



T.C. SAğLIK BİLİMLERİ ÜNİVERSİTESİ
ANKARA SAğLIK UYGULAMA VE ARAşTIRMA MERKEZİ
TIBBİ MİKROBİYOLOJİ KLİNİğİ

**KARBAPENEM DİRENÇLİ *KLEBSIELLA PNEUMONIAE* KÖKENLERİNDE YILLAR
İÇERİSİNDE KOLİSTİN MİNİMAL İNHİBİTÖR KONSANTRASYON (MİK) DEğERİNDEKİ
ARTIŞIN İN VİTRO DEğERLENDİRİLMESİ**

Dr. İsmail Selçuk Aygar

TIPTA UZMANLIK TEZİ

ANKARA-2017



T.C. SAğLIK BİLİMLERİ ÜNİVERSİTESİ
ANKARA SAğLIK UYGULAMA VE ARAşTIRMA MERKEZİ
TIBBİ MİKROBİYOLOJİ KLİNİğİ

**KARBAPENEM DİRENÇLİ *KLEBSIELLA PNEUMONIAE* KÖKENLERİNDE
YILLAR İÇERİSİNDE KOLİSTİN MİNİMAL İNHİBİTÖR KONSANTRASYON
(MİK) DEğERİNDEKİ ARTIŞIN İN VİTRO DEğERLENDİRİLMESİ**

Dr. İsmail Selçuk Aygar

Tez Danışmanı

Doç. Dr. Bedia Dinç

Uzm. Dr. Serap Yağcı

TIPTA UZMANLIK TEZİ

ANKARA-2017

TEŞEKKÜR

Benim bugünlere gelmemde vesile olan sevgili annem Fatma Aygar ve kıymetli babam Çelebi Aygar'a,

Her zaman arkamda desteğini ve kalbimde sevgisini hissettiğim eşim Dr. Gamze Taş Aygar'a

Göz aydınlığım oğlum Ahmet Tuğrul Aygar'a

Tezin istatistiksel ayağında yardımcı olan kardeşim Dr. Hatice Aygar'a

Kardeşim aynı zamanda arkadaşım Mustafa Göktuğ Aygar'a

Asistanlık eğitimim süresince kimi zaman bir anne kimi zaman bir abla kimi zaman ise bir arkadaş yakınlığını hissettiğim Doç. Dr. Bedia Dinç hocama,

Tezime katkılarından dolayı Uzm. Dr. Serap Yağcı'ya

Dostluklarından emin olduğum kardeşlerim Dr. Kaan Alışar, Uzm. Dr. Samet Kaya, Dr. Samet Genez ve Dr. Mehmet Beşiroğlu'na

Asistanlığımın başlarında beraber çalışma ve tanıma fırsatı bulduğum sevgili arkadaşlarım Dr. Meltem Yardım ve Dr. Nahide T.kahraman'a

Tüm kalbimle teşekkürlerimi sunarım.

ÖZET

Karbapenem dirençli *Klebsiella pneumoniae* kökenlerinde yıllar içerisinde kolistin MİK değerindeki artışın in vitro değerlendirilmesi

Klebsiella pneumoniae (*K. pneumoniae*) insanda deride, gastrointestinal florada ve nazofarinkste kolonize olarak bulunabilen bakteriler arasındadır. Geçmişte pnömoni gibi toplumdaki kazanılmış enfeksiyonların önemli bir sebebi olarak görülmekteyken; 1970'li yılların başında *K. pneumoniae*'ya bağlı enfeksiyonların çeşitliliği ve epidemiyolojisi değişmiş, bu bakteri önemli bir nozokomiyal etken olarak önümüze çıkmıştır.

K. pneumoniae enfeksiyonlarında kullanılan antibiyotiklere karşı direnç gelişimi söz konusudur. Özellikle *K. pneumoniae* tedavisinde öne çıkan karbapenem grubuna karşı gelişen direnç birçok zorluğu da beraberinde taşımaktadır. Karbapenem direnci; gram negatif bakterilerde artmış efluks pompa sistemi, azalmış dış membran geçirgenliği veya karbapenemaz enzimlerinin varlığı ile meydana gelebilmektedir.

Karbapeneme direnç durumunda ise klinisyenlerin ilk başvurduğu antibiyotiklerden biri de kolistindir. Kolistin polimiksin ailesinin bir üyesidir ve polipeptid yapıdadır. İlk kez 2009'da Amerika'dan bildirilen bir vakayla karbapenem dirençli *K. pneumoniae* suşlarında kolistine karşı da direnç geliştiği tespit edilmiştir ve bu direnç her geçen gün artmaktadır.

Çalışmamızda, Ocak 2015 ve Temmuz 2017 tarihleri arasında Ankara Eğitim ve Araştırma Hastanesi klinik örneklerinden izole edilen karbapenem dirençli *K. pneumoniae* suşlarında sıvı mikrodilüsyon yöntemiyle kolistin minimal inhibitör konsantrasyon (MİK) değerlerine bakılıp yıllar içerisinde bu MİK seviyelerinde anlamlı bir artış olup olmadığı irdelendi. İzolatlar ilk önce otomatize sistemle çalışıldı (Phoenix 100, Becton Dickinson, ABD), daha sonrasında karbapenem dirençli olarak tanımlanan *K. pneumoniae* suşlarının karbapenem direnç durumları

disk difüzyon yöntemiyle incelendi (Becton Dickinson, ABD), Bu suşların kolistin MİK düzeyleri, sıvı mikrodilüsyon yöntemiyle incelendikten sonra, hem otomatize sistemdeki kolistin MİK değerlerine ait veriler hem de sıvı mikrodilüsyon yöntemiyle elde edilen MİK değerlerine ait veriler bilgisayar ortamına aktarılarak IBM SPSS (version 15.0) istatistik programında değerlendirildi. Verilerin analizinde Kruskal Wallis (Bonferroni düzeltmeli), X^2 ve bağımlı değişkenlerin analizinde Wilcoxon testi kullanıldı.

Çalışmamıza 2015 yılına ait 16, 2016 yılına ait 26, 2017 yılına ait 24 olmak üzere toplam 66 karbapenem dirençli *K. pneumoniae* suşu dahil edildi. Bu suşlardan 2015 yılında 5 (%31), 2016 yılında 7 (%26), 2017 yılında 11 (%45) olmak üzere toplam 23 (%34) suş kolistine dirençli olarak tespit edildi. Yapılan istatistiksel değerlendirmeye yıllar içerisinde kolistin MİK değerlerinde bir artış olduğu tespit edildi ancak bu artış istatistiksel olarak anlamlı değildir. ($p= 0.352$)

Karbapenem dirençli *K. pneumoniae* izolatlarında tespit edilen kolistin direncinin kaygı verici boyutlarda olduğu çalışmamızda yer alan izolatların yaklaşık üçte birinde bu direncin tespit edilmiş olması ile de kendini göstermektedir. Bu durum tek başına veya kombine tedavi seçeneklerini de azaltmakta bu izolatların ileriki yıllarda tedavisinin daha da zorlaşacağını ve yeni tedavi stratejileri üzerinde çalışılması gerektiğini göstermektedir.

Anahtar sözcükler: Karbapenem dirençli *Klebsiella pneumoniae*, kolistin direnci, kolistin MİK düzeyi

ABSTRACT

In vitro evaluation of the increase in colistin MIC value over years in carbapenem resistant *Klebsiella pneumoniae* strains

Klebsiella pneumoniae (*K. pneumoniae*) is a bacteria which is colonized in the gastrointestinal flora, skin and nasopharynx. In the past it was seen as an important cause of community-acquired infections such as pneumonia. At the beginning of the 1970s, the diversity and epidemiology of infections due to *K. pneumoniae* dramatically changed and this bacterium became an important nosocomial agent.

K. pneumoniae has developed resistance to antibiotics which are used in treatment. Especially resistance to the carbapenem group which is prominent in the treatment is worrisome. Carbapenem resistance can occur with reduced external membrane permeability, efflux pump system or the presence of carbapenemase enzymes in gram-negative bacteria.

In case of carbapenem resistance, first choice of clinicians is colistin. Colistin is a member of polymyxins family and the colistin molecule has a polypeptide structure. In 2009, a case was reported from America evaluating colistin resistance in carbapenem-resistant *K. pneumoniae* isolates.

In our study, carbapenem resistant *K. pneumoniae* strains isolated from Ankara Education and Research Hospital clinics between January 2015 and July 2017 were included. We studied the colistin minimal inhibitor concentration (MIC) values by broth microdilution method and investigated whether there was a significant increase in these MIC values over the years. The isolates were first studied with an automated system (Phoenix 100, Beckton Dickinson, USA) and the carbapenem resistance status of the carbapenem resistant *K. pneumoniae* strains was examined by disk diffusion method (Beckton Dickinson, USA). The colistin MIC levels of these strains were examined by broth microdilution method. MIC values

obtained by automated system and broth microdilution method were evaluated in IBM SPSS (version 15.0) package program in computer environment.

The Kruskal-Wallis(Bonferroni correction), analysis of data; X² and Wilcoxon test was used to analyze the dependent variables. A total of 66 carbapenem resistant *K. pneumoniae* strains were included, 16 of which were from 2015, 26 from 2016 and 24 from 2017. 23 (34%) of these strains were identified as resistant to colistin, 5 (31%) in 2015, 7 (26%) in 2016 and 11 (45%) in 2017.

Statistical evaluation revealed that there was an increase in MIC values of colistin over the years but this increase was not considered significant. (p=0.352). In conclusion, colistin resistance in carbapenem resistant *K. pneumoniae* isolates is serious.

Resistance to other antibiotics, which is a combination or single antibiotic treatment option for colistin and carbapenem resistant *K. pneumoniae* strains; also suggests that treatment of these isolates in the future will be even more difficult and new treatment modalities should be studied.

Key words: Carbapenem-resistant *Klebsiella pneumoniae*, colistin resistance, colistin MIC level

İÇİNDEKİLER

TEŞEKKÜR.....	ii
ÖZET.....	iii
ABSTRACT.....	v
İÇİNDEKİLER	vii
KISALTMALAR DİZİNİ.....	viii
ŞEKİLLER DİZİNİ	x
GRAFİK DİZİNİ	xi
TABLOLAR DİZİNİ	xii
1.GİRİŞ VE AMAÇ	1
2. GENEL BİLGİLER	4
2.1. <i>Klebsiella pneumoniae</i>	4
2.2. Karbapenemler	8
2.3. Karbapenemlere Direnç Mekanizmaları	11
2.4. Karbapenem Direncinin ve Karbapenemaz Aktivitesinin Saptanması	16
2.5.Çok İlaça Dirençli <i>Klebsiella pneumonia</i> Kaynaklı Enfeksiyonlarda Tedavi Seçenekleri	23
2.6 .Kolistin.....	24
3. GEREÇ VE YÖNTEM	33
3.1 <i>Klebsiella pneumoniae</i> izolatlarının çalışmaya dahil edilme şartları.....	33
3. 2. <i>Klebsiella pneumoniae</i> suşlarının identifikasyonu ve duyarlılık çalışması.....	33
3.3 İstatiksel Analiz.....	39
4. BULGULAR	40
5. TARTIŞMA	44
6. SONUÇ VE ÖNERİ.....	49
7.KAYNAKLAR	51
8. EKLER.....	65
9. ÖZGEÇMİŞ	71

KISALTMALAR DİZİNİ

6-APA	:	6-aminopenisilanik asid
AIM-1	:	Adelaide Imipenemase
ARI-1	:	<i>Acinetobacter</i> Resistant to Imipenem
CLSI	:	Clinical Laboratory Standards Institute
CMS	:	Kolistimetat sodyum
DHP-1	:	Dehidropeptidaz-1
DIM-1	:	Dutch Imipenemase
ECOFF	:	Epidemiyolojik cut off
EDTA	:	Etilen diamin tetra asetik asitle
EMB	:	Eozin Metilen Blue
EUCAST	:	European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing
GES/IBC	:	Guinea Extended Spectrum/Integron-Borne Cephalosporinase
GIM-1	:	German Imipenemase
GSBL	:	Genişlemiş spektrumlu β laktamazlar
IMI	:	Imipenem Hydrolyzing β laktamaz
IMVIC	:	Indol, Metil red, Voges Proskauer, Citrat
KPC	:	<i>Klebsiella pneumoniae</i> Karbapenemaz
MALDI-TOF MS	:	Matrix assisted laser desorption ionization-time of flight mass spectrometry
MDR	:	Çoklu İlaç Direnci
MHT	:	Modifiye Hodge Testi
MİK	:	Minimal İnhibitör Konsantrasyon
MRSA	:	Metisiline dirençli <i>Staphylococcus aureus</i>
NDM	:	New Delphi Metallo β laktamaz
NHSN	:	National Healthcare Safety Network
NMC-A	:	Not Metalloenzyme Carbapenemase
OMP	:	Outer membran protein
OXA	:	Oksasilinaz
PBP	:	Penisilin bağlayıcı proteinler

PCR	:	Polimeraz Zincir Reaksiyonu
PDR	:	Panrezistan
RND	:	Resistance Nodulation Division
SIM-1	:	Seoul Imipenemase
SME-1	:	<i>Serratia marcescens</i> enzyme-1
SPM-1	:	Sao Paulo Metallo- β laktamaz
TA90	:	Tedavi alternatififi 90
VIM	:	Verona Integron-encoded Metallo β laktamaz
XDR	:	Extreme drug resistance



ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 1. Karbapenem grubu antibiyotiklerin şematik gösterimi	9
Şekil 2. Bakteri membranında kolistin aktivitesi.....	26



