapılan bir çalışmada yoğun bakımda yatış ve son 3 ayda antibiyotik kullanımı CRE gelişimi için en önemli risk faktörleri olarak gözlemlenmiştir (210). Başka bir çalışmada yine yoğun bakımda 15 günden uzun yatış, karbapenem maruziyeti, mekanik ventilasyon, geçirilmiş cerrahi karbapenem direnci gelişimi için öne çıkan faktörler olarak gözlenmiştir (211). Bizim çalışmamızda da yoğun bakımda ortalama 15 gün yatan, tamamı entübe ve intravasküler kateteri, üriner kateteri olan hastalar mevcuttu. Hastalar CRE gelişimi sonrası 14. günde sağ kalan ve ölen hastalar olarak kategorize edildiğinde; yatışları esnasında her iki hasta kolunda da yaklaşık %70 oranında karbapenem kullanımı mevcuttu. 14 günlük tedavi sonrası sağ kalan hastaların %93'ünde, tedavi sırasında ölümün gerçekleştiği gruptaki hastaların ise %86'sında eşlik eden en az bir komorbidite mevcuttu. Laboratuvar bulgularından kreatin değeri kültür alınma zamanında ölümün gerçekleştiği grupta anlamlı olarak daha yüksekti ($p=0,019$). Renal fonksiyonlarda bozulma, akut böbrek yetmezliği çalışmamızda öne çıkan mortalite belirleyici risk faktörü olarak saptandı. Çalışmamızda Dahili yoğun bakım ünitesi'nde yatan CRE ile enfekte hastalarda mortalitenin Anesteziyoloji ve Reanimasyon yoğun bakım ünitesinde yatan CRE enfekte hastalardan daha sık gerçekleştiği gözlemlendi (%75) ($p=0,018$). Yoğun bakımlar arasında Yaş ve komorbidite dağılımı açısından belirgin farklılık görülmedi. Mortalite oranları yoğun bakımlar arasındaki destek tedavilerinin kalite farkının giderilmesi ve enfeksiyon kontrol önlemlerine uyumun artırılmasıyla daha düşük seviyelerde seyredebileceği öngörülmektedir.

Seftazidim/avibactamın *blaKPC*, *blaOXA-48* ve AmpC beta-laktamazlara karşı etkin olduğu bilinmekte olup duyarlı izolatların tedavilerinde önerilen tedavi

seçeneğidir (212). Yapılan bir çalışmada *blaOXA-48* taşıyan 1300 izolat üzerinde yapılan in vitro duyarlılık araştırmasında %97,6 oranında seftazidim/avibactam duyarlılığı tespit edilmiştir. Başka bir çalışmada *blaKPC* taşıyan izolatların seftazidim/avibactama in vitro duyarlılıkları %91,7 olarak saptanmıştır (213). Bizim çalışmamızda minimum inhibitör konsantrasyonu (MIC) düzeyleri belirlenerek yapılan duyarlılık testinde izolatların %89'u seftazidim/avibactam duyarlı saptandı. Genotiplere göre incelendiğinde; *blaKPC* için %83,3, *blaOXA-48* için %94,1 oranında duyarlı oldukları gözlemlendi. Mevcut bulgular seftazidim/avibactamın özellikle *blaOXA48* tedavisinde potent ajan olma özelliğinin sürdüğü, ancak *blaKPC* için artan direncin yakın gelecekte bu ajanın tedavideki yerini kaybetmesine neden olabileceğini düşündürmektedir.

Duyarlı olduğu test sonuçlarında gösterilen 57 hastadan sadece 24'üne seftazidim/avibactam, 5 hastaya ise seftazidim/avibactam ve aminoglikozit kombinasyonlu tedavi başlandı. Diğer hastaların bir kısmına ampirik başlanan tedaviye klinik yanıt olduğundan tedavi revizyonu yapılmadı. Bazı hastalara da kültür-antibiyoqram sonuçlandığında öldüklerinden tedavi revizyonu yapılamadı. Seftazidim/avibactam tedavisine geçilen hastaların 16'sı *blaKPC* taşıyordu. Bu hastalardan tedavi alanların 7'si 14 günlük tedaviyi tamamlayabildi. 4 hasta tedavinin ilk 72 saatinde öldü. İzolatların duyarlı olmalarına rağmen mortalitenin yüksekliği sahip oldukları komorbid faktörlerle beraber kültür-antibiyoqram sonuçlanma sürecinin uzamasına da bağlı olabileceği düşünüldü.

Çalışmamızda seftazidim/avibactamın *blaOXA-48* ve *blaKPC* izolatlarının tedavilerinde kullanılabilecek potent bir ajan olduğu gözlenmiştir. Ancak seftazidim avibactam ile tedavi için duyarlılığın tespit edilmesi gerekmektedir. Standart kültür-antibiyoqram yöntemleriyle duyarlılığın gösterilmesi ve tedaviye başlama en erken 48. saatte mümkündür. Hızlı antibiyoqram metoduyla bu süre kan kültürlerinden pozitif sinyal alındıktan sonra 6-8 saate kadar düşürülebilmektedir. Özellikle mortalitenin yoğun görüldüğü kan dolaşımı enfeksiyonu gelişen hastalarda hızlı antibiyoqram testlerinin kullanımının yaygınlaştırılmasının mortaliteyi azaltmada etkili olabileceği düşünülmektedir.

Sefiderokol için yapılan disk difüzyon testine göre *blaKPC* taşıyan izolatların %93'ünde, *blaOXA-48* taşıyan izolatların ise %94'ünde in vitro duyarlılık saptandı.

Saptadığımız duyarlılık oranları literatürü destekler niteliktedir. Hızlı direnç gelişebilme potansiyeli nedeniyle bu ajanın rutin kullanımından kaçınılması, sadece son basamak tedavide kullanılması daha akılcı olacaktır.

İmipenem/relebactam için yapılan disk difüzyon test sonuçlarına göre *blaKPC* içeren izolatlar %96,6, *blaOXA-48* taşıyan izolatlar ise %88,2 oranında in vitro duyarlılığa sahipti. Amerika’da yapılan bir derlemede imipenem/relebactamın *blaKPC* duyarlılığı %95 düzeyinde, *blaOXA-48* duyarlılığı ise %15 düzeyindeydi. Relebactamın *blaOXA-48*’i inhibe edici yeteneği zayıf olmasına karşın bizim çalışmamızdaki izolatlarda duyarlılık oranı yüksek bulunmuştur (%88,2).

Meropenem/vaborbactamın *blaKPC* karşı yüksek aktivitesi mevcut olup, *OXA-48* ve MBL suşlarına etkinliği oldukça kısıtlıdır. Bizim çalışmamızda da *blaKPC* duyarlılık oranı %100 olup, *blaOXA-48* için %64 in vitro duyarlılık gözlenmiştir (p=0001). Ülkemiz gibi *blaOXA-48* suşlarının daha yoğun görüldüğü bölgelerde ampirik tedavide meropenem/vaborbactam ve imipenem/relebactam tercih edilmemesi gereken ajanlar olacaktır.

Seftolozan/tazobactamda *blaKPC* taşıyan izolatlarda duyarlılık gözlenmezken *blaOXA-48* taşıyan izolatlarda sadece %17 duyarlılık gözlemlendi. Bulgular literatürle uyumlu olarak görüldü. CRE izolatları için tedavi alternatifi olmayan seftolozan/tazobactam, ancak duyarlı görüldüğünde AmpC beta-laktamaz taşıyan suşların tedavisinde alternatif tedavi seçeneği olabilir.

CRE enfeksiyonlarının güncel tedavisinde onaylanan imipenem/relebactam ve meropenem/vaborbactamı IDSA ve ESCMİD kılavuzları sadece Ambler A sınıfı beta laktamazların (özellikle KPC) tedavisinde önermektedir. Vaborbactam ve relebactamın D sınıfındaki karbapenemazları inhibe etme yetenekleri kısıtlı olduğundan bu suşlar in vitro duyarlı görülseler bile tedavide kullanımından kaçınılmalıdır. Seftazidim/avibactam tedavisini ise Ambler A ve D sınıfı beta laktamazların tedavisinde önermektedir. Sefiderocolün etki spektrumunda ayrıca MBL’ler de bulunmakta olup, seftolozan tazobactam sadece C sınıfı beta-laktamazların tedavisinde önerilmektedir (212, 214).