GRAFİK DİZİNİ

Grafik 1. Karbapenem dirençli <i>K. pneumoniae</i> izolatlarında yıllara göre kolistin direnç dağılımı	43
---	----



TABLULAR DİZİNİ

Tablo 1. Karbapenemlerin sınıflandırılması	8
Tablo 2. EUCAST'e göre karbapenemaz üreten <i>Enterobacteriaceae</i> 'lar için klinik ve tarama eşik değerleri	17
Tablo 3. <i>Enterobacteriaceae</i> ailesi ve karbapenemler için revize edilmiş CLSI eşik değerleri.....	18
Tablo 4. Kolistin etki spektrumu	27
Tablo 5. Çalışmada test edilen 66 <i>K. pneumoniae</i> suşunun izole edildiği yıllara göre dağılımı	40
Tablo 6. Çalışmada test edilen 66 <i>K. pneumoniae</i> suşunun izole edildiği örnek tiplerine ve servislere göre dağılımı	41
Tablo 7. Çalışmada test edilen 66 <i>K. Pneumoniae</i> suşunun izole edildiği servislere ve yıllara göre karşılaştırılması	42
Tablo 8. Çalışmada test edilen 66 <i>K. pneumoniae</i> suşunun mikrodilüsyon yöntemiyle kolistine duyarlılıkları, MİK aralıkları, MİK50 ve MİK 90 değerleri	42
Tablo 9. Test edilen yöntemlerle büyük hata ve çok büyük hata tespit edilen suşlar	43

1.GİRİŞ VE AMAÇ

Klebsiella pneumoniae (*K. pneumoniae*) insanda deride, gastrointestinal florada ve nazofarinkste kolonize olarak tespit edilebilen bakteriler arasında yer alır (1). Önceki yıllarda pnömoni gibi toplumdan kazanılmış enfeksiyonların önemli bir sebebi olarak sayılmaktayken; 1970'li yılların başında *K. pneumoniae*'ya bağlı enfeksiyonların çeşitliliği, epidemiyolojisi değişmiş bununla birlikte önemli bir nozokomiyal etken olarak görülmeye başlanmıştır (2).

Hastaların gastrointestinal sisteminde *K. pneumoniae* ile yüksek oranda (%80) kolonizasyon tespit edildiği ayrıca nazofarinks ve ellerde de yüksek taşıyıcılık oranları bildirilmiştir (2). *K. pneumoniae*'nın hızlı yayılımı ve kazanılmış antibiyotik direnci, bu kolonizasyonun önemli etkisi sonucu ortaya çıkmıştır (3). *K. pneumoniae* 'da kromozomal penisilinaz üretimi orta düzeydedir. Plazmidlerle kodlanan aminoglikozid direnci 1970'ler ve 1980'lerde oldukça yüksek sayıdayken, sonrasında plazmidle kodlanan genişlemiş spektrumlu beta laktamazlar (GSBL) öne çıkmıştır (2). Daha sonrasında bunu kromozomal mutasyonların hızlı birikimiyle florokinolon direnci takip etmiş olup sonrasında yerini nozokomiyal *K. pneumoniae* enfeksiyonlarında ilk seçenek olarak kullanılan karbapenemlere bırakmıştır.

Gram negatif bakterilerde artmış efluks pompa sistemi, azalmış dış membran geçirgenliği, veya karbapenemaz enzimlerinin varlığı ile karbapenem direnci, ortaya çıkabilmektedir (4). Plazmidlerle bakteriler arasında karbapenemaz enzimleri kolayca yayılabilmekte ve hastanelerde epidemilere sebep olmaktadır (5).

Ambler sınıflamasına göre beta laktamaz enzimlerinden olan karbapenemazlar A, B, D olarak üç gruba ayrılmıştır. Klinik olarak önemi öne çıkan karbapenemazlar sınıf A'da yer alan *Klebsiella pneumoniae* karbapenemaz (KPC); sınıf B'de yer alan Yeni Delhi Metallo β laktamaz (NDM), IMP ve Verona Integron ile kodlanan Metallo β laktamaz (VIM); sınıf D'de yer alan oksasiliniaz (OXA) tipi enzimlerini içermektedir (6).

Tüm dünyada karbapenemazların yaygın olduğu, ancak coğrafik dağılımlarının farklı olduğu ifade edilmektedir (7). İlk kez Türkiye'den, 2003 yılında raporlanmış olan OXA-48 ülkemizde de sıklıkla izole edilmektedir (8). 1996 yılında KPC ilk olarak doğu Amerika'dan bildirilmiş olup, birkaç yıl içinde Amerika'nın diğer bölgelerini ve birçok Avrupa ülkesini içine alan salgınlara neden olmuştur (9, 10). VIM ve IMP dünya çapında en sık belirlenen metallo beta laktamaz grubu üyelerindedir (11). *Enterobacteriaceae*'larda 2010 yılında saptanan ve yaygın dirence neden olan NDM tipi direnç *Escherichia coli* ve *K. pneumoniae* suşlarında kıtalar arası yayılım göstererek epidemiyeye neden olmuşlardır (12).

Karbapenemaz üreten izolatların neden olduğu enfeksiyonlar, hastanede yatış süresinin uzamasına, ciddi hastalık ve invaziv alet varlığında yüksek mortalite (% 24-70) ve morbiditeye sebep olmaktadır (13, 14). Karbapenem direnç genlerinin hastalar arasında yayılımının önlenmesi için bu tür suşların saptanması halinde temas izolasyonu ve rektal sürüntü örneklerinden tarama gibi enfeksiyon kontrol önlemleri alınması önemlidir.

Karbapenem duyarlılığını araştırmak amacıyla rutin antibiyotik duyarlılık çalışmalarında Kirby Bauer disk difüzyon yöntemi veya Minimal İnhibitör Konsantrasyon (MİK) ölçme metodları uygulanmaktadır. Karbapenemlere duyarlılıkta azalma saptandığında rutin duyarlılık testlerinde, karbapenemazların saptanması için fenotipik yöntemler uygulanır. Clinical Laboratory Standards Institute (CLSI) standartlarına göre Modifiye Hodge Testi (MHT), European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing (EUCAST) standartlarına göre kombine disk yöntemleri uygulanmakla birlikte karbapenemaz enzimlerinin saptanması için altın standart olan yöntem Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PCR) ile sorumlu *bla* geninin varlığının gösterilmesidir.

Karbapenem dirençli *K. pneumoniae* suşlarının sebep olduğu enfeksiyonların monoterapi veya kombine tedavilerinde kolistin önemli bir yer tutmaktadır. Kolistin, polimiksin ailesinin üyelerinden biri olup polipeptid yapı içermektedir. Polimiksin B ve Polimiksin E (kolistin) olmak üzere polimiksin ailesinin iki parenteral formu

bulunur. *Bacillus polymyxa subspecies colistinus*'tan üretilen, 10 aminoasitten oluşan hidrofilik polikasyonik peptit zinciri ve bir hidrofobik yağ asit kuyruğundan meydana gelen kolistin 1200 Da ağırlığında bir moleküldür (15, 16).

Bu çalışmanın amacı hastanemizde son yıllarda *K. pneumoniae* suşlarında tespit edilmeye başlanan karbapenem direnci artışı sonucunda yoğun bakım veya servislerde yatan hastalarda alternatif tedavi olan kolistin MİK değerlerinin artışının yıllar içerisindeki artış düzeyini saptamaktır. Çalışmanın sonucunda hastane enfeksiyonu etkeni olarak karşılaşılan *K. pneumoniae* suşlarında karbapenem direnci nedeniyle kullanılan kolistin hala yeterli etkinliğinin bulunup bulunmadığı ve yıllar içerisindeki MİK düzeyinde herhangi bir artışın olup olmadığı belirlenerek klinisyenlerin karbapenem dirençli *K. pneumoniae* enfeksiyonlarında yeni tedavi seçenekleri hususunda yol gösterici sonuçlar elde edilmesi hedeflenmektedir.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. *Klebsiella pneumoniae*

2.1.1. Genel Bilgiler

K. pneumoniae Friedlander basili olarak da literatürde yer alır. *K. pneumoniae* hareketsiz, sporsuz, kısa ve uçları yuvarlak 1-2 µm boy ve 0,5-0,8 µm çapında basillerdir ayrıca gram negatif, polisakkarit yapısında kapsüllü, aerop ve fakültatif anaerop özellik gösterebilen, 37°C ve pH 7’de iyi üreyen bakterilerdir.

Polisakkarit yapısında O (somatik) ve K (kapsül) adı verilen antijenleri bulunmaktadır; serolojik tiplendirmeler bu antijenlere göre uygulanır. *Klebsiella*’lar bakteriosinler üretirler ve bunlara pneumocin denir.

Doğada yaygın olarak bulunabilen *K. pneumoniae*; kuruluğa dirençli, sıcaklığa dayanıksız ancak oda sıcaklığında haftalarca ve +4°C’de aylarca canlılığını muhafaza etmektedir (17).

2.1.2. Yaptığı Hastalıklar

Klebsiella nazofarinks ve barsakta kolonize olup; bu taşıyıcılık muhtemelen enfeksiyonların en önemli sebeplerindendir (18). Hastaların yaklaşık olarak 1/3’ü dışkılarında *Klebsiella*’yı taşır, fakat erişkinlerde hastaneye yatış ve antimikrobiyal kullanımı ile bu oran 3 kat kadar artabilir. *K. pneumoniae* geçmişte pnömoni gibi toplumdan kazanılmış enfeksiyonların önemli bir nedeni olarak varsayılmaktaydı ancak, son zamanlarda *K. pneumoniae* dünya çapında kan dolaşımı ve idrar yolları enfeksiyonları ve karaciğer absesinin yaygın etkeni olarak belirtilmiştir (19-21).

2.1.3. Laboratuvar Tanısı

Alınan örnekler kültür için kanlı agar ve Eozin Metilen Blue (EMB) agar besiyerlerine ekilir. *K. pneumoniae* bu besiyerlerinde mukoid, büyük, akıcı S veya R

tipinde koloniler meydana getirmektedir. *Klebsiella*'ların tür ayrımı Indol, Metil red, Voges Proskauer, Citrat (IMVIC) testleri ve çeşitli biyokimyasal testlerle belirlenebilmektedir.

Klebsiella'lar üre ve lizin dekarboksilaz pozitifdir ayrıca nişastayı 4 günde parçalayıp gaz yapmaları ile diğer *Enterobacteriaceae* ailesinden ayrılırlar. *Klebsiella*'lar kendi aralarında ise indol, ornitin dekarboksilaz, D-glukoz fermentasyon özellikleri incelenerek ayırt edilebilirler ve IMVIC testleri ise (--++)'tir (17).

2.1.4. Epidemiyoloji ve Korunma

Özellikle hastane ortamında oluşan dirençli kökenler epidemiyolojik önem taşımaktadır. *K. pneumoniae*'da 1970'ler ve 1980'lerde yaygın olan aminoglikozid direnci yerini GSBL ve florokinolonlara terk etmiştir (2). Günümüzde ise nozokomiyal *K. pneumoniae* enfeksiyonlarında ilk seçenek olarak kullanılan karbapenem direnci oldukça yaygındır. Bu dirençli kökenlerin yayılımının engel olunabilmesi için bu tür enfeksiyonlara neden olabilecek risk faktörleri ortadan kaldırılmalı hastanelerde temas önlemlerinin alınması, kolonize hasta izolasyonu, antibiyotik kullanımının kısıtlanması, çevresel yüzeylerin dekontaminasyonu, el hijyenine dikkat edilmesi ve sağlık personelinin eğitimi gibi enfeksiyon kontrol tedbirleri alınmalıdır (22, 23).

2.1.5. Hastane Enfeksiyonu Etkeni Olarak *Klebsiella pneumoniae*

Son yıllarda toplum ve hastane kaynaklı enfeksiyonlarda antimikrobiyal ajanlara direnç oranları giderek yükselmektedir (24). Nozokomiyal enfeksiyonlar arasında en sık izole edilen patojenler *Enterobacteriaceae* ailesi üyeleri arasında yer alır (25). *Enterobacteriaceae* ailesi üyeleri arasında da *K. pneumoniae* öne çıkmaktadır. *Klebsiella* türlerinin iki tür doğal yerleşim yeri bulunur. Bunlardan biri, su yüzeyleri, toprak, lağımalar ve bitkilerden oluşan çevredir. Diğer yandan insanlar, atlar veya domuzların mukozal yüzeylerine kolonize olarak yerleşirler. *K.*

pneumoniae insanların nazofarenks ve intestinal yollarında saprofit olarak yer alır. Gaitadan izolasyon oranı %5-38 oranında değişirken bu oran nazofarenkste %1-6 olarak bulunmuştur. Genellikle bu bölgelerde floranın geçici üyeleri olarak kabul edilirler (2).

Hastane ortamında bu taşıyıcılık oranları değişiklik gösterir. Kolonizasyon oranı hastanede kalma süresinin uzamasına bağlı olarak artmaktadır. Hospitalize hastalarda yapılan çalışmalarda taşıyıcılık oranları, gaitada %77, farenkste %19, hasta ellerinde ise %42 oranında bulunmuştur. Yüksek orandaki nozokomiyal *Klebsiella* kolonizasyonunun, hastanede alınan önlemlerden çok antibiyotik kullanımı ile ilişkili olduğu varsayılmaktadır (2). Yapılan bir çalışmada hastanede iki haftalık bir kalış süresinden sonra *Klebsiella* kolonizasyon oranında 2-4 kat artış raporlanmıştır (2). Bu artış özellikle çoklu veya geniş spektrumlu antibiyotik kullanan hastalarda saptanmaktadır. Ayrıca hastanedeki *Klebsiella* suşlarına karşı çoklu direncin tespit edilmesinden, yaygın antimikrobiyal tedavilerin uygulanması da suçlanmaktadır (26). Bu tür istenmeyen yan etkiler kontrollü antibiyotik kullanımı ile azalacağından profilaksi ve ampirik tedavi amaçlı yanlış antibiyotik kullanımını engelleyecek yeni stratejilerin geliştirilmesi istenmektedir.