Çalışmamıza dahil edilen 70 *K. pneumoniae* suşu arasındaki klonal ilişkinin araştırıldığı PFGE sonucuna göre Dice benzerlik katsayısı %78,6 olarak saptanmış olup, bu oranın %85 ve üzerinde olmasının özellikle izolatlar arasındaki klonal

yakınlığın oldukça yüksek olduğunun, diğer bir deyişle hastalar arasında çapraz bulaş oranının yüksekliğini yansıtmaktadır. Bu yönüyle yoğun bakım ünitelerinde olası bir salgından bahsetmek zordur.

Çalışmamıza yoğun bakım ünitelerinde yatan, 6 aylık süre içinde alınan kültürlerinde anlamlı üremeleri olan hastalardan üreyen suşların dahil edilmesi nedeniyle dahil edilen izolat sayısı kısıtlı kalmıştır. Çalışmanın tek merkez üzerinden yürütülmesi, olguların sadece yoğun bakım ünitesinden seçilmesi, kontrol grubu olmayışı çalışmamızın eksik yönleri olarak görüldü.

Çalışmamız ile CRE izolatlarının moleküler epidemiyolojisinin belirlenerek yerel ve ulusal süveyansa katkı amaçlandı. Çalışmaya alınan CRE izolatlarında karbapenemaz sentezleyen suş oranı %86,5 olarak saptandı. Genotipik analizle karbapenemaz genlerinden *blaLPC*, *blaNDM*, *blaVIM*, *blaIMP* ve *blaOXA-48* varlığı araştırıldı.

Baskın CRE genotipi olarak *blaOXA48* olarak saptandı. Çalışmamızda, ülkemizde yapılan çeşitli süveyans çalışmalarındaki verilerden farklı olarak *blaKPC* yoğunluğunun arttığı gözlemlendi. Bu sonuç, ülkemizin karbapenemaz epidemiyolojisinin değişmekte olabileceğini ve yeni verilerin oluşturulabilmesi için çok merkezli ve daha geniş örneklem gruplarıyla çalışma gerekliliğini ortaya koymaktadır.

Çalışmamızda da görüldüğü gibi CRE izolatları ülkemizde mevcut olan beta laktam grubu antibiyotiklerin çoğuna, avibactam dışındaki tüm beta laktamaz inhibitörlerine, kinolonların tümüne dirençlidir. Yan etki profilleri nedeniyle rutin kullanımı önerilmeyen aminoglikozitler hala kombinasyon tedavisinin bir parçası olarak kullanılabilecek ajanlar gibi görünmektedir.

CRE tedavisi için ülkemizde kullanımda olan seftazidim/avibactam için direncin artmakta olduğu çalışmamızda da gösterilmiş olup, kültür-antibiyogram sonucunda duyarlılık gösterilerek kullanılabildiği için enfeksiyon/kolonizasyon ayırımının net bir şekilde yapıldığı durumlarda kullanılması direnç gelişim hızını azaltacaktır. Sağlık kurumlarında enfeksiyon kontrol önlemlerinin artırılması özellikle dirençli suşların yol açacağı enfeksiyonların azalmasını sağlayarak antibiyotik kullanımını azaltabilir.

Çalışmamızda *blaOXA-48* izolatlarının imipenem/relebactama yüksek oranda duyarlılığı dikkat çekici olup, meropenem vaborbactamın *blaOXA-48* etkinliği

çalışmamızda da görüldüğü gibi düşüktür. Seftolozan/tazobactamın CRE tedavisinde yeri olmadığı, ülkemizde bulunmayan sefidocolün izolatların tedavisinde kullanılabilecek etkin bir ajan olduğu çalışmamızda da gösterilmiştir.

Çalışmamıza dahil edilen 70 *K. pneumoniae* izolatı arasında 24 farklı genotip tespit edildi ve izolatların 9 farklı küme içerisinde toplandığı gözlemlendi. Bu izolatların 55'i bir kümenin içerisinde yer almaktaydı ve kümeleşme oranı %78.6 idi. Saptanan kümeleşme oranı hastalar arasındaki çapraz bulaşın yüksek olduğunu düşündürmekte olup, çoklu ilaca dirençli bu mikroorganizmalarla oluşan enfeksiyon oranlarını azaltmak için öncelikle YBÜ'lerinde olmak üzere hastalar arası bulaş engellenmeli, bu amaçla hizmet içi eğitim periyotları sıklaştırılmalı, zorunlu durumlar dışında hastalar için tek kullanımlık malzemeler seçilmelidir. El hijyenine ve eldiven kullanımına gereken özen gösterilmelidir. YBÜ'lerden servislere çıkarılan hastalar devredildikleri servislerinde sürveyans kültürleri sonuçlanana kadar temas izolasyonuna alınmalı ve servisteki diğer hastalara sorunlu mikroorganizmaların geçişi engellenmelidir. YBÜ'lerinde salgınların zamanında fark edilebilmesi için sürveyans çalışmaları yapılmalı, salgınlar sırasında çok önemli bilgiler sağlanması ve salgın yapan mikroorganizmanın rezervuarının saptanması amacıyla mutlaka çevresel örnekleme yapılmalıdır.

Kısıtlı tedavi seçenekleri bulunması, yeni ajanların geliştirilmesinin zorluğu eldeki ajanların doğru ve etkin kullanılmasının ne kadar önemli olduğunu ortaya koymaktadır. Dirençli mikroorganizmalarla enfeksiyonların gelişmesiyle mücadelenin en etkili ve basit yolu temas önlemlerine uyumun artırılmasıdır.

5. KAYNAKLAR

1. Programme UNE, Bracing for Superbugs: Strengthening Environmental Action in the One Health Response to Antimicrobial Resistance. 2023: UN.
2. O'Neill J. Tackling drug-resistant infections globally: final report and recommendations. 2016.
3. McLennan M. The Global Risks Report 2021 16th Edition. 2021. World Economic Forum Cologny, Switzerland.
4. Goldman E, Green LH. Practical handbook of microbiology. 2015: CRC press.
5. Janda JM, Abbott SL. The Changing Face of the Family Enterobacteriaceae (Order: "Enterobacterales"): New Members, Taxonomic Issues, Geographic Expansion, and New Diseases and Disease Syndromes. Clin Microbiol Rev, 2021; 34(2).
6. De Angelis G, Del Giacomo, Posteraro SL, Sanguinetti M, Tumbarello M. Molecular Mechanisms, Epidemiology, and Clinical Importance of β -Lactam Resistance in Enterobacteriaceae. Int J Mol Sci, 2020. 21(14).
7. Bassetti M. Peghin M, Pecori D. The management of multidrug-resistant Enterobacteriaceae. Curr Opin Infect Dis, 2016; 29(6): 583-594.
8. Magiorakos AP, Burns K, Rodríguez Baño J, Borg M, Daikos G, Dumpis U, et al. Infection prevention and control measures and tools for the prevention of entry of carbapenem-resistant Enterobacteriaceae into healthcare settings: guidance from the European Centre for Disease Prevention and Control. Antimicrobial Resistance & Infection Control, 2017;6(1): 113.
9. Chen L, Mathema B, Chavda KD, DeLeo FR, Bonomo RA, Kreiswirth BN. Carbapenemase-producing *Klebsiella pneumoniae*: molecular and genetic decoding. Trends Microbiol. 2014;22(12):686-96.

10. Boyd SE, Holmes A, Peck R, Livermore DM, Hope W. OXA-48-like β -lactamases: global epidemiology, treatment options, and development pipeline. *Antimicrobial agents and chemotherapy*, 2022; 66(8): e00216-22.
11. Bennett JE, Dolin R, Blaser M, Mandell J, Bennett's Principles and Practice of Infectious Diseases E-Book: 2-Volume Set. 2019: Elsevier health sciences.
12. Drews JP. Ehrlich: magister mundi. *Nat Rev Drug Discov*, 2004; 3(9): 797-801.
13. Ferrie JE. Arsenic, antibiotics and interventions. *Int J Epidemiol*, 2014. 43(4): 977-82.
14. Chain E, Florey HW, Adelaide MB, Gardner AD, Heatley NG, Jennings MA, et al Penicillin as a chemotherapeutic agent. 1940. *Clin Orthop Relat Res*, 1993(295): 1-7.
15. Maltezou HC. Metallo-beta-lactamases in Gram-negative bacteria: introducing the era of pan-resistance? *Int J Antimicrob Agents*, 2009; 33(5): 405-457.
16. Coşkun, E, Öztürk Deniz SS. Karbapenem dirençli enterobacteriaceae ilişkili kan dolaşımı infeksiyonlarının moleküler epidemiyolojisi ve risk faktörlerinin değerlendirilmesi. 2023.
17. Knothe H, Shah P, Krcmery V, Antal M, Mitsuhashi S. Transferable resistance to cefotaxime, ceftazidime, cefamandole and cefuroxime in clinical isolates of *Klebsiella pneumoniae* and *Serratia marcescens*. *Infection*. 1983;11(6):315-7.
18. Paterson DL, Bonomo RA. Extended-spectrum beta-lactamases: a clinical update. *Clin Microbiol Rev*, 2005; 18(4): 657-86.
19. Paterson DL, Ko WC, Von Gottberg A, Mohapatra S, Casellas JM, Goossens H. et al. Antibiotic therapy for *Klebsiella pneumoniae* bacteremia: implications of production of extended-spectrum beta-lactamases. *Clin Infect Dis*, 2004;39(1): 31-7.