Medikal aletlerin kontaminasyonu, kan ürünleri, hastaların gastrointestinal sistemleri ile hastane personelinin elleri enfeksiyonun yayılmasında önemli kaynaklardan sayılmaktadır (27).

1983-1991 yılları arasında İngiltere’de görülen 145 epidemik nozokomiyal enfeksiyonların 13’ünün nedeninin *Klebsiella* olduğu bildirilmiştir. *Klebsiella* türleri endemik hastane enfeksiyonlarının %8’inden, epidemik salgınların ise %3’ünden sorumlu tutulmaktadır (2).

Özellikle çoklu dirençli suşların neden olduğu epidemik hastane enfeksiyonlarından çekinilmektedir. 1970’li yıllarda bu suşların çoğu aminoglikozid dirençli *Klebsiella* suşları iken, 1982’den itibaren geniş spektrumlu sefalosporinlerde dirence neden olan GSBL üreten suşlar ortaya çıkmıştır. Bu direncin en önemli

özelliği seftazidim direncinin hem *K. pneumoniae* hem de *K. oxytoca* izolatlarında var olmasıdır (28) .

Klebsiella'nın nozokomiyal yayılımının engellenmesi için çeşitli önlemlerin alınmasının gerekliliği her zaman ön planda tutulmalıdır. Üriner kataterlerin uygun kullanımı, aletlerin uygun kullanımı ve korunması ve ellerin iyi şekilde yıkanması gibi temel epidemiyolojik standartların hepsi nozokomiyal *Klebsiella* infeksiyonlarının yayılmasını engellemeye yardımcı faktörlerdir. Diğer önlemlerden biri de hastanelerde yanlış ve gereksiz antibiyotik kullanımının önünün alınmasıdır. Ayrıca korunma ve nozokomiyal *Klebsiella* infeksiyon oranlarının kontrolü için nozokomiyal enfeksiyon sürveyansı önerilmektedir.

2.1.6. Tedavi

K. pneumoniae salgıladığı beta laktamaz enzimi nedeniyle beta laktam grubu antibiyotiklere direnç oluşturmaktadır. En sık GSBL üreten bakteri *K. pneumoniae*'dir ve GSBL üretimi söz konusu olduğunda penisilinler ve sefalosporinlerin kullanımını azaltmaktadır. Bu tür enfeksiyonların tedavisinde GSBL'den etkilenmeyen karbapenem grubu antibiyotikler kullanılmaktadır (17), fakat son zamanlarda karbapenem dirençli *K. pneumoniae* enfeksiyonlarının artmasıyla birlikte yeni tedavi seçenekleri öne çıkmıştır. Karbapenem dirençli *K. pneumoniae* enfeksiyonlarının tedavisinde en etkili ajanlar kolistin, tigesiklin ve fosfomisinidir. Aminoglikozidler de etkilidir. Bu organizmalara karşı kombinasyon tedavileri de kullanılmaktadır. Tigesiklin, karbapenemler, rifampin ve doksisisiklin gibi ajanların kolistin ile kombinasyonunun çeşitli time-kill çalışmalarında karbapenemaz üreten *K. pneumoniae*'ya karşı sinerjistik etkili olduğu işaret edilmiştir (5, 29, 30).

2.2. Karbapenemler

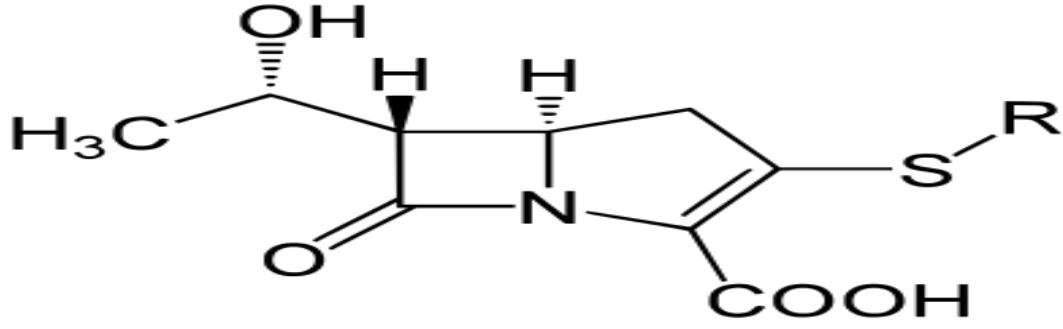
Karbapenemler, hızlı bakterisidal etki gösteren ve beta-laktam sınıfı içerisinde en geniş spektruma sahip antibiyotiklerdir. Bu ilaçların bakterilerde enzimatik dirençte rol oynayan AmpC ve GSBL da dahil olmak üzere neredeyse hiçbir beta laktamazdan etkilenmedikleri raporlanmıştır (31, 32). Karbapenemler, PBP'lerle güçlü bir şekilde bağ oluşturur. Genel yapı ve büyüklükleri nedeniyle porin kanallarından sızmaları ve bakteri hücrelerine geçişleri oldukça iyidir ve geniş antibakteriyel etkinlikleri ile aerob ve anaerob birçok mikroorganizma tarafından oluşturulan enfeksiyonlarda yaygın olarak kullanılmaktadır (32-35).

Tablo 1 'de karbapenem grubu antibiyotiklerin sınıflandırılması verilmektedir.

Tablo 1. Karbapenemlerin sınıflandırılması

Grup 1	Grup 2	Grup 3
Ertapenem	İmipenem	CS-023
Panipenem	Meropenem	
	Biapenem	
	Doripenem	

Birinci grup karbapenemler olan ertapenem ve panipenem özellikle toplumdan kazanılmış ciddi enfeksiyonların tedavisinde, ikinci grup karbapenemler ise güçlü nonfermentatif etkinlikleri nedeniyle hastane enfeksiyonlarının tedavisinde kullanılmaktadır. Üçüncü grup karbapenem olan CS-023 ise ikinci grubun etkinliğine ek olarak metisiline dirençli *Staphylococcus aureus* (MRSA)'a karşı da aktiviteleri vardır (31). İmipenemin gram pozitif mikroorganizmalara etkinliği meropenemden fazladır. Meropenemin gram negatif suşlara etkinliği imipenemden fazladır (36).



Şekil 1. Karbapenem grubu antibiyotiklerin şematik gösterimi

2.2.1. İmipenem

İmipenem, diğer beta-laktam antibiyotikler gibi bakteri hücre duvar sentezini inhibe ederek etki eder, bakterisidal özelliğindedir. Gram pozitif ve gram negatif bakterilerin yüksek molekül ağırlıklı PBP'lerine yüksek bir afinite gösterirler (21, 37). Gram negatif bakterilerde dış membrana penetrasyonu da oldukça fazladır (37). Nötral yükü ve düşük molekül ağırlığı nedeniyle bakterinin hücre duvarına, penisilin ve sefalosporinlerden daha hızlı penetre olur (38). Bilinen en geniş spektrumlu antibiyotik olan imipenem gram-pozitif, gram negatif, aerop ve anaerop mikroorganizmaları içine alacak şekilde çok geniş bir etki spektrumuna sahiptir. Bu mikroorganizmaların çoğu için imipenem MİK değeri 4 mg/L'nin aşağısındadır. Farklı antibiyotik kombinasyonlarıyla kıyaslandığında, çeşitli ciddi enfeksiyonların tedavisinde son derece etkin bir monoterapötik ajan olarak gösterilir ve in vitro olarak imipenem, klinik olarak önem taşıyan bakterilerin çoğuna etki gösterir. Bu nedenle kritik hastalığı olan kişilerde özellikle dirençli gram negatif etkenler veya polimikrobiyal enfeksiyon düşünüldüğünde, kültür ve antibiyogram sonuçlarını beklemeden ampirik olarak kullanılabilir. Ciddi enfeksiyonu olan immun yetmezlikli hastalarda da güvenle seçilebilmesi bir avantajdır (39). İmipenemin metaboliti nefrotoksik bir ajan olarak karşımıza çıkar. Bu nedenle tek başına kullanılmamalıdır. Bir dehidropeptidaz-1 (DHP-1) inhibitörü olan silastatin ile 1/1 oranında kombine halde uygulanmalıdır. Silastatin sodyum, DHP-1'in kompetitif, reversibl ve özgül inhibitörü olarak karşımıza çıkar. Silastatinin antibakteriyel etkinliği ya da beta-laktamazlar üzerine etkisi bulunmamaktadır. İmipenemin etkisini antagonize etmemektedir (40, 41).

İmipenem kullanımı sırasında en sık enjeksiyon yerinde flebit, tromboflebit (%1,7) ve ağrı gibi yan etkileri görülür. Gastrointestinal sistemle ilişkili olarak da bulantı (%1,4), kusma (%0,9), oral mukozada değişiklikler (%0,3), ishal (%0,9) ve psödomembranöz enterokolit (%0,1) gibi yan etkilere de rastlanılır. Ciddi yan etkiler azdır. Diğer beta-laktamlara allerjisi olan hastalarda imipeneme de allerji oluşabilir. Ateş, kaşıntı, deri döküntüsü, solunum sıkıntısı meydana gelebilmektedir. Santral sinir sistemi toksisitesi (konfüzyon, huzursuzluk, konvülziyon, tremor) gözlenebilir. İnfüzyon hızına bağlı olarak bulantı, kusma, terleme ve halsizlik ortaya çıkabilmektedir. Konvülziyon için esas risk faktörleri yüksek dozda kullanım ve hastanın renal yetmezliğinin bulunmasıdır. Renal hastalığı olan veya santral sinir sistemi patolojisi olanlarda konvülziyona neden olması, bulantı ve kusma yan etkileri imipenem kullanımında kısıtlılık oluşturmaktadır. Yavaş infüzyonla kullanılması önerilmektedir (38).

2.2.2. Meropenem

Meropenem, imipeneme etki spektrumu olarak benzetmekle birlikte 1-beta metil grup ve 2-tiopirolidinil eki dolayısı ile DHP-I'e dayanıklı hale gelmiş ve uygulamada silastatine gerek kalmamıştır. Klinik olarak önemli olan hemen tüm aerobik ve anaerobik bakterilere karşı etkisi vardır. PBP-2, hem imipenemin hem de meropenemin başlıca hedefi arasındadır. Ancak meropenem, *P.aeruginosa* ve *Escherichia coli*'nin PBP-2 ve 3'üne daha büyük bir seçicilik göstermektedir. Meropenem, stafilokoklara ait enzimler ve gram negatif bakterilerdeki karbapenemazlar hariç diğer tüm beta-laktamazların hidrolizine karşı dayanıklılık gösterir (41, 42). İmipeneme göre direnç gelişimi daha düşük olmakla birlikte daha az yan etkisi bulunmaktadır. Bulantıya neden olmadığı için intravenöz bolus şeklinde alınabilir. Konvülziyon yapma etkisi çok düşük olduğundan renal yetmezliği ve santral sinir sistemi hasarı olan hastalara verilebilir.

2.2.3. Ertapenem

Ertapenem, 1-beta-metil karbapenem olarak 2001 yılında geliştirilmiştir. İmipenem ve meropeneme kıyasla daha dar spektrumu vardır. *Enterobacteriaceae*'ya ve anaeroblara etkilidir, ancak özellikle *P.aeruginosa*, *Acinetobacter* spp., enterokoklar ve penisilin dirençli pnömokoklara etkinliği yoktur. Uzun yarı ömrü ve yüksek oranda proteine bağlanma gibi farmakokinetik özelliklerinden dolayı günde bir kez uygulanabilmektedir. İntravenöz veya anestetik madde ilavesi ile intramusküler kullanılabilir (34).

Çocuklarda ve erişkinlerde aerop ve anaeroplara neden olduğu toplum kökenli pnömoni, idrar yolu enfeksiyonu ve toplum kökenli mikts enfeksiyonların tedavisinde önemli bir alternatif olarak öne çıkar. İshal, flebit, tromboflebit ve karaciğer enzim yüksekliği en sık görülen yan etkileri arasındadır.

2.2.4. Doripenem

1-beta-metil karbapenemlerden bir diğeri ise Doripenem (S-4661)' dir. Meropeneme benzer aktivite göstermekle birlikte *P.aeruginosa*'ya in-vitro olarak daha etkili kabul edilmektedir. Nozokomiyal pnömonide, komplike üriner sistem ve intra-abdominal enfeksiyonlarda kullanılmaktadır (43, 44). En sık görülen yan etkileri bulantı, ishal, baş ağrısı, enjeksiyon yerinde eritem ve karaciğer enzim yüksekliğidir (43).

2.3. Karbapenemlere Direnç Mekanizmaları

Karbapenemler çoklu ilaca dirençli gram negatif bakteri enfeksiyonlarında genellikle son aşamada kullanılan β -laktam grubu ilaçlar arasındadır. GSBL ve AmpC β -laktamazlara karşı direnç göstermelerine rağmen bu durum son yıllarda hem nonfermenter (*A. baumannii*, *P.aeruginosa*), hem de fermenter (*Enterobacteriaceae*) gram negatif bakterilerde karbapenem direncinin tespit edilmeye başlamasıyla değişmiştir (45).