20. Vink JP, Otter JA. Edgeworth JD. Carbapenemase-producing Enterobacteriaceae – once positive always positive? *Current Opinion in Gastroenterology*, 2020; 36(1): 9-16.
21. Osano EY. Arakawa R. Wacharotayankun, M. Ohta, T. Horii, H. Ito, et al. Molecular characterization of an enterobacterial metallo beta-lactamase found in a clinical isolate of *Serratia marcescens* that shows imipenem resistance. *Antimicrob Agents Chemother*, 1994. 38(1): 71-8.
22. Yigit, HAM. Queenan GJ. Anderson A. Domenech-Sanchez JW, Steward CD, et al. Novel carbapenem-hydrolyzing beta-lactamase, KPC-1, from a carbapenem-resistant strain of *Klebsiella pneumoniae*. *Antimicrob Agents Chemother*, 2001; 45(4): 1151-61.
23. Bradford PA, Bratu S, Urban C, Visalli M, Mariano N, Landman D, et al. Emergence of carbapenem-resistant *Klebsiella* species possessing the class A carbapenem-hydrolyzing KPC-2 and inhibitor-resistant TEM-30 beta-lactamases in New York City. *Clin Infect Dis*, 2004. 39(1): 55-60.
24. Bratu SD, Landman R, Haag RR, Eramo A, Alam M, et al. Rapid spread of carbapenem-resistant *Klebsiella pneumoniae* in New York City: a new threat to our antibiotic armamentarium. *Arch Intern Med*, 2005;165(12): 1430-1435.
25. Potron AL, Poirel E. Rondinaud, and Nordmann, Intercontinental spread of OXA-48 beta-lactamase-producing Enterobacteriaceae over a 11-year period, 2001 to 2011. *Euro Surveill*, 2013;18(31).
26. Bush K, Bradford PA. Epidemiology of β -Lactamase-Producing Pathogens. *Clin Microbiol Rev*, 2020; 33(2).
27. Yong D, Toleman, M.A. Giske CG, Cho HS, Sundman K, Lee K, et al. Characterization of a new metallo-beta-lactamase gene, bla(NDM-1), and a novel erythromycin esterase gene carried on a unique genetic structure in *Klebsiella pneumoniae* sequence type 14 from India. *Antimicrob Agents Chemother*, 2009; 53(12): 5046-54.

28. Doi Y, Bonomo RA, Hooper DC, Kaye KS, Johnson JR, Clancy CJ. et al Gram-negative bacterial infections: research priorities, accomplishments, and future directions of the Antibacterial Resistance Leadership Group. *Clinical Infectious Diseases*, 2017; 64(1): 30-35.
29. Moellering RC. NDM-1--a cause for worldwide concern. *N Engl J Med*, 2010; 363(25): 2377-9.
30. Peleg AY, Hooper DC. Hospital-acquired infections due to gram-negative bacteria. *New England Journal of Medicine*, 2010;362(19): 1804-1813.
31. Sandora TJ, Goldmann DA. Preventing lethal hospital outbreaks of antibiotic-resistant bacteria. *New England Journal of Medicine*, 2012;367(23): 2168-2170.
32. Vollmer WD, Blanot a, de Pedro MA. Peptidoglycan structure and architecture. *FEMS Microbiol Rev*, 2008. 32(2): 149-67.
33. Raetz CR, Whitfield C. Lipopolysaccharide endotoxins. *Annual review of biochemistry*, 2002; 71(1): 635-700.
34. Delcour AH. Outer membrane permeability and antibiotic resistance. *Biochim Biophys Acta*, 2009;1794(5): 808-16.
35. Silhavy TJ, Kahne D, Walker S. The bacterial cell envelope. *Cold Spring Harb Perspect Biol*, 2010; 2(5): a000414.
36. Rai AK, Mitchell AM. Enterobacterial Common Antigen: Synthesis and Function of an Enigmatic Molecule. *mBio*, 2020; 11(4).
37. Wang C, Zhang H, Wang J, Chen S, Wang Z, Zhao L. et al Colanic acid biosynthesis in *Escherichia coli* is dependent on lipopolysaccharide structure and glucose availability. *Microbiol Res*, 2020; 239: 126527.
38. Chen, JS, Lee M, Mao Y. Protective effect of exopolysaccharide colanic acid of *Escherichia coli* O157:H7 to osmotic and oxidative stress. *Int J Food Microbiol*, 2004; 93(3): 281-286.

39. Whitfield C. Biosynthesis and assembly of capsular polysaccharides in *Escherichia coli*. *Annu. Rev. Biochem* 2006; 75(1): 39-68.
40. Campos MA Vargas MA, Regueiro V, Llompart CM, Albertí S, and Bengoechea JA. Capsule polysaccharide mediates bacterial resistance to antimicrobial peptides. *Infection and immunity*, 2004;72(12): 7107-7114.
41. Minamino T, Kinoshita M, Structure, Assembly, and Function of Flagella Responsible for Bacterial Locomotion. *EcoSal Plus*, 2023. 11(1): eesp00112023.
42. Epler Barbercheck C, Bullitt E, Andersson M. Bacterial Adhesion Pili. *Subcell Biochem*, 2018; 87: 1-18.
43. Lessl M, Lanka E. Common mechanisms in bacterial conjugation and Ti-mediated T-DNA transfer to plant cells. *Cell*, 1994; 77(3): 321-4.
44. Falkow S. Molecular Koch's postulates applied to microbial pathogenicity. *Rev Infect Dis*, 1988; 10(2): 274-276.
45. Connell I, Agace W, Schembri M, Mårild S, Svanborg C. Type 1 fimbrial expression enhances *Escherichia coli* virulence for the urinary tract. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 1996; 93(18): 9827-9832.
46. Hung CS, Bouckaert J, Hung D, Pinkner J, Widberg C, DeFusco A, et al Structural basis of tropism of *Escherichia coli* to the bladder during urinary tract infection. *Molecular microbiology*, 2002; 44(4): 903-915.
47. Bloch CA, Stocker BA, Orndorff PE. A key role for type 1 pili in enterobacterial communicability. *Mol Microbiol*, 1992. 6(6): 697-701.
48. Holland IB, Blight MA, Kenny B. The mechanism of secretion of hemolysin and other polypeptides from gram-negative bacteria. *J Bioenerg Biomembr*, 1990; 22(3): 473-91.
49. Wang X, Quinn PJ. Lipopolysaccharide: Biosynthetic pathway and structure modification. *Prog Lipid Res*, 2010; 49(2): 97-107.

50. Wang K, Lu C, Fan W. Bacterial capsular polysaccharide-a review. *Wei Sheng Wu Xue Bao*, 2011;51(12): 1578-84.
51. Russo TA, Moffitt MC, Hammer CH, Frank MM. TnphoA-mediated disruption of K54 capsular polysaccharide genes in *Escherichia coli* confers serum sensitivity. *Infect Immun*, 1993; 61(8): 3578-82.
52. Raymond KN, Dertz EA, Kim SS. Enterobactin: an archetype for microbial iron transport. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2003;100(7): 3584-8.
53. Carbonetti NH, Boonchai S, Parry SH, Väisänen-Rhen V, Korhonen TK, Williams PH. Aerobactin-mediated iron uptake by *Escherichia coli* isolates from human extraintestinal infections. *Infect Immun*, 1986; 51(3): 966-8.
54. Russo TA, Marr CM. Hypervirulent *Klebsiella pneumoniae*. *Clin Microbiol Rev*, 2019; 32(3).
55. Kadri SS. Key takeaways from the US CDC's 2019 antibiotic resistance threats report for frontline providers. *Critical Care Medicine*, 2020; 48(7): 939-945.
56. Murray CJ, Ikuta KS, Sharara F, Swetschinski L, Aguilar GR, Gray A, et al. Global burden of bacterial antimicrobial resistance in 2019: a systematic analysis. *The Lancet*, 2022. 399(10325): 629-655.
57. Lynch JP, Clark NM, Zhanel GG. Evolution of antimicrobial resistance among Enterobacteriaceae (focus on extended spectrum β -lactamases and carbapenemases). *Expert Opin Pharmacother*, 2013; 14(2): 199-210.
58. Nordmann P, Naas T, Poirel L. Global spread of Carbapenemase-producing Enterobacteriaceae. *Emerg Infect Dis*, 2011; 17(10): 1791-8.
59. Livermore, D.M Has the era of untreatable infections arrived? *J Antimicrob Chemother*, 2009; 64(1): 29-36.

60. D'Angelo RG, Johnson JK, Bork JT, Heil EL. Treatment options for extended-spectrum beta-lactamase (ESBL) and AmpC-producing bacteria. *Expert Opin Pharmacother*, 2016; 17(7): 953-67.
61. Tzouveleakis L, Markogiannakis A, Psychogiou MT, Daikos G. Carbapenemases in *Klebsiella pneumoniae* and other Enterobacteriaceae: an evolving crisis of global dimensions. *Clinical Microbiology Reviews*, 2012;25(4): 682-707.
62. Mehta Y, Gupta A, Todi S, Myatra S, Samaddar D, Patil V, et al Guidelines for prevention of hospital acquired infections. *Indian journal of critical care medicine: peer-reviewed, official publication of Indian Society of Critical Care Medicine*, 2014; 18(3): 149.
63. Nordmann I, Poirel L. Strategies for identification of carbapenemase-producing Enterobacteriaceae. *J Antimicrob Chemother*, 2013; 68(3): 487-9.
64. Hall BG, Barlow M. Revised Ambler classification of {beta}-lactamases. *J Antimicrob Chemother*, 2005; 55(6): 1050-1.
65. Bush K, Jacoby GA, Medeiros AA, A functional classification scheme for beta-lactamases and its correlation with molecular structure. *Antimicrob Agents Chemother*, 1995; 39(6): 1211-33.
66. Ambler RP. The structure of beta-lactamases. *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci*, 1980; 289(1036): 321-31.
67. Bush K. Bench-to-bedside review: The role of beta-lactamases in antibiotic-resistant Gram-negative infections. *Crit Care*, 2010; 14(3): 224.
68. Nordmann P, Poirel L. Epidemiology and Diagnostics of Carbapenem Resistance in Gram-negative Bacteria. *Clin Infect Dis*, 2019. 69(7): 521-528.
69. Fang L, Chen R, Li C, Sun J, Liu R, Shen Y, et al The association between the genetic structures of commonly incompatible plasmids in Gram-negative bacteria, their distribution and the resistance genes. *Front Cell Infect Microbiol* 2024; 14: 1472876.

70. Walther-Rasmussen J, Høiby N. Class A carbapenemases. *J Antimicrob Chemother*, 2007; 60(3): 470-82.
71. Queenan AM, Bush K. Carbapenemases: the versatile beta-lactamases. *Clin Microbiol Rev*, 2007; 20(3): 440-58.
72. Moquet O, Bouchiat C, Kinana A, Seck A, Arouna O, Bercion R, et al. Class D OXA-48 carbapenemase in multidrug-resistant enterobacteria, Senegal. *Emerg Infect Dis*, 2011;17(1): 143-4.
73. Forsberg KJ, Reyes A, Wang B, Selleck EM, Sommer MO, Dantas G. The shared antibiotic resistome of soil bacteria and human pathogens. *Science*, 2012; 337(6098): 1107-11.
74. Stewart A, Harris P, Henderson A, Paterson D. Treatment of Infections by OXA-48-Producing Enterobacteriaceae. *Antimicrob Agents Chemother*. 2018; 62(11):01195-18
75. Poirel L, Potron A, Nordmann P, OXA-48-like carbapenemases: the phantom menace. *J Antimicrob Chemother*, 2012; 67(7): 1597-606.
76. Meletis G, Carbapenem resistance: overview of the problem and future perspectives. *Ther Adv Infect Dis*, 2016; 3(1): 15-21.
77. Yigit H, Queenan AM, Rasheed JK, Biddle JW, Domenech-Sanchez, S, Alberti, et al Carbapenem-resistant strain of *Klebsiella oxytoca* harboring carbapenem-hydrolyzing beta-lactamase KPC-2. *Antimicrob Agents Chemother*, 2003; 47(12): 3881-9.
78. Woodford N, Tierno PM, Young K, Tysall L, Palepou MF, Ward E, et al Outbreak of *Klebsiella pneumoniae* producing a new carbapenem-hydrolyzing class A beta-lactamase, KPC-3, in a New York Medical Center. *Antimicrob Agents Chemother*, 2004; 48(12): 4793-9.

79. Ke W, Bethel CR, Thomson JM, Bonomo RA, van den Akker F. Crystal structure of KPC-2: insights into carbapenemase activity in class A beta-lactamases. *Biochemistry*, 2007; 46(19): 5732-40.
80. Hu Y, Zhu B. Study on genetic engineering of *Acremonium chrysogenum*, the cephalosporin C producer. *Synth Syst Biotechnol*, 2016;1(3): 143-149.
81. Kazmierczak KM, Biedenbach DJ, Hackel M, Rabine S, de Jonge BL, Bouchillon SK, et al. Global Dissemination of blaKPC into Bacterial Species beyond *Klebsiella pneumoniae* and In Vitro Susceptibility to Ceftazidime-Avibactam and Aztreonam-Avibactam. *Antimicrob Agents Chemother*, 2016; 60(8): 4490-500.
82. Carpenter J, Neidig N, Campbell A, Thornsberry T, Truex T, Fortney T, et al Activity of imipenem/relebactam against carbapenemase-producing Enterobacteriaceae with high colistin resistance. *J Antimicrob Chemother*, 2019; 74(11): 3260-3263.
83. Hackel MA, Lomovskaya O, Dudley MN, Karlowsky JA, Sahm DF. In Vitro Activity of Meropenem-Vaborbactam against Clinical Isolates of KPC-Positive Enterobacteriaceae. *Antimicrob Agents Chemother*, 2018; 62(1).
84. Diene SM, Rolain JM. Carbapenemase genes and genetic platforms in Gram-negative bacilli: Enterobacteriaceae, *Pseudomonas* and *Acinetobacter* species. *Clinical Microbiology and Infection*, 2014; 20(9): 831-838.
85. Huang J, Hu X, Zhao Y, Shi Y, Ding H, Xv J, et al Genetic factors associated with enhanced bla KPC expression in Tn 3/Tn 4401 chimeras. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 2020. 64(3): 10.1128/aac. 01836-19.
86. Chen L, Mathema B, Pitout JD, DeLeo FR, Kreiswirth BN. Epidemic *Klebsiella pneumoniae* ST258 is a hybrid strain. *mBio*, 2014; 5(3): e01355-14.
87. Mairi A, Pantel A, Sotto A, Lavigne J, Touati A. OXA-48-like carbapenemases producing Enterobacteriaceae in different niches. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis*, 2018; 37(4): 587-604.

88. Lomovskaya O, Sun D, Rubio-Aparicio D, Nelson K, Tsivkovski R, Griffith DC, et al Vaborbactam: Spectrum of Beta-Lactamase Inhibition and Impact of Resistance Mechanisms on Activity in Enterobacteriaceae. *Antimicrob Agents Chemother*, 2017; 61(11).
89. Ehmann DE, Jahic H, Ross PL, Gu RF, Hu J, Durand-Réville TF, et al. Kinetics of avibactam inhibition against Class A, C, and D β -lactamases. *J Biol Chem*, 2013; 288(39): 27960-71.
90. Haidar G, Clancy C, Chen J, Samanta L, Shields RK, Kreiswirth BN, et al Identifying Spectra of Activity and Therapeutic Niches for Ceftazidime-Avibactam and Imipenem-Relebactam against Carbapenem-Resistant Enterobacteriaceae. *Antimicrob Agents Chemother*, 2017; 61(9).
91. Pérez-Blanco V, Redondo-Bravo L, Ruíz-Carrascoso G, Paño-Pardo JR, Gómez-Gil R, Robustillo-Rodela A, et al. Epidemiology and control measures of an OXA-48-producing Enterobacteriaceae hospital-wide oligoclonal outbreak. *Epidemiol Infect*, 2018;146(5): 656-662.
92. Poirel L, Héritier C, Tolün V. Emergence of oxacillinase-mediated resistance to imipenem in *Klebsiella pneumoniae*. *Antimicrob Agents Chemother*, 2004;48(1): 15-22.
93. Pitout JDD, Peirano G, Kock MM, Strydom KA, Matsumura Y. The Global Ascendency of OXA-48-Type Carbapenemases. *Clin Microbiol Rev*, 2019; 33(1).
94. Lascols C, Peirano G, Hackel M, Laupland KB, Pitout JD. Surveillance and molecular epidemiology of *Klebsiella pneumoniae* isolates that produce carbapenemases: first report of OXA-48-like enzymes in North America. *Antimicrob Agents Chemother*, 2013; 57(1): 130-6.
95. Poirel L, Naas T, Nicolas D, Collet L, Bellais S, Cavallo JD, et al Characterization of VIM-2, a carbapenem-hydrolyzing metallo-beta-lactamase and its plasmid- and integron-borne gene from a *Pseudomonas aeruginosa* clinical isolate in France. *Antimicrob Agents Chemother*, 2000; 44(4): 891-897.