Enterobacteriaceae'larda karbapenem direnci başlıca üç mekanizmayla oluşur:

- a) Eflüks pompa sistemi aracılığıyla, antibiyotik bakteriden dışarı atılması ile,
- b) Karbapenemlere karşı zayıf etki gösteren β -laktamazların sentezlenmesine ek olarak, porin ekspresyonunda kalitatif veya kantitatif eksiklik meydana gelmesi sonrasında karbapenemlerin hücre içine girişinde dirençle karşılaşılması ile,
- c) Karbapenemleri yıkan karbapenemaz enzimlerinin etkisiyle (46).

2.3.1. İlacın Hücre İçinde Etkin Konsantrasyona Ulaşamaması

a) Porin değişimleri: Porin proteinlerinde meydana gelen değişiklikler; porin ekspresyonunun kaybı veya dış membran üzerinde yer alan porinlerin tiplerinde değişiklikler oluşması, karbapenemlere olan duyarlılığı azaltmaktadır (46).

Yapılan klinik çalışmalarda antibiyotik dirençli *Enterobacteriaceae* suşlarının porin profillerinde değişiklikler meydana geldiği tespit edilmiştir. Dirençli suşlar daha farklı bir porin tipini eksprese edebilmekte, porin ekspresyon düzeylerinde azalma gösterebilmekte veya mutasyona uğramış porinleri içermektedir (47).

b) Eflüks pompa sistemlerinin indüklenmesi: İlacın hedefine ulaşamaması, hücre içine alınmasındaki azalmanın yanında (porin değişimleri), dışarı atılımını sağlayan pompa sistemlerinden de kaynaklı olabilir. Aktif pompa sistemlerinin varlığı ilk olarak 1978 yılında *E.coli*'de tetrasiklin için tespit edilmiş, günümüzde de birçok antibiyotik sınıfına karşı doğal ve kazanılmış dirençte önemli rolü olduğu gösterilmiştir (24).

İlacın pompa sistemleriyle dışarı atılması gram negatif bakterilerdeki ilaç direncinde önemli bir mekanizma olarak karşımıza çıkmaktadır. Gram negatif bakterilerdeki klinik olarak anlamlı olan ana dışarı atım (eflüks) sistemleri genellikle

RND (Resistance Nodulation Division) ailesi grubuna aittir. Eflüks pompaları aracılığıyla meydana gelen direnç, tek bir ilaç pompa sistemiyle birçok ilaç türüne karşı direnç gelişebilmesi, böylece çok ilaca dirençli bakteri fenotiplerinin ortaya çıkabilmesi nedeniyle önem arz etmektedir (48).

2.3.2.Karbapenemleri Hidroliz Eden Enzimlerin (Karbapenemazlar) Varlığı

Karbapenemazlar, en geniş etki spektrumuna sahip β -laktamaz grubu enzimler arasında yer alır. ‘Karbapenemaz’ olarak adlandırılmış olsalar da, bu enzimlerin birçoğu hidrolize edilebilen hemen tüm β -laktamlara karşı etkili ve β -laktamaz inhibitörlerine dirençlidirler (49). Tüm karbapenemazların 1990’ların başlarına kadar türe özgü, kromozomal olarak kodlanan β -laktamazlar olduğu varsayılmaktayken, *P.aeruginosa*’da bir metallo-beta-laktamaz olan IMP-1; *A.baumannii*’de sınıf D karbapenemazlardan olan ARI-1 (OXA-23) ve *K.pneumoniae*’da bir sınıf A karbapenemaz olan KPC-1 gibi plazmid aracılığıyla kodlanan karbapenemazların identifikasyonu bu görüşü tamamen farklılaştırmıştır (50-52). Plazmid aracılığıyla kodlanan karbapenemazların ortaya çıkması sonucunda, karbapenemaz yayılım paterninde büyük değişiklik gözlenmiş olup, yalnızca klonal yayılım açısından problem oluşturduğu düşünülen karbapenemazlar, türler arasında yayılımın ortaya çıkmasıyla global bir problem olarak karşımıza çıkmıştır (49).

Amino asit homolojisine göre yapılan moleküler sınıflandırmada ise karbapenemazlar Sınıf A, B ve D olmak üzere üç grup olarak incelenmektedir (53).

2.3.2.1. Sınıf A Karbapenemazlar

İlk olarak 1980’lerin başlarında sporadik olarak saptanmış olup, KPC (*Klebsiella pneumoniae* carbapenemase) enziminin 1996 yılında saptanması ve 2000 sonrasında tüm dünyada yayılım göstermesi ile büyük bir sorun haline gelmiştir (54). Bu enzimleri bulunduğu bakteriler imipeneme azalmış duyarlılık göstermekle

birlikte, minimal inhibitör konsantrasyon (MİK) değerleri küçük bir artış gösterip duyarlı kalabilir ya da tamamen dirençli hale geçebilir. Bu nedenle Sınıf A karbapenemazlar rutin antibiyotik duyarlılık testleriyle tespit edilemeyebilir (49). Bu grupta SME-1 (*Serratia marcescens* enzyeme-1), NMC-A (Not Metalloenzyme Carbapenemase), IMI (Imipenem Hydrolyzing β -laktamaz) gibi kromozomal olarak kodlanan enzimler ve KPC (*Klebsiella pneumoniae* Carbapenemase), GES/IBC Ailesi (Guinea Extended Spectrum/Integron-Borne Cephalosporinase) gibi plazmidle kodlanan enzimler bulunur (49, 55-61).

2.3.2.2. Sınıf B Metallo- β -Laktamazlar

Bu β -laktamaz sınıfı, β -laktamaz inhibitörlerine dirençli olması, metal iyon şelatörleriyle inhibisyona duyarlı olmasıyla öne çıkmaktadır. Substrat spektrumu oldukça geniş olup, karbapenemlerin yanında sefalosporin ve penisilinleri de hidroliz etme özelliğine sahiptir; aztreonama karşı etkisi bulunmamaktadır. Etki gösterebilmesi için β -laktamların, enzimin aktif bölgesinde yer alan çinko (Zn^{+2}) iyonlarıyla etkileşim göstermesi gerekir; bu özelliği sayesinde Zn^{+2} ve diğer divalent katyonların şelatörü olan etilen diamin tetra asetik asitle (EDTA) etkisiz hale geçebilir (49).

IMP (Active on imipenem), VIM (Verona Integron-encoded Metallo- β -laktamaz) ve son dönemlerde ortaya çıkan NDM (New Delhi Metallo-beta-laktamaz), *Enterobacteriaceae* ailesinde en sık görülen kazanılmış metallo- β -laktamazların arasında yer alırlar (46).

2.3.2.3. Sınıf C Beta-Laktamazlar

AmpC β -laktamazlar, Ambler moleküler sınıflandırma sistemine göre Sınıf C'de yer alan sefalosporinazlardan oluşur. Plazmid tarafından veya kromozomal olarak kodlanabilirler, β -laktamaz inhibitörlerinden etkilenmezler. Üçüncü kuşak sefalosporinleri etkili bir şekilde hidroliz edebilirler ve karbapenemlerle, sefepim

gibi dördüncü jenerasyon sefalosporinler AmpC β -laktamaz üreten bakterilere karşı tek etkili antibiyotik sınıfını meydana getirirler (62). AmpC β -laktamazların karbapenemler üzerine etkileri az olmasına karşın, dış membran porin değişikliği gibi bir mekanizmayla birlikte olduğunda, karbapenemlere karşı direnç oluşabilir (24).

2.3.2.4.Sınıf D Karbapenemazlar

OXA (oksasilini hidrolize edebilen) β -laktamazlar 1980’li yılların başlarından itibaren, *Enterobacteriaceae* ve *P.aeruginosa* türlerinde tanımlanmış olup, oksasilin ve kloksasilinleri hidroliz edebilme yeteneğine sahip penisilinazlar arasındadırlar (49). 230’dan fazla varyantı tanımlanmış olan OXA β -laktamazlar, bir varyant dışında (OXA-163), genişlemiş spektrumlu sefalosporinleri hidroliz edebilme özelliği bulundurmazlar. Genel olarak diğer karbapenemaz sınıflarıyla karşılaştırıldığında karbapenemleri hidroliz etme özelliği zayıf olan Sınıf D karbapenemazlar, klavulanik asit ve EDTA’yla inhibisyona dirençliken; NaCl tarafından aktivitesi inhibe olabilmektedir (46). Bu enzime sahip olup karbapenem direnci gösteren izolatlarda, karbapenem direncinden sorumlu, porin kaybı gibi başka bir mekanizma da, enzim varlığıyla beraber olabilir (54). Sınıf D enzimler aynı zamanda yüksek düzey temosilin direncine neden olmalarıyla diğer karbapenemaz sınıflarından farklılık gösterirler (63).

Sınıf D karbapenemazların büyük bir çoğunluğu, *Acinetobacter* spp.’ De tanımlanmış olmasına rağmen, OXA-48 varyantı yalnızca *Enterobacteriaceae* ailesi üyelerinde bulunabilmektedir (46). OXA-48 üretimi ilk olarak 2003 yılında, Türkiye-İstanbul’dan izole edilmiş olan bir *K.pneumoniae* izolatında tespit edilmiştir (64).

OXA-48’in tespit edilmesinden itibaren OXA-162, OXA-163, OXA-181, OXA-204, OXA-232, OXA-244 ve OXA-245 gibi birçok OXA-48 varyantı tespit edilmiştir (65).

2.4. Karbapenem Direncinin ve Karbapenemaz Aktivitesinin Saptanması

Karbapenemaz üreten bakterilerin klinik laboratuvarlar tarafından tanımlanabilmesi oldukça zor olmakla birlikte, uygun antimikrobiyal tedavinin seçimi ve enfeksiyon kontrol önlemlerinin uygulanabilmesi açısından önem arz etmektedir (24). Karbapenemaz aktivitesinin saptanmasında bazı zorluklar bulunabilmektedir. Yalnızca direnç profiline bakarak enzim aktivitesi hakkında bir yorum yapılamamakla birlikte; karbapenemaz aktivitesinin saptanabilmesi açısından henüz spesifik testlere dayalı kesin bir algoritma meydana getirilememiştir (66).

Karbapenemaz aktivitesinin araştırılması ilk olarak antibiyotik duyarlılık testlerinde karbapenemlere azalmış duyarlılığın tespit edilmesine dayanır. Bunu fenotipik ve biyokimyasal yöntemler izler (67).

Karbapenemaz üreten *Enterobacteriaceae*'larda karbapenem MİK değerleri klinik eşik değerinin altında bulunabilir. Bu problemin ortadan kaldırılması için European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing (EUCAST)'in belirlemiş olduğu epidemiyolojik cut off değerleri (ECOFF), karbapenemaz üretiminin araştırılması açısından uygulanabilir (Tablo 2). EUCAST'e göre karbapenemler içinde meropenem, karbapenemaz üretimini saptama açısından en duyarlı ve özgül karbapenem olarak öne çıkmaktadır (68).

Tablo 2. EUCAST'e göre karbapenemaz üreten *Enterobacteriaceae*'lar için klinik ve tarama eşik değerleri

KARBAPENEM	MİK				DİSK DİFÜZYON ZON ÇAPI (10µg diskle)			
	S/I değer	Eşik	Tarama değeri	eşik	S/I değer	Eşik	Tarama değeri	eşik
MEROPENEM	≤2		>0.12		≥22		<25	
İMİPENEM	≤2		>1		≥22		<23	
ERTAPENEM	≤0.5		>0.12		≥25		<25	

2010'da güncellenen Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) standartlarına göre *Enterobacteriaceae* ailesinde imipenem ve meropenem için direnç eşik değerleri ≥ 4 mg/L; ertapenem için ≥ 1 mg/L olarak belirlenmiştir (Tablo 3). CLSI kriterlerine göre ertapenem için MİK değeri $\geq 0,5$ mg/L; imipenem ve meropenem için 1 mg/L olan *Enterobacteriaceae* suşlarının karbapenemaz aktivitesi açısından araştırılması önem arz etmektedir (69). Disk difüzyon yöntemiyle inhibisyon zon çapları ertapenem ve meropenem için ≤ 21 mm olan suşlardan, karbapenemaz üretimi açısından şüphelenilmelidir (70).

Tablo 3. Enterobacteriaceae ailesi ve karbapenemler için revize edilmiş CLSI eşik değerleri

	MİK (YENİ)			MİK (ESKİ)			DİSK (YENİ)			DİSK (ESKİ)		
	S	I	R	S	I	R	S	I	R	S	I	R
ERTAPENEM	≤0.25	0.5	≥1	≤2	4	≥8	≥22	19-21	≤18	≥19	16-18	≤15
İMİPENEM	≤1	2	≥4	≤4	8	≥16	≥23	20-22	≤19	≥16	14-15	≤13
MEROPENEM	≤1	2	≥4	≤4	8	≥16	≥23	20-22	≤19	≥16	14-15	≤13

2.4.1.Karbapenemazların Fenotipik Yöntemlerle Saptanması

2.4.1.1. Modifiye Hodge Testi

Modifiye Hodge testi karbapenemaz aktivitesinin saptanması amacıyla laboratuvarlarda kullanılmış olan fenotipik testlerin arasında yer alır (71). Mueller Hinton agar üzerinde uygulanan test, karbapenem grubu antibiyotiğin, karbapenemaz üreten suş tarafından inaktivasyonu prensibiyle yapılmaktadır. Mueller Hinton agara çinko ilave edilmesinin, özellikle MBL üreten suşların saptanmasını kolaylaştırarak, testin duyarlılığını artırdığı tespit edilmiştir (72).