96. Lauretti L, Riccio ML, Mazzariol A, Cornaglia G, Amicosante G, Fontana R, et al Cloning and characterization of blaVIM, a new integron-borne metallo-beta-lactamase gene from a *Pseudomonas aeruginosa* clinical isolate. *Antimicrob Agents Chemother*, 1999; 43(7): 1584-90.
97. Kazmierczak KM, Rabine S, Hackel M, McLaughlin RE, Biedenbach DJ, Bouchillon SK, et al. Multiyear, Multinational Survey of the Incidence and Global Distribution of Metallo- β -Lactamase-Producing Enterobacteriaceae and *Pseudomonas aeruginosa*. *Antimicrob Agents Chemother*, 2016; 60(2): 1067-78.
98. Castanheira M, Huband MD, Mendes RE, Flamm RK. Meropenem-Vaborbactam Tested against Contemporary Gram-Negative Isolates Collected Worldwide during 2014, Including Carbapenem-Resistant, KPC-Producing, Multidrug-Resistant, and Extensively Drug-Resistant Enterobacteriaceae. *Antimicrob Agents Chemother*, 2017; 61(9).
99. Castanheira M, Deshpande LM, Mendes RE, Canton R, Sader HS, Jones RN. Variations in the Occurrence of Resistance Phenotypes and Carbapenemase Genes Among Enterobacteriaceae Isolates in 20 Years of the SENTRY Antimicrobial Surveillance Program. *Open Forum Infect Dis*, 2019. 6(1): 23-33.
100. Findlay J, Hopkins KL, Alvarez-Buylla A, Meunier D, Mustafa N, Hill R, et al Characterization of carbapenemase-producing Enterobacteriaceae in the West Midlands region of England: 2007-14. *J Antimicrob Chemother*, 2017;72(4): 1054-1062.
101. Lagatolla C, Edalucci E, Dolzani L, Riccio ML, De Luca F, Medessi E, et al Molecular evolution of metallo-beta-lactamase-producing *Pseudomonas aeruginosa* in a nosocomial setting of high-level endemicity. *J Clin Microbiol*, 2006; 44(7): 2348-53.
102. Tokatlidou D, Tsivitanidou M, Pournaras S, Ikonmidis A, Tsakris A, Sofianou D. Outbreak caused by a multidrug-resistant *Klebsiella pneumoniae* clone carrying blaVIM-12 in a university hospital. *J Clin Microbiol*, 2008; 46(3): 1005-1008.

- 103.** Cagnacci S, Gualco L, Roveta S, Mannelli S, Borgianni L, Docquier JD, et al. Bloodstream infections caused by multidrug-resistant *Klebsiella pneumoniae* producing the carbapenem-hydrolysing VIM-1 metallo-beta-lactamase: first Italian outbreak. *J Antimicrob Chemother*, 2008;61(2): 296-300.
- 104.** Spyropoulou A, Papadimitriou-Olivgeris M, Bartzavali C, Vamvakopoulou S, Marangos M, Spiliopoulou I, et al. A ten-year surveillance study of carbapenemase-producing *Klebsiella pneumoniae* in a tertiary care Greek university hospital: predominance of KPC- over VIM- or NDM-producing isolates. *J Med Microbiol*, 2016; 65(3): 240-246.
- 105.** Galani I, Nafplioti K, Adamou P, Karaiskos I, Giamarellou H, Souli M; Study Collaborators. Nationwide epidemiology of carbapenem resistant *Klebsiella pneumoniae* isolates from Greek hospitals, with regards to plazomicin and aminoglycoside resistance. *BMC Infect Dis*. 2019;19(1):167.
- 106.** Carattoli A, Aschbacher R, March A, Larcher C, Livermore DM, Woodford N. Complete nucleotide sequence of the IncN plasmid pKOX105 encoding VIM-1, QnrS1 and SHV-12 proteins in Enterobacteriaceae from Bolzano, Italy compared with IncN plasmids encoding KPC enzymes in the USA. *J Antimicrob Chemother*. 2010 Oct;65(10):2070-5.
- 107.** Papadimitriou-Olivgeris M, Bartzavali C, Lambropoulou A, Solomou A, Tsiata E, Anastassiou ED, et al. Reversal of carbapenemase-producing *Klebsiella pneumoniae* epidemiology from blaKPC- to blaVIM-harboursing isolates in a Greek ICU after introduction of ceftazidime/avibactam. *J Antimicrob Chemother*. 2019;74(7):2051-2054.
- 108.** Nordmann P, Poirel L. The difficult-to-control spread of carbapenemase producers among Enterobacteriaceae worldwide. *Clin Microbiol Infect*. 2014 Sep;20(9):821-30
- 109.** Dong H, Li Y, Cheng J, Xia Z, Liu W, Yan T, et al. Genomic Epidemiology Insights on NDM-Producing Pathogens Revealed the Pivotal Role of Plasmids on *bla*_{NDM} Transmission. *Microbiol Spectr*. 2022;10(2):e0215621.

110. Castanheira M, Deshpande LM, Mathai D, Bell JM, Jones RN, Mendes RE. Early dissemination of NDM-1- and OXA-181-producing Enterobacteriaceae in Indian hospitals: report from the SENTRY Antimicrobial Surveillance Program, 2006-2007. *Antimicrob Agents Chemother*. 2011;55(3):1274-8.
111. Dortet L, Poirel L, Nordmann P, Worldwide dissemination of the NDM-type carbapenemases in Gram-negative bacteria. *Biomed Res Int*, 2014; 2014: 249856.
112. Watanabe M, Iyobe S, Inoue M, and Mitsuhashi S. Transferable imipenem resistance in *Pseudomonas aeruginosa*. *Antimicrob Agents Chemother*, 1991; 35(1): 147-51.
113. Karlowsky JA, Lob SH, Kazmierczak KM, Badal RE, Young K, Motyl MR, Sahm DF. *In Vitro* Activity of Imipenem against Carbapenemase-Positive Enterobacteriaceae Isolates Collected by the SMART Global Surveillance Program from 2008 to 2014. *J Clin Microbiol*. 2017;55(6):1638-1649. .
114. Carattoli A. Plasmids and the spread of resistance. *Int J Med Microbiol*, 2013; 303(6-7): 298-304.
115. Espedido BA, Partridge SR, Iredell JR. bla(IMP-4) in different genetic contexts in Enterobacteriaceae isolates from Australia. *Antimicrob Agents Chemother*, 2008; 52(8): 2984-7.
116. Masi M, Winterhalter M, Pagès JM. Outer membrane porins. *Bacterial cell walls and membranes*, 2019: 79-123.
117. Mmatli M, Mbelle NM, Maningi NE, Osei Sekyere J. Emerging transcriptional and genomic mechanisms mediating carbapenem and polymyxin resistance in Enterobacteriaceae: a systematic review of current reports. *Msystems*, 2020; 5(6): 10.1128/msystems. 00783-20.
118. Wu LT, Guo MK, Ke SC, Lin YP, Pang YC, Nguyen HV, Chen CM. Characterization of the Genetic Background of KPC-2-Producing *Klebsiella pneumoniae* with Insertion Elements Disrupting the ompK36 Porin Gene. *Microb Drug Resist*. 2020 Sep;26(9):1050-1057. .

119. Hamzaoui Z, Ocampo-Sosa A, Fernandez Martinez M, Landolsi S, Ferjani S, Maamar E, et al. Role of association of OmpK35 and OmpK36 alteration and blaESBL and/or blaAmpC genes in conferring carbapenem resistance among non-carbapenemase-producing *Klebsiella pneumoniae*. *Int J Antimicrob Agents*. 2018;52(6):898-905.
120. Pal A, Tripathi A. Quercetin inhibits carbapenemase and efflux pump activities among carbapenem-resistant Gram-negative bacteria. *Apmis*, 2020;128(3): 251-259.
121. Bradley JS, Garau J, Lode H, Rolston KV, Wilson SE, Quinn J. Carbapenems in clinical practice: a guide to their use in serious infection. *Int J Antimicrob Agents*, 1999;11(2): 93-100.
122. Kahan JS, Kahan FM, Goegelman R, Currie SA, Jackson M, Stapley EO, et al Thienamycin, a new beta-lactam antibiotic. I. Discovery, taxonomy, isolation and physical properties. *J Antibiot (Tokyo)*, 1979; 32(1): 1-12.
123. Armstrong T, Fenn SJ, Hardie KR, Profile: Carbapenems: a broad-spectrum antibiotic. *J Med Microbiol*, 2021: 70(12).
124. Trebosc V, Schellhorn B, Schill J, Lucchini V, Bühler J, Bourotte M, et al In vitro activity of rifabutin against 293 contemporary carbapenem-resistant *Acinetobacter baumannii* clinical isolates and characterization of rifabutin mode of action and resistance mechanisms. *J Antimicrob Chemother*, 2020;75(12): 3552-3562.
125. Sumita Y, Fukasawa M. Potent activity of meropenem against *Escherichia coli* arising from its simultaneous binding to penicillin-binding proteins 2 and 3. *J Antimicrob Chemother*, 1995; 36(1): 53-64.
126. Kiratisin P, Chongthaleong A, Tan TY, Lagamayo E, Roberts S, Garcia J, et al Comparative in vitro activity of carbapenems against major Gram-negative pathogens: results of Asia-Pacific surveillance from the COMPACT II study. *International journal of antimicrobial agents*, 2012; 39(4): 311-316.

127. Kahan FM, Kropp H, Sundelof JG, Birnbaum J. Thienamycin: development of imipenen-cilastatin. *J Antimicrob Chemother*, 1983;12: 1-35.
128. Baughman RP. The use of carbapenems in the treatment of serious infections. *J Intensive Care Med*, 2009; 24(4): 230-41.
129. Prescott WA, Gentile AE, Nagel JL, Pettit RS. Continuous-infusion antipseudomonal Beta-lactam therapy in patients with cystic fibrosis. *Pt*, 2011; 36(11): 723-63.
130. Bush K. Proliferation and significance of clinically relevant β -lactamases. *Ann N Y Acad Sci*, 2013;1277: 84-90.
131. Bassetti M, Nicolini L, Esposito S, Righi E, Viscoli C. Current status of newer carbapenems. *Curr Med Chem*, 2009; 16(5): 564-75.
132. Jorgensen JH, Maher LA, Howell AW. Activity of meropenem against antibiotic-resistant or infrequently encountered gram-negative bacilli. *Antimicrob Agents Chemother*, 1991; 35(11): 2410-4.
133. Nordmann P, Picazo JJ, Mutters R, Korten V, Quintana A, Laeuffer JM, et al. Comparative activity of carbapenem testing: the COMPACT study. *J Antimicrob Chemother*, 2011; 66(5): 1070-8.
134. Kattan JN, Villegas MV, Quinn J. New developments in carbapenems. *Clin Microbiol Infect*, 2008; 14(12): 1102-11.
135. Mandell L. Doripenem: a new carbapenem in the treatment of nosocomial infection. *Clinical Infectious Diseases*, 2009; 49(1): 1-3.
136. Papp-Wallace KM, Endimiani A, Taracila MA, Bonomo RA. Carbapenems: past, present, and future. *Antimicrob Agents Chemother*, 2011; 55(11): 4943-60.
137. Fujimoto K, Takemoto K, Hatano K, Nakai T, Terashita S, Matsumoto M, et al. Novel carbapenem antibiotics for parenteral and oral applications: in vitro and in

vivo activities of 2-aryl carbapenems and their pharmacokinetics in laboratory animals. *Antimicrob Agents Chemother*, 2013;57(2): 697-707.

138. Queenan AM, Shang W, Flamm R, and Bush K. Hydrolysis and inhibition profiles of beta-lactamases from molecular classes A to D with doripenem, imipenem, and meropenem. *Antimicrob Agents Chemother*, 2010; 54(1): 565-9.
139. Mandell L, Doripenem: a new carbapenem in the treatment of nosocomial infection. *Clin Infect Dis*, 2009; 49(1): 1-3.
140. Livermore DM, Mushtaq S, Warner M. Activity of the anti-MRSA carbapenem razupenem (PTZ601) against Enterobacteriaceae with defined resistance mechanisms. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 2009; 64(2): 330-335.
141. Gupta VK, Maier G, Gasink L, Ek A, Fudeman M, Srivastava, et al. Absorption, Metabolism, and Excretion of ((14)C)-Tebipenem Pivoxil Hydrobromide (TBP-PI-HBr) in Healthy Male Subjects. *Antimicrob Agents Chemother*, 2023; 67(4): e0150922.
142. Wang X, Zhang X, Zong Z, Yu R, Lv X, Xin J, et al Biapenem versus meropenem in the treatment of bacterial infections: a multicenter, randomized, controlled clinical trial. *Indian J Med Res*, 2013;138(6): 995-1002.
143. Hugonnet JE, Tremblay LW, Boshoff HI, Barry CE, and Blanchard JS. Meropenem-clavulanate is effective against extensively drug-resistant *Mycobacterium tuberculosis*. *Science*, 2009; 323(5918): 1215-8.
144. Markovska R, Stankova P, Stoeva T, Keuleyan E, Mihova K, Boyanova L. In Vitro Antimicrobial Activity of Five Newly Approved Antibiotics against Carbapenemase-Producing Enterobacteria-A Pilot Study in Bulgaria. *Antibiotics (Basel)*. 2024;13(1):81.
145. Tamma PD, Simner PJ. Phenotypic Detection of Carbapenemase-Producing Organisms from Clinical Isolates. *J Clin Microbiol*, 2018;56(11).

- 146.** Moguet C, Gonzalez C, Naas T, Simon S, Volland H. Multiplex Lateral Flow Immunoassay for the Detection of Expanded-Spectrum Hydrolysis and CTX-M Enzymes. *Diagnostics (Basel)*, 2022; 12(1).
- 147.** Girlich D, Poirel L, Nordmann P. Value of the modified Hodge test for detection of emerging carbapenemases in Enterobacteriaceae. *Journal Of Clinical Microbiology*, 2012;50(2): 477-479.
- 148.** Carvalhaes CG, Picao RC, Nicoletti AG, Xavier DE, Gales AC. Cloverleaf test (modified Hodge test) for detecting carbapenemase production in *Klebsiella pneumoniae*: be aware of false positive results. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 2010;65(2): 249-251.
- 149.** Tamma PD, Opene BN, Gluck A, Chambers KK, Carroll KC, Simner PJ. Comparison of 11 phenotypic assays for accurate detection of carbapenemase-producing Enterobacteriaceae. *Journal of Clinical Microbiology*, 2017; 55(4): 1046-1055.
- 150.** Humphries R, Bobenchik AM, Hindler JA, Schuetz AN. Overview of changes to the clinical and laboratory standards institute performance standards for antimicrobial susceptibility testing, M100. *Journal of clinical microbiology*, 2021; 59(12): 10.1128/jcm. 00213-21.
- 151.** Sun K, Xu X, Yan J, Zhang L. Evaluation of six phenotypic methods for the detection of carbapenemases in Gram-negative bacteria with characterized resistance mechanisms. *Annals of laboratory medicine*, 2017; 37(4): 305-312.
- 152.** van der Zwaluw K, de Haan A, Pluister GN, Bootsma HJ, de Neeling AJ, Schouls LM. The carbapenem inactivation method (CIM), a simple and low-cost alternative for the Carba NP test to assess phenotypic carbapenemase activity in gram-negative rods. *PloS one*, 2015; 10(3): e0123690.
- 153.** Sfeir MM, Hayden JA, Fauntleroy KA, Mazur C, Johnson JK, Simner PJ, et al. EDTA-Modified Carbapenem Inactivation Method: a Phenotypic Method for

Detecting Metallo- β -Lactamase-Producing Enterobacteriaceae. *J Clin Microbiol.* 2019; 57(5): e01757-18.