2.4.1.2.İnhibitör Tabanlı Testler (Sinerji Testleri)

Karbapenemaz aktivitesinin, belli bir karbapenemaz sınıfına spesifik bir inhibitör eklenmesi sonrasında, invitro olarak inhibe olması prensibiyle uygulanan bir testtir. İnhibitör eklenmesi sonucunda karbapenem MİK değerlerinde azalma veya inhibisyon zon çapında bir artış tespit edilmekte, bu durum da karbapenem ve inhibitör arasında sinerji oluşumu olarak ifade edilmektedir. Sınıf A karbapenemazlar için boronik asit (3-aminofenilboronik asit); Sınıf B MBL'lar için

ise EDTA veya dipikolinik asit inhibitör olarak uygulanabilmektedir (67). Boronik asit ve kloksasilin en yaygın kullanılan AmpC (Sınıf C β -laktamaz) inhibitörleri arasında yer alır (73). Sınıf D karbapenemazların aktivitesi 100mM sodyum klorürle in vitro olarak inhibe edilebilmekle birlikte; bu özellik OXA tipi karbapenemazların saptanmasında rutin uygulamada yer alamamıştır (74).

Sinerji testlerinde kullanılmak üzere antibiyotik gradiyent test stripleri de geliştirilmiştir, özellikle MBL üreten *Enterobacteriaceae*'ları saptamak amacıyla kullanılan, imipenem ve imipenem+EDTA kombinasyonu şeklindeki antibiyotik gradiyent test stripleri yer almaktadır. EDTA varlığında MİK değerinde sekiz kat veya daha fazla azalma görülmesi, MBL üretimi için pozitif sonuç olarak varsayılmaktadır ((49).

Kültür ortamına inhibitör madde eklenmesi ile, karbapenem MİK değerinde azalma meydana gelmesi veya inhibisyon zon çapında artış gözlenmesi karbapenemaz üretiminden şüphelendirmektedir (70).

2.4.1.3. Enzim Ekstraksiyonu Uygulaması

Bu yöntemde, bakteriden sonikasyon yöntemiyle elde edilen β -laktamaz enzim ekstraktı 10 μ g'lık imipenem diski üzerine emdirilmekte, diğer imipenem diski üzerine ise negatif kontrol olarak kullanılmak üzere aynı miktarda distile su dökülmektedir. Bu diskler 24 saat oda ısısında inkübasyon sonrasında, 0,5 McFarland yoğunluğunda *E.coli* ATCC 25922 suşunun pasajlandığı Mueller Hinton agar üzerine konulmaktadır. İnkübasyon 35° C'de 24 saat tamamlandıktan sonra, enzim eklenmiş imipenem diski etrafındaki inhibisyon zon çapında, distile su eklenmiş diske göre ≥ 2 mm'lik azalma meydana gelmesi karbapenemaz üretiminden şüphelendirmektedir (75).

2.4.1.4. Spektrofotometre

a) UV Spektrofotometre: Bu yöntemde karbapenemaz aktivitesi açısından test edilen suştan tek bir koloni, triptik soy broth içine alınıp, 37°C'de 18 saat boyunca inkübasyona bırakılır. Daha sonra kültür santrifüj edilir ve santrifüj sonrası elde edilen pellet çinko sülfat(ZnSO₄) içeren fosfat tampon içine konular. Daha sonra sonikasyon yöntemiyle çözeltiden β-laktamaz ekstraktı sağlanır. En son aşamada ise purifiye edilmiş β-laktamaz ekstraktı imipenemle karıştırılır ve imipenem hidrolizi 297 nm dalga boyunda UV spektrofotometre kullanılarak tespit edilir. Bu testin karbapenemaz aktivitesini saptamada %100 duyarlılık, %98,5 özgüllüğe sahip olduğu belirtilmiştir (76).

b) Kütle Spektrometre: Matriks ile desteklenmiş lazer desorpsiyon iyonizasyon-uçuş zamanı kütle spektrometresi(Matrix assisted laser desorption ionization-time of flight mass spectrometry (MALDI-TOF MS) test edilen materyalin yüksek vakumlu bir çember içinde iyonize edildiği ve bir elektriksel alan içinde hızlandırıldığı bir yöntem olarak karşımıza çıkar. İyonize fragmanların uçuş zamanları hesaplanarak, fragman büyüklüğü hakkında yorumlanır. Bakteri identifikasyonunda kısa sürede sonuç veren standart bir yöntem olarak kullanım alanı bulmuş olup, antibiyotik duyarlılığını test etmede henüz bakteri identifikasyonu kadar yaygınlaşmamıştır (77).

MALDI-TOF MS karbapenemaz aktivitesini saptamak amacıyla da uygulanabilmektedir. Karbapenem molekülleri, karbapenem tuzları (genellikle NaCl) ve/veya karbapenem yıkım ürünlerinin karşılık geldiği pikleri içeren spektrumların analiz edilmesi sonrasında karbapenemaz aktivitesi hakkında yorumlanabilmektedir. Testin duyarlılık ve özgüllüğünün %95'den fazla olduğu tespit edilmiştir (78).

2.4.1.5.Karbapenem İçeren Kültür Ortamlarının Kullanılması

Karbapenemaz üreten *Enterobacteriaceae*'ların asemptomatik taşıyıcılarının, bu izolatları hastanelerde enfeksiyon etkeni olarak yayılmasındaki kaynağı olarak düşünülmektedir. Bu yayılımın önlenmesi amacıyla gastrointestinal taşıyıcılık

açısından tarama yapılması önem arz etmektedir. Gastrointestinal taramanın yapılması amacıyla, bazı kültür yöntemleri belirlenmiştir. Bunlar in-house olarak hazırlanabilen katı agar veya broth formundaki selektif besiyerleri veya ticari olarak temin edilebilen agar besiyerleri olarak önümüze çıkmaktadır (79).

In-house geliştirilen yöntemler birçok şekilde kullanılabilir. İçine 10 µg imipenem diski eklenmiş triptik soy broth'a tarama yapılan örneğin konulması ve bir gece inkübasyonu sonrası MacConkey agara subkültürünün yapılması bu yöntemlerin arasında yer alır (80).

İmipenem, meropenem ve ertapenem disklerinin eklendiği veya 1 µg/ml oranında imipenem içeren MacConkey agara taraması yapılan örneğin pasajlanması da in-house olarak geliştirilmiş kültür yöntemleri arasındadır (81).

Karbapenemaz üreten *Enterobacteriaceae* taşıyıcılığının taranmasında ticari olarak temin edilebilen kromojenik ve kromojenik olmayan besiyerleri de vardır. Bu besiyerleri gram pozitif ve karbapenem duyarlı bakterilerin inhibisyonunu sağlayan antibiyotikler ve *Enterobacteriaceae*'ların identifikasyonuna yardımcı olan kromojenik substratlar içermektedir. CHROMagar™ KPC, ChromID™ GSBL, ChromID CARBA, SUPERCARBA ticari olarak mevcut besiyeri örnekleri olarak verilebilir (79).

2.4.1.6. Carba NP Testi

Karbapenemlerin β-laktam halkasının hidrolizinin tanımlanmasına dayalı hızlı, duyarlı, özgül ve laboratuvara kolayca adapte edilebilen bir test olup, bu yöntemde lizis tamponu içinde hazırlanan bakteri süspansiyonu santrifüj edilir; santrifüj sonrası elde edilen, enzimatik bakteri süspansiyonu içeren süpernatant, içinde imipenem, fenol kırmızısı (pH indikatörü) ve ZnSO₄ karışımı bulunan kuyucuklara inoküle edilir. İki saat 37°C'de inkübasyon sonrasında kuyucuklar renk değişimi bakımından değerlendirildikten sonra, karbapenemaz üreten bakteri

süspansiyonu içeren kuyucuklarda, imipenemin hidrolizi sonrasında pH değişimi meydana gelir ve indikatörün rengi kırmızıdan sarıya döner (82).

Carba NP testi karbapenemaz üreten bakterileri, karbapenem duyarlı bakterilerin yanısıra başka mekanizmalar nedeniyle karbapenem direnci gösteren bakterilerden ayırmasıyla da avantaj sağlamaktadır ayrıca, iki saat gibi kısa bir sürede sonuç alınabilen Carba NP testinin duyarlılık ve özgüllüğü %100 olarak bildirilmiştir (82).

2.4.1.7. İmmünokromatografi

Kromatografik bir kağıt üzerinde meydana gelen immünolojik reaksiyon prensibinden oluşmaktadır. Bu yöntemde karbapenemaz molekülüne spesifik iki farklı antikor uygulanmaktadır. Antikorlardan biri kromatografik kağıt üzerinde, diğeri (işaretli antikor) ise örneğin damlatıldığı ped üzerine emdirildikten sonra ; örnek pedi üzerine test edilen materyal eklendiğinde, işaretli antikorla, karbapenemaz enzimi arasında bir kompleks oluşmakta, bu kompleks sıvı örnekle birlikte hareket ederek membran üzerinde immobilize halde bulunan antikorla temas etmekte; sonuçta bir immünkompleks oluşup renk değişimi ortaya çıkmaktadır (71).

2.4.2. Karbapenemazların Moleküler Yöntemlerle Saptanması

Moleküler yöntemler karbapenemaz genlerinin kesin bir şekilde belirlenmesinde halen altın standart olarak kabul görmektedir. Bu tekniklerin birçoğu polimeraz zincir reaksiyonu (PCR) teknolojisi örnek alınarak geliştirilmiştir. β -laktamaz geninin tam identifikasyonunun gerektiği durumlarda ise bütün kodlama bölgesinin dizi analizi, PCR sonrasında yapılabilmektedir. Aynı zamanda hibridizasyon teknikleri de araştırma laboratuvarları veya referans merkezler tarafından karbapenemaz genlerinin saptanmasında uygulanmaktadır (83).

Günümüzde in-house PCR tabanlı testler karbapenemazların identifikasyonunda yaygın şekilde uygulanmaktadır. Sonuç verme süresinin 4-6 saat gibi kısa olmasının yanında, özgüllük ve duyarlılığının yüksek olması sebebiyle bu yöntemler öne çıkmaktadır (83).

2.5. Çok İlaça Dirençli *Klebsiella pneumoniae* Kaynaklı Enfeksiyonlarda Tedavi Seçenekleri

Dirençli bakterilerde mortalite artışı birçok çalışmada bildirilmiş olup; bunun en önemli sebebi dirençli suşların virülan oluşundan ziyade başlangıç tedavisinin uygun olmaması, daha az etkili seçeneklerin olması, daha toksik ilaçlar kullanılmak zorunda kalınması, uygun olmayan dozlarda ve etkili tedavinin gecikerek başlanması şeklinde özetlenebilir. Bir çalışmada uzun süreli bakım ünitelerinden gelen hastaların %49'unun, dirençli bakterilerle enfekte olup uygunsuz başlangıç tedavileri aldıkları tespit edilmiştir (84).

Bakterilerde çok ilaca direncin tanımlanmasında son yıllarda bir terminoloji kargaşası yaşanmış olup; son zamanlarda çoğunlukla kabul edilen görüş "çok ilaca direnç (multiple drug resistance, MDR)" ifadesi sefalosporin (sadece seftazidime veya sefepime), aminoglikozid, florokinolon, karbapenem ve piperasilin grubu antibiyotiklerde en az üç grup antibiyotiğe dirençli patojenler için kullanılması şeklindedir. "Extreme drug resistance (XDR)" kolistin ve tigesiklin hariç tüm antibiyotiklere dirençli patojenler, panrezistan (PDR) ise kolistin ve tigesiklin dahil tüm antibiyotiklere dirençli patojenler için kullanılması kabul görmüştür (85, 86).

GSBL üreten *Klebsiella* spp. suşlarında (aşırı AmpC enzimleri üreten *Enterobacteriaceae* türleri dahil) tedavi seçenekleri arasında karbapenemler ve tigesiklin bulunmaktadır. Karbapenemaz üretimi durumunda karbapenemler, penisilinler ve sefalosporinlere direnç geliştirmekte, beraberinde aminoglikozid ve kinolon direnç mekanizmaları da taşınmakla birlikte; karbapenemaz pozitif suşlarda seçenekler polimiksinler ve tigesiklin olmaktadır (87). Metallo-beta-laktamazlar:

VIM, IMP, NDM-1 (New Delhi metallo-beta-laktamaz) aztreonam hariç tüm beta-laktamları inhibe ederken, non-metallo-beta-laktamazlar; KPC, OXA-48 için aztreonam duyarlılığı bulunmamaktadır. Tedavi seçeneklerinden olan tigesiklinin, düşük kan düzeyi sebebiyle bakteriyemilerde ve ciddi enfeksiyonlarda kullanımı tavsiye edilmemektedir.

İngiltere'de 81 karbapenemaz pozitif enterobakter suşunda tedavi seçeneklerinin değerlendirildiği bir çalışmada, kloramfenikol, siprofloksasin ve nitrofurantoin duyarlılığı %25'in altında tespit edilirken, kolistin duyarlılığı %92.6 olarak tespit edilmiş olup fosfomisine ise suşların %60.5'i duyarlı tespit edilmiştir (7/7 *E. coli*, 16/20 *Enterobacter* ve *Citrobacter* spp., 25/52 *Klebsiella* spp.). Tigesiklin duyarlılığı %46.9, bir beta-laktam olan temosilin duyarlılığı ise %4.9 olarak tespit edilmiştir (29).