154. Franklin C, Liolios L, Peleg AY. Phenotypic detection of carbapenem-susceptible metallo- β -lactamase-producing gram-negative bacilli in the clinical laboratory. *Journal of Clinical Microbiology*, 2006; 44(9): 3139-3144.
155. Yagi T, Wachino JI, Kurokawa H, Suzuki S, Yamane K, Doi Y, et al Practical methods using boronic acid compounds for identification of class C β -lactamase-producing *Klebsiella pneumoniae* and *Escherichia coli*. *Journal of Clinical Microbiology*, 2005;43(6): 2551-2558.
156. Doi Y, Potoski BA, Adams-Haduch JM, Sidjabat HE, Pasculle AW, Paterson DL. Simple disk-based method for detection of *Klebsiella pneumoniae* carbapenemase-type β -lactamase by use of a boronic acid compound. *Journal of clinical microbiology*, 2008;46(12): 4083-4086.
157. Vasoo S, Cunningham SA, Kohner PC, Simner PJ, Mandrekar JN, Lolans K, et al Comparison of a novel, rapid chromogenic biochemical assay, the Carba NP test, with the modified Hodge test for detection of carbapenemase-producing Gram-negative bacilli. *Journal of clinical microbiology*, 2013; 51(9): 3097-3101.
158. Nordmann P, Gniadkowski M, Giske C, Poirel L, Woodford N, Miriagou V, et al Identification and screening of carbapenemase-producing Enterobacteriaceae. *Clinical Microbiology and Infection*, 2012;18(5): 432-438.
159. Tijet N, Boyd D, Patel SN, Mulvey MR, Melano RG. Evaluation of the Carba NP test for rapid detection of carbapenemase-producing Enterobacteriaceae and *Pseudomonas aeruginosa*. *Antimicrobial agents and chemotherapy*, 2013; 57(9): 4578-4580.
160. Papagiannitsis CC, Študentová V, Izdebski R, Oikonomou O, Pfeifer Y, Petinaki E. et al Matrix-assisted laser desorption ionization–time of flight mass spectrometry meropenem hydrolysis assay with NH_4HCO_3 , a reliable tool for

direct detection of carbapenemase activity. *Journal of Clinical Microbiology*, 2015; 53(5): 1731-1735.

161. Hrabák J, Chudáčková E, Walková R. Matrix-assisted laser desorption ionization–time of flight (MALDI-TOF) mass spectrometry for detection of antibiotic resistance mechanisms: from research to routine diagnosis. *Clinical Microbiology Reviews*, 2013; 26(1): 103-114.
162. Mirande C, Canard I, Buffet Croix Blanche S, Charrier JP, van Belkum A, Welker M, Chatellier S. Rapid detection of carbapenemase activity: benefits and weaknesses of MALDI-TOF MS. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis*. 2015;34(11):2225-34.
163. Lau AF, Wang H, Weingarten RA, Drake SK, Suffredini AF, Garfield MK, et al. A rapid matrix-assisted laser desorption ionization–time of flight mass spectrometry-based method for single-plasmid tracking in an outbreak of carbapenem-resistant Enterobacteriaceae. *Journal of clinical microbiology*, 2014. 52(8): 2804-2812.
164. Boutal H, Vogel A, Bernabeu S, Devilliers K, Creton E, Cotellon G, et al. A multiplex lateral flow immunoassay for the rapid identification of NDM-, KPC-, IMP-and VIM-type and OXA-48-like carbapenemase-producing Enterobacteriaceae. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 2018;73(4): 909-915.
165. Lutgring JD, Limbago BM. The Problem of Carbapenemase-Producing-Carbapenem-Resistant-Enterobacteriaceae Detection. *J Clin Microbiol*, 2016; 54(3): 529-34.
166. Cuzon G, Naas T, Bogaerts P, Glupczynski Y, Nordmann P. Evaluation of a DNA microarray for the rapid detection of extended-spectrum β -lactamases (TEM, SHV and CTX-M), plasmid-mediated cephalosporinases (CMY-2-like, DHA, FOX, ACC-1, ACT/MIR and CMY-1-like/MOX) and carbapenemases (KPC, OXA-48, VIM, IMP and NDM). *J Antimicrob Chemother*. 2012;67(8):1865-9

167. Dodémont M, De Mendonça R, Nonhoff C, Roisin S, Denis O. Performance of the Verigene Gram-negative blood culture assay for rapid detection of bacteria and resistance determinants. *J Clin Microbiol.* 2014;52(8):3085-7.
168. Mathers AJ, Stoesser N, Sheppard AE, Pankhurst L, Giess A, Yeh AJ, et al *Klebsiella pneumoniae* carbapenemase (KPC)-producing *K. pneumoniae* at a single institution: insights into endemicity from whole-genome sequencing. *Antimicrob Agents Chemother*, 2015. 59(3): 1656-63.
169. Uluçam Atay G, Bayramoğlu Z, Tosun İ, Ünsal Ü. Karbapeneme dirençli *acinetobacter baumannii* klinik izolatlarının moleküler epidemiyoloji açısından araştırılmasında üç farklı yöntemin karşılaştırılması. *Mikrobiyol Bul* 2024;58(2):97-112
170. Karlowsky JA, Biedenbach DJ, Kazmierczak KM, Stone GG, Sahm DF. Activity of Ceftazidime-Avibactam against Extended-Spectrum- and AmpC β -Lactamase-Producing Enterobacteriaceae Collected in the INFORM Global Surveillance Study from 2012 to 2014. *Antimicrob Agents Chemother*, 2016; 60(5): 2849-57.
171. Zhanel GG, Lawson CD, Adam H, Schweizer F, Zelenitsky S, Lagacé-Wiens PR, et al Ceftazidime-avibactam: a novel cephalosporin/ β -lactamase inhibitor combination. *Drugs*, 2013; 73(2): 159-77.
172. Sousa A, Pérez-Rodríguez MT, Soto A, Rodríguez L, Pérez-Landeiro A, Martínez-Lamas L, et al Effectiveness of ceftazidime/avibactam as salvage therapy for treatment of infections due to OXA-48 carbapenemase-producing Enterobacteriaceae. *J Antimicrob Chemother*, 2018;73(11): 3170-3175.
173. De la Calle C, Rodríguez O, Morata L, Marco F, Cardozo C, García-Vidal C, et al Clinical characteristics and prognosis of infections caused by OXA-48 carbapenemase-producing Enterobacteriaceae in patients treated with ceftazidime-avibactam. *Int J Antimicrob Agents*, 2019;53(4): 520-524.

174. Campanella TA, Gallagher JC. A Clinical Review and Critical Evaluation of Imipenem-Relebactam: Evidence to Date. *Infect Drug Resist*, 2020; 13: 4297-4308.
175. Smith JR, Rybak JM, Claeys KC. Imipenem-Cilastatin-Relebactam: A Novel β -Lactam- β -Lactamase Inhibitor Combination for the Treatment of Multidrug-Resistant Gram-Negative Infections. *Pharmacotherapy*, 2020;40(4): 343-356.
176. Hecker SJ, Reddy KR, Totrov M, Hirst GC, Lomovskaya O, Griffith DC. et al Discovery of a Cyclic Boronic Acid β -Lactamase Inhibitor (RPX7009) with Utility vs Class A Serine Carbapenemases. *J Med Chem*, 2015; 58(9): 3682-92.
177. Tompkins K, van Duin D. Treatment for carbapenem-resistant Enterobacterales infections: recent advances and future directions. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis*, 2021;40(10): 2053-2068.
178. Ito A, Sato T, Ota M, Takemura M, Nishikawa T, Toba S. et al In Vitro Antibacterial Properties of Cefiderocol, a Novel Siderophore Cephalosporin, against Gram-Negative Bacteria. *Antimicrob Agents Chemother*, 2018; 62(1).
179. Cho JC, Fiorenza MA, Estrada SJ. Ceftolozane/Tazobactam: A Novel Cephalosporin/ β -Lactamase Inhibitor Combination. *Pharmacotherapy*, 2015; 35(7): 701-15.
180. Yahav D, Giske CG, Grāmatniece A, Abodakpi H, Tam VH, Leibovici L. New β -Lactam- β -Lactamase Inhibitor Combinations. *Clin Microbiol Rev*, 2020;34(1).
181. Metersky ML, Kalil AC. Management of Ventilator-Associated Pneumonia: Guidelines. *Infect Dis Clin North Am*, 2024;38(1): 87-101.
182. Phillips-Houlbracq M, Ricard JD, Foucrier A, Yoder-Himes D, Gaudry S, Bex J. et al. Pathophysiology of Escherichia coli pneumonia: Respective contribution of pathogenicity islands to virulence. *Int J Med Microbiol*, 2018. 308(2): 290-296.

- 183.** Ambaras Khan R, Aziz Z. The methodological quality of guidelines for hospital-acquired pneumonia and ventilator-associated pneumonia: A systematic review. *J Clin Pharm Ther*, 2018;43(4): 450-459.
- 184.** Korucu B, Altok K. Komplike Üriner Sistem Enfeksiyonlarına Yaklaşım. *Türkiye Klinikleri Nephrology-Special Topics*, 2017;10(3): 182-185.
- 185.** Rubin RH, Shapiro ED, Andriole VT, Davis RJ, and Stamm WE. Evaluation of new anti-infective drugs for the treatment of urinary tract infection. *Infectious Diseases Society of America and the Food and Drug Administration. Clin Infect Dis*, 1992;15(1): 216-227.
- 186.** Johansen TE, Botto H, Cek M, Grabe M, Tenke P, Wagenlehner FM, Naber KG. Critical review of current definitions of urinary tract infections and proposal of an EAU/ESIU classification system. *Int J Antimicrob Agents*. 2011;38 Suppl:64-70.
- 187.** Şirin FB, Şirin MC. Kan dolaşımı enfeksiyonlarının erken tanısında inflamatuvar belirteçlerin değerlendirilmesi. *Medical Journal of Süleyman Demirel University*, 2021; 28(2): 291-299.
- 188.** Bharadwaj R, Bal A, Kapila K, Mave V, Gupta A. Blood stream infections. *BioMed research international*, 2014. 2014.
- 189.** Bell T, O’Grady N. Prevention of central line-associated bloodstream infections. *Infectious Disease Clinics*, 2017; 31(3): 551-559.
- 190.** Weinstein MP Performance standards for antimicrobial susceptibility testing. (No Title), 2018.
- 191.** EUCAST, T. European committee on antimicrobial susceptibility testing. Breakpoint Tables for Interpretation of MICs and Zone Diameters. Version 10.0, 2020.
- 192.** Zong Z, Feng Y, McNally A. Carbapenem and Colistin Resistance in *Enterobacter*: Determinants and Clones. *Trends Microbiol*. 2021;29(6):473-476.

- 193.** Zhang Y, Wang Q, Yin Y, Chen H, Jin L, Gu B, et al Epidemiology of carbapenem-resistant Enterobacteriaceae infections: report from the China CRE Network. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 2018;62(2): 10.1128/aac.01882-17.
- 194.** Sader HS, Carvalhaes CG, Arends SR, Castanheira M, Mendes RE. Aztreonam/avibactam activity against clinical isolates of Enterobacterales collected in Europe, Asia and Latin America in 2019. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 2021;76(3): 659-666.
- 195.** Control, E.C.D.P. Surveillance of antimicrobial resistance in Europe, 2023 data - executive summary. <https://www.ecdc.europa.eu/en/publications-data/surveillance-antimicrobial-resistance-europe-2023-data-executive-summary> 18.11.2024.
- 196.** Suemer S, Ayguen G, Akalin E, Akova M, Köksal I., Common problems and solutions in the management of resistant Gram-negative bacterial infections: expert opinion on clinical practice. *Flora Infeksiyon Hastalıkları Ve Klinik Mikrobiyoloji Dergisi*, 2024. 29(1).
- 197.** Mataseje LF, Abdesselam K, Vachon J, Mitchel R, Bryce E, Roscoe D, et al Results from the Canadian Nosocomial Infection Surveillance Program on Carbapenemase-Producing Enterobacteriaceae, 2010 to 2014. *Antimicrob Agents Chemother*, 2016;60(11): 6787-6794.
- 198.** van DuinD, Arias C, Komarow L. Multi-Drug Resistant Organism Network Investigators. Molecular and clinical epidemiology of carbapenem-resistant Enterobacterales in the USA (CRACKLE-2): a prospective cohort study. *Lancet Infect Dis*, 2020;20: 731-741.
- 199.** Rocha VFD, Barbosa MS, Leal HF, Silva GEO, Sales N.M., Monteiro SS, et al Prolonged outbreak of carbapenem and colistin-resistant *Klebsiella pneumoniae* at a large tertiary hospital in Brazil. *Frontiers in microbiology*, 2022;13: 831770.

200. Tsilipounidaki K, Athanasakopoulou Z, Müller E, Burgold-Voigt S, Florou Z, Braun SD, et al Plethora of resistance genes in carbapenem-resistant gram-negative bacteria in Greece: no end to a continuous genetic evolution. *Microorganisms*, 2022; 10(1): 159.
201. Paveenkittiporn W, Lyman M, Biedron C, Chea N, Bunthi C, Kolwaite A, et al Molecular epidemiology of carbapenem-resistant Enterobacterales in Thailand, 2016–2018. *Antimicrobial Resistance & Infection Control*, 2021;10(1): 88.
202. Garg A, Garg J, Kumar S, Bhattacharya A, Agarwal S, Upadhyay G. Molecular epidemiology & therapeutic options of carbapenem-resistant Gram-negative bacteria. *Indian Journal of Medical Research*, 2019;149(2): 285-289.
203. Cakar A, Akyon Y, Gur D, Karatuna O, Ogunc D, Baysan B. et al Investigation of carbapenemases in carbapenem-resistant *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae* strains isolated in 2014 in Turkey. *Mikrobiyoloji Bulteni*, 2016;50(1).
204. Durmuş MA, Aydın MD, Detection of Carbapenem Resistance Using the Genotypic and Phenotypic Methods in *Klebsiella pneumoniae*. *Duzce Medical Journal*, 2024; 26(1): 15-20.
205. Ma J, Song X, Li M, Yu Z, Cheng W, Yu Z. et al Global spread of carbapenem-resistant Enterobacteriaceae: Epidemiological features, resistance mechanisms, detection and therapy. *Microbiol Res*, 2023; 266: 127249.
206. Xu L, Sun X, Ma X. Systematic review and meta-analysis of mortality of patients infected with carbapenem-resistant *Klebsiella pneumoniae*. *Ann Clin Microbiol Antimicrob*, 2017; 16(1): 18.
207. Bulman ZP, Cao L, Curry BN, Biagi M, Vivo A, Suda KJ, et al Ceftazidime/avibactam alone or in combination with an aminoglycoside for treatment of carbapenem-resistant Enterobacterales infections: A retrospective cohort study. *Int J Antimicrob Agents*, 2024; 64(5): 107321.

- 208.** Hu Q, Chen J, Sun S, Deng S. Mortality-Related Risk Factors and Novel Antimicrobial Regimens for Carbapenem-Resistant Enterobacteriaceae Infections: A Systematic Review. *Infect Drug Resist*, 2022; 15: 6907-6926.
- 209.** Palacios-Baena ZR, Giannella M, Manissero D, Rodríguez-Baño JV, Lopes S, et al Risk factors for carbapenem-resistant Gram-negative bacterial infections: a systematic review. *Clinical Microbiology and Infection*, 2021;27(2): 228-235.
- 210.** Eser F, Yılmaz GR, Güner R, Tufan ZK, Güven T, Açıkgoz ZC, et al. Karbapenem dirençli enterobacteriaceae enfeksiyonları: Risk faktörleri. *Akdeniz Tıp Dergisi*, 2018; 4(2): 144-151.
- 211.** Aksu Koca N, Baran I, Yetkin MA, Kanyılmaz D, Mumcuoğlu İ, Yağmurdur H, et al. Carbapenem-resistant *Acinetobacter baumannii* in Adult Intensive Care Units: Risk Factors for Colonization and Infection. *Mediterranean Journal of Infection, Microbes & Antimicrobials*, 2018.
- 212.** Tamma PD, Heil EL, Justo JA, Mathers AJ, Satlin MJ, Bonomo RA. Infectious Diseases Society of America 2024 Guidance on the Treatment of Antimicrobial-Resistant Gram-Negative Infections. *Clinical Infectious Diseases*, 2024.
- 213.** Torres-Castillo LC, Fandiño C, Ramos M, Ramos-Castaneda JA. Rioseco ML, and Juliet C. In vitro activity of ceftazidime-avibactam against Gram-negative strains in Chile 2015-2021. *J Glob Antimicrob Resist*, 2023;35: 143-148.
- 214.** Paul M, Carrara E, Retamar TT, Bitterman R, Bonomo RA, et al European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases (ESCMID) guidelines for the treatment of infections caused by multidrug-resistant Gram-negative bacilli (endorsed by European society of intensive care medicine). *Clinical Microbiology and Infection*, 2022;28(4): 521-547.