Yukarıda anlatılan çalışmada da görüldüğü üzere karbapenem dirençli *K. pnömoniae* suşlarında en etkili ve ilk seçenek tedavi olarak kolistin öne çıkmaktadır.

2.6. Kolistin

Kolistin polimiksin ailesinin bir üyesi olmakla birlikte, polipeptid yapıdadır. Polimiksin ailesinin Polimiksin B ve Polimiksin E (kolistin) olmak üzere iki parenteral formu bulunmaktadır. Kolistin, *Basillus polymyxa subspecies colistinus*'tan üretilen, 10 aminoasitten oluşan hidrofilik polikatyonik peptid zinciri ve bir hidrofobik yağ asit kuyruğundan oluşan, 1200 Da ağırlığında bir molekül olarak karşımıza çıkar (15, 16).

Kolistin'in iki ticari formu vardır. Bunlardan biri kolistimetat sodyum (CMS) ve diğeri kolistin sülfat'tır. CMS kolistin sülfata göre hem etkinliği hem de toksisitesi daha az olan bir molekül olup; kolistin sülfatın oral, topikal ve inhaler formları bulunur. Ancak oral biyoyararlanımı olmaması nedeni ile daha çok barsak dekontaminasyonu sebebiyle kullanılır. CMS inaktif bir ön ilaç olup, aktif kolistine dönmesi için in vivo ortamda hidroliz olması sağlanmalıdır (16). Kolistimetat

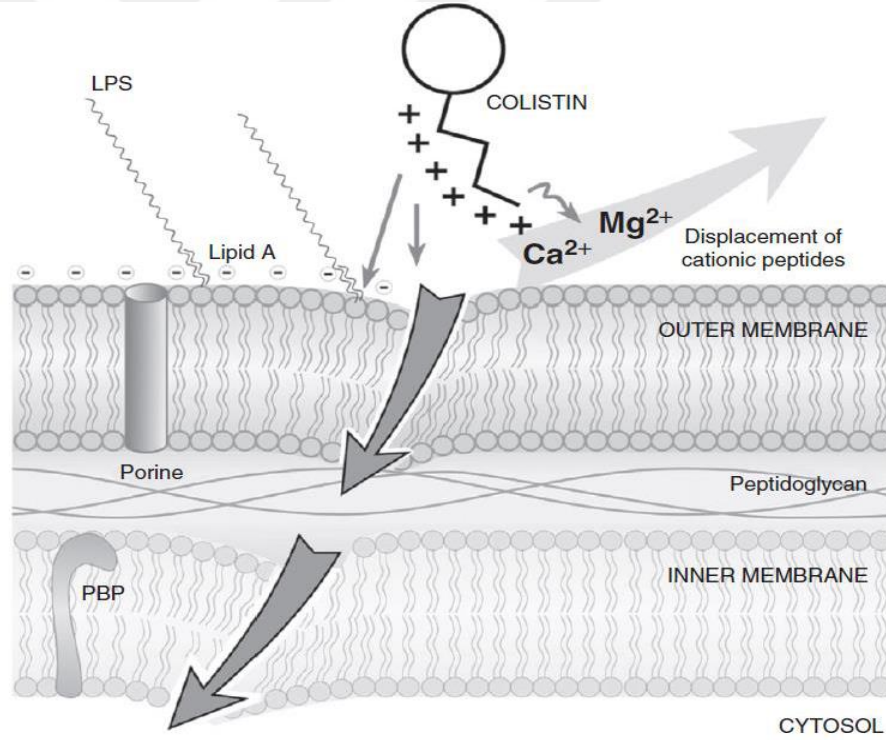
sodyum, kolistin sülfatla kıyaslandığında daha az terapötik etkinliğe ve yan etkilere sahiptir, örneğin; kolistin sülfat ve polimiksin B ile karşılaştırıldığında nefrotoksitesitesi daha azdır. CMS ve polimiksin B'nin inhaler formu birçok ülkede kullanılmakla birlikte; CMS birçok ülkede (Kuzey ve Güney Amerika, Asya, Avrupa, Avustralya) kullanılırken polimiksin B'nin parantral formu Amerika, Brezilya ve Singapur'da kullanılmaktadır (88).

İlk defa 1947 yılında üretimi gerçekleşen polimiksinler, 1950 ve 1980 yılları arasında kullanılmış, ancak daha sonra görülen nefrotoksik yan etkileri nedeniyle yerini farklı ajanlara bırakmış ve uzun yıllar kistik fibrozisli hastaların tedavileri dışında kullanılmamışlardır. Ancak son yıllarda giderek artış gösteren dirençli bakterilerin neden olduğu enfeksiyonlar ve bu durumda kullanılabilir olacak antibiyotiklerin sınırlı olması, tedavide polimiksinlerin tekrar kullanıma girmesini sağlamıştır. Çalışmaların çoğu çok ilaca dirençli (MDR) *A.baumannii* ve *P.aeruginosa* kaynaklı enfeksiyonlara ait olmakla birlikte; karbapenem dirençli *K.pneumoniae* enfeksiyonlarına ait daha az çalışma bulunmaktadır. Bu çalışmalarda standart bir metodoloji bulunmamasına karşın her birinin içerdiği sonuçlar ve kazanılan deneyimler kabul edilebilir seviyededir.

Polimiksinler 1960'lı yılların erken dönemlerine kadar ciddi gram negatif bakteri enfeksiyonlarının tedavisinde kullanılmaktayken, o yıllarda *P.aeruginosa* kaynaklı enfeksiyonların tedavisinde etkili bir ajan olan gentamisin gibi aminoglikozidlerin kullanıma girmesinin ardından daha az tercih edilmiş daha sonra; 1980'li yılların başında nefrotoksik etkilerinin daha iyi anlaşılmasından sonra polimiksinler daha çok rezerv konumunda tutulmaya başlanmış ve kullanımları gereğinde daha çok topikal ya da oral olarak kullanılmışlardır (89). Bununla birlikte son dönemlerde giderek artan çok ilaca dirençli enterik bakteri, panresistant *Acinetobacter* ve *P.aeruginosa* enfeksiyonlarının ardından parenteral polimiksin kullanımını tekrardan yükseliş göstermiştir (90).

2.6.1. Etki mekanizması

Kolistin etki mekanizması tam net olmamakla birlikte 'self-promoted' teorisi kabul görmüştür (91). Kolistin gram-negatif bakterilerin sitoplazmik membranına etki edip, dış membranda bulunan anyonik yapıdaki LPS'e bağlanır daha sonra kolistin LPS'in stabilizasyonunda görevli Ca^{+2} ve Mg^{+2} köprüleri ile yer değiştirmek için yarışır bunun neticesi olarak Mg^{+2} ve Ca^{+2} yer değişimi sonucu dış membranda geçirgenlik bozulur ve bakteri ölür (92) (Şekil 2). Kolistinin antibakteriyel özelliğinin yanında anti endotoksin özelliği de bulunmaktadır (92). Yapılan bir çalışmada *Mycobacterium smegmatis*'te NADH dehidrogenaz (NDH-2) ve malat:kinon oksiredüktaz (MQO)'e karşı polimiksin B'nin inhibitör etkisi raporlanmıştır. Gram-negatif bakteriler için herhangi bir enzimatik aktivite tespit edilmemiştir (91). Kolistinin konsantrasyon bağımlı bakterisidal etkisi bulunmaktadır(93).



Şekil 2: Bakteri membranında kolistinin aktivitesi (92)

2.6.2. Antimikrobiyal aktivite

Kolistin dar bir antibakteriyel spektrum içerir. *Enterobacteriaceae* ailesinin büyük bir kısmına, *Acinetobacter spp.* ve *Pseudomonas aeruginosa*'ya karşı etkin olmak ile birlikte, gram-pozitif bakterilere, gram-negatif koklara, bazı anaerobik bakterilere, mantar ve parazitlere karşı yoktur. Tablo 4'de etki spektrumu verilmiştir. Kolistinin *Mycobacterium xenopi*, *Mycobacterium fortuitum*, *Mycobacterium intracellulare*, *Mycobacterium tuberculosis*, *Mycobacterium phlei* ve *Mycobacterium smegmetis* gibi bazı mikobakteri türlerine karşı etkin olduğu raporlanmıştır (93).

Tablo 4: Kolistin etki spektrumu (93)

	<i>Enterobacteriaceae</i>	<i>Pseudomonas</i>	<i>Diğer gram negatif basiller</i>	<i>Anaerobikler</i>
Duyarlı Bakteriler	<i>E. coli</i> <i>Citrobacter</i> <i>Klebsiella</i> <i>Enterobacter</i> <i>Salmonella</i> <i>Shigella</i>	<i>P. aeruginosa</i> <i>P. fluorescens</i> <i>P. putida</i>	<i>Acinetobacter</i> <i>S. maltophilia</i> <i>Moraxella</i> <i>H. influenza</i> <i>Bordetella</i> <i>Pasteurella</i> <i>L. pneumophila</i>	<i>B. melaninogenicus</i> <i>B. oralis</i>
Dirençli Bakteriler	<i>Proteus</i> <i>Campylobacter</i> <i>Providencia</i> <i>Morganella</i> <i>Serratia</i> <i>Brucella</i> <i>Nocardia</i>	<i>B. pseudomallei</i>	<i>V. cholerae</i> <i>V. eltor</i>	<i>B. fragilis</i>

2.6.3. İlacın atılımı

Kolistimetat sodyum bir ön ilaç olup, %60'ı glomerüler filtrasyon ile böbreklerden atılıp; diğer kısmı ise hidrolize olarak aktif olan kolistine dönüşür. Hidroliz işlemi vücut ısısında veya in-vitro test işlemlerinde oluşabilir (94). Renal yetmezlik durumunda CMS'nin renal atılımı azalacağı için aktif form olan kolistinin düzeyi yükselir ve yarılanma ömrü uzar bunun sonucunda; kolistin böbreklerde tübüler yeniden emilime uğrar ve esas olarak böbrek dışı yollarla etkisizleştirilir. Kolistin etkisizleştirilmesinin %1'den az kısmı renal yolla olur (95). Ancak etkisizleştirme mekanizması henüz tam olarak açıklanamamıştır.

2.6.4. Kullanım şekli

Piyasada kolistimetat sodyum veya baz kolistin içeren farklı formüllerin varlığı ve dozaj olarak bazı ürünlerin miligram (mg) bazılarının ise uluslararası ünite (IU) birimlerini kullanmasından kaynaklanan dozlarda farklılıklar olmuş olup; yaklaşık olarak 1 mg baz kolistin, 2,67 mg kolistimetat sodyumdur. Saf kolistin için 1 mg 30.000 IU'ye eşit iken, 1 mg kolistimetat sodyum 12.500 IU'a eşittir (96). Ülkemizde ve Amerika Birleşik Devletleri (ABD)'nde kolistimetat sodyum, böbrek fonksiyonları normal olan hastalarda 2,5-5 mg/kg/gün (maksimum 300 mg), 2-4 dozda, IV kullanımda onay almıştır ayrıca kolistinin yenidoğan bebekler (term ve preterm) da dahil tüm pediatrik yaş grubunda FDA (Food and drug administration) tarafından da onaylanmıştır. Böbrek fonksiyonlarında bozulma bulunan hastalarda kolistin dozunun ayarlanması gerekmele birlikte; 2010'da yayınlanan Sanford kılavuzunda böbrek fonksiyon bozukluğu olan hastalarda kreatinin klirensine göre hangi dozların uygulanması gerektiği bildirilmektedir (55, 97). Doz ayarlaması ile ilgili 2003 yılında yapılan bir çalışmaya göre; böbrek fonksiyonları normal ise doz 2,5-5 mg/kg/gün olup, kreatinin düzeyi 1,2-1,5 mg/dL ise 2,5-3,8 mg/kg/gün iki dozda, kreatinin düzeyi 1,6-2,5 mg/dL ise 2 mg/kg/gün tek dozda, kreatinin düzeyi \geq 2,6 mg/dL ise 1,5 mg/kg dozunda, 48 saatte bir verilmesi tavsiye edilmektedir (98).

Ülkemizde polimiksin E'nin Nisan 2010 tarihinde ruhsat almış kolistimetat sodyum içeren preparatı (Colimycin IM/IV-Koçak Farma) vardır. Ülkemizde bulunan preparat 150 mg baz kolistin aktivitesine sahip olup, 2,5-5 mg/kg/gün, 2-4 dozda verilmesi önerilen kolistimetat sodyum ihtiva etmektedir ayrıca uygulama kolaylığı açısından bu preparat 4,5 MIU kolistimetat sodyum içermektedir. Ülkemizde genellikle böbrek fonksiyonu normal olan hastalara tedavide 3 x 1-2 MIU kolistimetat sodyum verilmekle birlikte; kolistin sülfat oral yoldan intestinal dekontaminasyon amacıyla da kullanılmaktadır. Kolistin sülfatın oral preparatları ülkemizde bulunmamaktadır.

2.6.5. Yan etkiler

Hastalarda en sık görülen yan etki nefrotoksisite olup; nefrotoksisite doz bağımlıdır ve antibiyotiği kestikten sonra reversibldir (95). Nefrotoksik etkiler yapılan çalışmalarda bazı olgular için % 6-14 arasında, bir başka çalışma grubunda da % 32-55 arasında değişen oranlarda tespit edilmiştir(89, 99). Nefrotoksik yan etkilerle ilişkili tanımlanan risk faktörleri ileri yaş, önceden renal yetmezlik bulunması, hipoalbuminemi ve tedavi sırasında nonsteroid antiinflamatuvar ve vankomisin kullanımı olarak raporlanmıştır (96, 100, 101). Nefrotoksik yan etkilerin total alınan doz ya da günlük dozla ilişkisi tam olarak bilinmemekle birlikte uzamış tedavi süresinin yan etkileri artırdığı bildirilmektedir. Yapılan çalışmaların dördünde renal toksisitenin tedavinin ilk bir haftası içinde ortaya çıktığı tespit edilmiştir (96, 100-102). Diğer bir risk faktörü ise, nefrotoksik etkisi olan başka ilaçların birlikte verilmesi olup kolistinin geçmişte toksisite nedeniye tercih edilen aminoglikozidlerden daha az nefrotoksik olduğu anlaşılmıştır. Yoğun bakım hastalarında da kullanılabilir. Aminoglikozidlerle birlikte verilmesi tavsiye edilmemektedir (103). Çalışmaların çoğunda nefrotoksisite zamanı bildirilmemiş olup rapor edilen çalışmaların çoğunda nefrotoksisitenin ilk bir hafta içinde geliştiği bildirilmiştir (103). İlaç kesildikten sonraki 1-3 ay içinde böbrek yetmezliğinin ~% 90 oranında düzeldiği görülmüş olup; kolistini 14 günden fazla alanlarda nefrotoksisite olasılığı yaklaşık olarak 4 kat artmaktadır. Nefrotoksisite çoğunlukla reversibldir ve genellikle böbrek fonksiyonları bir ay içinde normal seviyelerine

döner (89). Klinik bulgular; serum kreatininde artma, GFR (glomerüler filtrasyon hızı)'de azalma ve idrarda patolojik bulgular (glikozüri, proteinüri, hematüri, silendirüri, oligüri) olup; akut tübüler nekroz da gelişebilmektedir (89).

Polimiksinlerin toksisitesi yapısındaki D-amino asit ve yağ asitleri ile ilişkilendirilebilir. Bu ilacın nefrotoksisitesi aminoglikozidlerle benzerdir ve her iki ilaç grubu da proksimal tübüllere etki göstermektedir. Proksimal tübül hücreleri tarafından alınıp daha sonra hücre içinde yoğunlaşırlar. Bu iki grup ilacın hücre içine alınmasında membranda bulunan megalin maddesinin etkisi önemlidir. Sitoplazmik membran permeabilitesi artmakta ve hücre içine anyonların, katyonların ve suyun aşırı girmesi ile hücreler şişip lizise uğramaktadır, bunun yanında toksik etki doz ve süreyle ilişkilidir. Kolistin nefrotoksitesinde glomerüler yapı hasar görmemektedir (89).

Nörotoksositeye bağlı olarak uzun süre kullanımda parastezi, görsel değişiklikler, parsiyel sağırlık, halüsinasyonlar, ataksi, vertigo, konfüzyon ve nöromusküler blokaj gelişimi izlenmekle birlikte nöromusküler blokaj kas güçsüzlüğüne ve apneye neden olmaktadır. Apne gelişimi durumunda, IV Ca^{+2} kullanımı apnenin geçmesini sağlayabilir. Kolistimetat sodyum kullanımı sonrası bildirilmemiş olup, nörotoksosite oranı %0-7 olarak rapor edilmiştir (93). Daha az sıklıkla da psikoz, koma, konvülsiyon, pitozis, diplopi, arefleksi, disfaji ve disfoni de görülebilmekle birlikte; en sık gözlenen nörotoksik yan etki parastezi (yaklaşık % 27) olarak bildirilmiştir (104).

Kolistin kullanımından kaynaklanan diğer yan etkiler arasında özellikle inhale kullanımı sonrasında bildirilen boğaz ağrısı, nefes darlığı, öksürük, bronkospazm ve hipersensitivite reaksiyonları yer alır (105). Kolistin kullanımına bağlı tedaviyi kesmeye gerek duyulmayacak şiddette alerjik reaksiyon %2, hafif kaşıntı %22 oranında raporlanmıştır (106). Kontakt dermatit (ekzema, eritematöz erüpsiyon) sonrası topikal kullanımı da söylenmiştir (107).

2.6.6. Kolistin MİK düzeyinin ölçülmesi

Bilindiği gibi kolistin MİK düzeyi broth mikrodilüsyon, E-test, disk difüzyon agar dilüsyon ve otomatize sistemlerle ölçülebilmektedir.(108) EUCAST yaptığı güncellemelerle broth mikrodilüsyon yöntemi dışındaki yöntemleri bırakmıştır. Kolistin MİK değerinin doğrulanması için broth mikrodilüsyon yöntemini önermektedir.

2.6.7. Kolistin Duyarlılık Testleri

"National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS)" kılavuzlarında kolistinin farklı mikroorganizmalara karşı in vitro minimal inhibitör konsantrasyon (MİK) değerleri ilk kez 1970 yılında raporlanmış, ancak kolistin kullanımının azalması nedeniyle 1981 yılından sonra herhangi bir değişikliğe gidilmemiş ve 2000 yılında da kılavuzdaki yerini kaybetmiştir (109). Kolistin için duyarlılık testlerinin standardizasyonu Fransa, Almanya ve İngiltere'de yapılmıştır. Kolistin sülfat için duyarlılık limitleri farklılık arz etmektedir; Fransız Mikrobiyoloji Cemiyeti ≤ 2 mg/L duyarlı, > 2 mg/L dirençli ve İngiliz Antimikrobiyal Kemoterapi Derneği ise ≤ 4 mg/L duyarlı ve ≥ 8 mg/L dirençli olmak üzere iki farklı limit tespit etmişlerdir (110). Kolistin duyarlılığını saptamak için genellikle disk difüzyon testi kullanılmaktadır. Kolistin diskleri 10 µg kolistin sülfat ihtiva etmektedirler. Zon çapının ≥ 11 mm olması duyarlı olarak kabul edilmektedir (111, 112). Ancak yüksek MİK değerlerine sahip suşların yaklaşık %5'i disk difüzyon testinde duyarlı çıkmaktadırlar. Bu nedenle disk difüzyon testi sonuçlarının dilüsyon testi ile doğrulanması önem arz etmektedir (111).

2.6.8. Kolistin Direnç Mekanizmaları

Kolistinin direnç mekanizmalarıyla ilgili veriler kısıtlıdır. Direnç mutasyon ya da adaptasyon mekanizmaları ile meydana gelebilir. *P. aeruginosa* ile yapılan çalışmalar dirençte OprH (veya H1)'in suçlanabileceğini düşündürmektedir. OprH bir

dış membran proteindir ve Mg²⁺ düşük olduğu ortamda fazla miktarda salgılanarak polimiksin ve gentamisin direnci gelişimine sebep olmaktadır (110, 113).

Polimiksinlerde çapraz direnç gelişimi vardır (113). Bununla birlikte *P. aeruginosa*'da kolistine direnç gelişirken diğer antibiyotiklere duyarlılık artışı izlenmektedir. Duyarlılık artışı özellikle kloramfenikol ve tetrasikline karşı meydana gelmektedir.

2007 yılında Yunanistan'da yapılan bir çalışmada, çoklu ilaç direnci bulunan patojenlerle enfeksiyon nedeniyle kolistin kullanılan yoğun bakım hastalarında kolistine dirençli *K. pneumoniae* ile bronşiyal ve bağırsak kolonizasyon oranı %37 olarak tespit edilmiştir (114).

Moleküler düzeyde direnç lipopolisakkaridlerin farklı lipid kompozisyonlarına ya da dış membranda OprH proteininin magnezyumla yer değiştirmesinden kaynaklı olabilir (110).

Kolistine karşı enzimatik direnç bildirilmemekle birlikte *B. polymyxa subspecies colistinus* kolistini inaktive eden kolistinaz üretmektedir (114).

2.6.9. Kolistin'e Kazanılmış Direnç

Kolistin direnç geliştirme olasılığı düşük olarak bildirilmekle birlikte kazanılmış dirençle ilgili veriler kısıtlıdır. İngiltere ve Danimarka'da 15 yıldan daha uzun süredir inhale kolistin metansülfonat sodyum kullanılıyor olmasına rağmen ÇİD *P. aeruginosa* suşlarında kolistin direncine rastlanılmamıştır (115-117). Gilad ve arkadaşları İsrail'de *A. baumannii* suşlarında kolistin kullanımı ve direnç gelişimi arasında güçlü bir ilişki olduğunu raporlamışlardır (118). Kore'de yapılan bir çalışmada *Acinetobacter* spp.'de kolistine %27.9 oranında direnç geliştirdiği saptanmıştır (119).

3. GEREÇ VE YÖNTEM

Çalışmamıza Ocak 2015-Ağustos 2017 tarihleri arasında Sağlık Bakanlığı Ankara Eğitim ve Araştırma Hastanesi'nin çeşitli klinik ve yoğun bakım ünitelerinde yatan hastalardan tıbbi mikrobiyoloji laboratuvarına gönderilen klinik örneklerden izole edilen 66 *K. pneumoniae* türü dahil edildi. Karbapenem dirençli olarak tanımlanan suşlar çalışma gününe kadar -80°C'de boncuklu bakteri saklama tüplerinde (Or-bak, Mikrobank, Türkiye) saklandı.

3.1 *Klebsiella pneumoniae* izolatlarının çalışmaya dahil edilme şartları

Çalışmaya Ocak 2015 ve Ağustos 2017 tarihleri arasında Tıbbi Mikrobiyoloji laboratuvarında *K. pneumoniae* olarak izole edilen suşlar arasından Phoenix 100 (Becton Dickinson Co, Sparks, MD, ABD) otomatize identifikasyon sisteminde çalışılıp karbapenemlerden en az birine dirençli olarak bulunan 66 izolat dahil edildi. Bu kökenlerin karbapenem direnci disk diffüzyon yöntemiyle tekrar çalışıldı. Suşların izole edildikleri servisler açısından herhangi bir kısıtlamaya gidilmedi.

3.2. *Klebsiella pneumoniae* suşlarının identifikasyonu ve duyarlılık çalışması

Tıbbi Mikrobiyoloji laboratuvarına gönderilen klinik örnekler örnek tipine göre kanlı agar, EMB agar ve/veya çikolata agar besiyerlerine ekildi, 24 saat 37 °C'de inkübe edildikten sonra değerlendirildi. Bu değerlendirme sonucunda üreme olan plaklardaki kolonilerden Gram boyama yapıldı. Gram negatif basil morfolojisindeki bakterilerin identifikasyon ve duyarlılık testleri Phoenix 100 (Becton Dickinson Co, Sparks, MD, ABD) otomatize sisteminde gerçekleştirildi.

3.2.1 İdentifikasyon için bakteri süspansiyonu hazırlanması

1) Phoenix ID broth tüpü (4,5 ml) içine, koyun kanlı agardaki kolonilerden steril öze yardımıyla 1-2 adet alındı, kapağı kapatıldıktan sonra 5sn vortekslendi ve homojen bir bakteri süspansiyonu elde edildi.

2) Tüpler, türbidite ölçümünün yapılabilmesi amacıyla BD PhoenixSpec Nefelometre (Becton Dickinson Co, Sparks, MD, ABD) cihazı içine yerleştirildi.

3) Üreticinin önerileri doğrultusunda BD PhoenixSpec Nefelometre cihazı ile elde edilen 0,5-0,6 aralığındaki türbidite değerleri kabul edilebilir inokülüm dansitesi olarak yorumlandı.

4) Hazırlanan tüplerden identifikasyon panellerine inokülasyon yapıldı.

3.2.2 Antimikrobiyal duyarlılık için bakteri süspansiyonu hazırlanması

1) AST indikatör solüsyonu oda ısısına getirildi.

2) Phoenix AST broth tüpü (8 ml) içine, AST indikatör solüsyonundan bir damla, tüpün kenarlarına değmemesine dikkat edilerek eklendi; tüpün kapağı kapatıldıktan sonra solüsyonun karışması için, tüp birkaç kez ters-yüz edildi.

3) ID tüp içindeki homojen bakteri süspansiyonundan otomatik pipet yardımıyla 25 µl alınıp AST broth tüpü içine eklendi. Tüpün kapağı kapatıldıktan sonra karışmanın sağlanması amacıyla AST tüpü birkaç kez ters-yüz edildi.

3.2.3 İdentifikasyon ve antimikrobiyal duyarlılık testlerinin çalışılması

1) İdrar örneklerinde identifikasyon ve antibiyotik duyarlılık testi için **BD Phoenix™-Gram Negative Combo Panel (UNMIC/ID-401)**; idrar dışı örneklerde ise **BD Phoenix™-Gram Negative Combo Panel (NMIC/ID-400)** kullanıldı.

2) Ambalajından çıkarılan paneller ve hazırlanan bakteri süspansiyonları panel inokülasyon istasyonu üzerine yerleştirildi.

3) ID tüp içindeki bakteri süspansiyonu, panelin ID tarafındaki (51 kuyucuklu taraf) kuyucuğa tamamen boşaltıldı ve sıvının panel boyunca aşağı doğru hareketi gözlemlendi.

4) AST tüpü içindeki bakteri süspansiyonu, panelin AST tarafındaki (85 kuyucuklu taraf) kuyucuğa tamamen boşaltıldı ve sıvının panel boyunca aşağı doğru hareketi gözlemlendi.

5) Tüplerin boşaltılmış olduğu kuyucuklar, plastik bir kapak vasıtası ile sıkıca kapatıldı. Kapak kapatıldıktan sonra panel üzerindeki her bir kuyucuğun dolup dolmadığı gözle kontrol edildi.

6) Panellerin cihaza yüklenene kadar panel taşıyıcısı üzerinde vertikal pozisyonda tutulmasına özen gösterildi.

7) Barkod okuyucu yardımıyla panellerin üzerindeki barkodlar okutuldu.

8) Paneller cihaza yüklendi ve bilgisayara panellerin girişleri yapıldı.

9) Sonuçlar 18-24 saatlik inkübasyondan sonra değerlendirildi.

Karbapenem dirençli olarak tespit edilen *K. pneumoniae* suşları ayrıca EUCAST önerileri doğrultusunda disk difüzyon yöntemi ile de çalışıldı.

3.2.4. Disk Difüzyon Yöntemiyle Karbapenem Duyarlılıklarının Çalışılması

Otomatize antimikrobiyal duyarlılık yöntemleriyle en az bir karbapenem sınıfı antibiyotiğe, orta duyarlı veya dirençli olarak rapor edilen suşların, karbapenem duyarlılıkları EUCAST önerileri doğrultusunda Kirby Bauer disk difüzyon yöntemiyle çalışıldı.

1) Steril, tek kullanımlık 9 cm çaplı petri plaklarına, 4 mm yükseklikte olacak şekilde Mueller Hinton agar (Becton Dickinson Co, ABD) besiyeri döküldü. Plaklar kullanılmaya kadar +4 °C’de saklandı.

2) Koyun kanlı agarda saf olarak üremiş *K. pneumoniae* kolonilerinden steril öze yardımıyla alınıp, 0,5 MacFarland bulanıklığı elde edilecek şekilde 5 ml’lik steril serum fizyolojik (SF) içine süspansiyon edildi.

3) Pamuk uçlu steril eküvyon, hazırlanan süspansiyon içine batırıldı ve karıştırıldı; sonra eküvyon tüpün iç duvarına bastırılarak fazla sıvı süzüldü.

4) Eküvyon Mueller Hinton agar plağının bir tarafından başlanarak, boş yer kalmamasına dikkat edilerek tüm yüzeye yayıldı.

5) Petri 60° döndürülerek agar yüzeyine yayma işlemi tekrarlandı. Bu işlem iki kez daha tekrar edildi.

6) Plakların oda ısısında kurumasını takiben, 10 µg ertapenem (ERT) (Oxoid, İngiltere), 10 µg imipenem (IMP) (Oxoid, İngiltere) ve 10 µg meropenem (MRP) (Oxoid, İngiltere) diskleri, agar üzerine plak kenarından 1,5 cm uzak ve aralarında 2-2,5 cm mesafe olacak şekilde, steril bir penset yardımıyla yerleştirildi.

7) Besiyerleri 37° C’de 24 saat inkübe edildi.

8) Siyah zemin üzerinde diskler de dahil olmak üzere inhibisyon zon çapları milimetrik cetvelle ölçüldü.

9) Elde edilen sonuçlar EUCAST kriterlerine göre duyarlı (S), orta duyarlı (I) ve dirençli (R) olarak değerlendirildi.

Disk difüzyon testi sonucunda da en az bir karbapenem grubu antimikrobiyal ajana dirençli *K. pneumoniae* suşları kolistin MİK düzeyinin değerlendirilmesi için sıvı mikrodilüsyon testi ile çalışıldı.

3.2.5. Sıvı Mikrodilüsyon Testi

1. Sıvı mikrodilüsyon testi için gerekli malzemeler

I. Mueller – Hinton sıvı besiyeri (Merck, Almanya)

İçeriği(g/l):

Meat 2.0

Kazein hidrolizat 17.5

Nişasta 1.5

a. Ticari toz besiyerinden üreticinin belirttiği şekilde hazırlandı.

b. %2 NaCl ilave edildi.

c. Otoklavda 121° C’de 15 dk. sterilize edildi.

II. Antibiyotik stok solüsyonu

a. Antibakteriyel maddenin stok solüsyonları aşağıdaki formüle göre hazırlandı:

Ağırlık (mg) = Volüm (ml) X Konsantrasyon (µg/ml)/ Antibiyotik potensi (µg/mg)

b. Antibakteriyel maddenin stok solüsyonunun hazırlanmasında ve dilüsyonunda distile su kullanıldı.

c. Kolistin, 0,125 µg/ml ‘den 16 µg/ml’ye kadar 8 ayrı konsantrasyonu test edildi.

III. Bakteri inokulumu

- a. İnokulum, *K. pneumoniae*'nin 24 saatlik kanlı agar kültüründen, MHB içerisinde 0.5 McFarland standart bulanıklıkta olacak şekilde, doğrudan koloni süspansiyonu yöntemi ile hazırlandı.
- b. Bu süspansiyon, MHB ile 1/100 oranında dilüe edilerek, 10^6 CFU/ml konsantrasyonu elde edildi.

2. Testin yapılışı

- a. Steril U tabanlı, 96 kuyucuklu mikrodilüsyon plakları kullanıldı.
- b. Her bir kuyucuğa 50 µl %2 NaCl içeren Mueller-Hinton sıvı besiyeri konuldu.
- c. İlk kuyucuklara antibiyotik stok solüsyonundan 50µl konularak son kuyucuğa kadar seri dilüsyon yapıldı.
- d. Hazırlanan bakteri süspansiyonundan her kuyucuğa 50 µl inoküle edildi. Böylece kuyucuklardaki son inokulum konsantrasyonu 5×10^5 CFU/ml oldu.
- e. Her bir suş için, antibiyotik içermeyen kuyucuklarda inokulum kontrolü ile her plakta iki kuyucukta besiyerinin sterilite kontrolü yapıldı.
- f. *P. aeruginosa* ATCC 27853 kontrol suşu olarak kullanıldı.
- g. Plaklar 35° C'de 24 saat inkübe edildi.

3. Değerlendirme ve yorum

Üremenin görülmediği en düşük konsantrasyon, o suş için minimal inhibitör konsantrasyon (MİK) olarak değerlendirildi. Kolistin MİK değeri ≤ 2 µg/ml olan suşlar kolistine duyarlı, >2 µg/ml olanlar ise kolistine dirençli olarak kabul edildi (120). Kolistin için MİK aralığı 0,125 µg/ml ve 16 µg/ml arasındaki 8 ayrı

konsantrasyonda MİK değerleri çalışıldı. Test populasyonunun $\geq\%50$ kadarının inhibe edildiği MİK değeri MİK 50 değeri olarak, test populasyonunun $\geq\%90$ 'ının inhibe edildiği MİK değeri ise MİK 90 değeri olarak belirlendi.

3.3. İstatiksel Analiz

Çalışmada elde edilen veriler, bilgisayar ortamına aktarılarak IBM SPSS (version 15.0) paket programında değerlendirildi. Verilerin analizde Kruskal Wallis (Bonferroni düzeltmeli), X^2 ve bağımlı değişkenlerin analizinde Wilcoxon testi kullanıldı.



4. BULGULAR

Çalışmamıza Ocak 2015-Ağustos 2017 tarihleri arasında Sağlık Bakanlığı Ankara Eğitim ve Araştırma Hastanesi Tıbbi Mikrobiyoloji laboratuvarına gönderilen klinik örneklerden izole edilen 66 karbapenem dirençli *K. pneumoniae* suşu dahil edildi. Bu suşlarda kolistin duyarlılığının saptanmasında Phoenix 100 (Becton Dickinson Co, Sparks, MD, ABD) cihazı ve sıvı mikrodilüsyon yöntemi kullanıldı.

Çalışmaya dahil edilen suşların yıllara göre dağılımı Tablo 5'te görülmektedir, izole edildikleri örnek türü ve kliniklere göre dağılımı ise Tablo 6'da görülmektedir.

Tablo 5. Çalışmada test edilen 66 *K. pneumoniae* suşunun izole edildiği yıllara göre dağılımı

Yıllar	n	%
2015	16	24.2
2016	26	39.4
2017	24	36.4

Tablo 6. Çalışmada test edilen 66 *K. pneumoniae* suşunun izole edildiği örnek türlerine ve servislere göre dağılımı

Bölüm	Örnek tipi				n(%)
	Trakeal aspirat	Kan	İdrar	Damar içi katater	
Anestezi ve reanimasyon	6	6	5	1	18(27.3)
Acil dahiliye YB	2	6	4	-	12(18.2)
Acil ameliyathane ve cerrahi	5	1	4	-	10 (15.2)
Nöroloji YB	-	4	3	2	9(13.6)
Yenidoğan YB	-	3	2	-	5(7.6)
Beyin cerrahi ameliyathanesi	-	2	2	-	4 (6.1)
Genel dahiliye YB	-	1	2	-	3(4.5)
Nöroloji servisi	-	1	-	-	1(1.5)
Üroloji servisi	-	-	1	-	1(1.5)
Beyin cerrahisi servisi	-	1	-	-	1(1.5)
Gastroenteroloji servisi	-	1	-	-	1(1.5)
Genel cerrahi servisi	-	-	1	-	1(1.5)
Toplam	13(%19)	26(%38)	24(%36)	3(%7)	66(100.0)

Çalışmada test edilen 66 *K. pneumoniae* suşunun izole edildiği servislere ve yıllara göre karşılaştırılması Tablo 7’de verilmiştir. Çalışmada test edilen 66 *K. pneumoniae* suşunun izole edildiği servislere ve yıllara göre karşılaştırılmasında anlamlı fark tespit edilememiştir. (p=0.527).

Tablo 7. Çalışmada test edilen 66 *K. pneumoniae* suşunun izole edildiği servislere ve yıllara göre karşılaştırılması

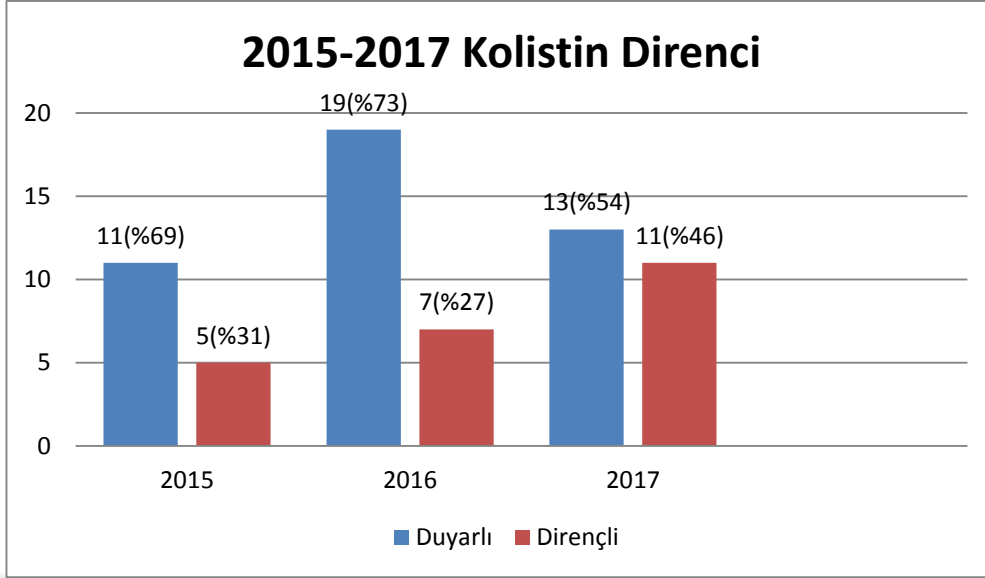
Yıllar	Cerrahi servisler n(%)	Dahili servisler n(%)	X ² ; p
2015	5 (31.3)	11(68.8)	1.280; 0.527
2016	7 (26.9)	19 (73.1)	
2017	4 (16.7)	20 (83.3)	
Toplam	16 (24.2)	50 (75.8)	

Çalışmaya dahil edilen suşların kolistine duyarlılığı sıvı mikrodilüsyon yöntemi ile çalışıldı. Kolistin duyarlılık oranlarına bakıldığında 2015 yılına ait 16 izolata %69 (11/16) duyarlı ve %31(5/16) dirençli, 2016 yılında %73 (19/26) duyarlı ve %27 (7/26) dirençli, 2017 yılında ise %54 (13/24) duyarlı ve %46(11/24) dirençli olarak bulundu (Grafik 1). Dirençli 23 suşun tamamı hastanemizin yoğun bakım ünitelerinde yatan hastaların klinik örneklerinden izole edilmiştir.

Çalışmaya alınan izolatlara test edilen mikrodilüsyon yöntemiyle kolistine duyarlılıkları, MİK aralıkları, MİK 50 ve MİK 90 değerleri Tablo 8’de verilmiştir.

Tablo 8. Çalışmada test edilen 66 *K. pneumoniae* suşunun mikrodilüsyon yöntemiyle kolistine duyarlılıkları, MİK aralıkları, MİK 50 ve MİK 90 değerleri.

Yıllar					
	Duyarlı (%)	Dirençli (%)	MİK Aralığı (µg/ml)	MİK 50 (µg/ml)	MİK 90 (µg/ml)
2015	11 (69)	5 (31)	0.125 - 8	1	8
2016	19 (73)	7 (27)	<0.125 - >16	1	>16
2017	13 (54)	11 (46)	<0.125 - >16	2	>16
Toplam	43 (65)	23 (35)	<0.125 - >16	2	>16



Grafik 1: KRKP izolatlarında yıllara göre kolistin direnç dağılımı

Çalışmada test edilen 66 *K. pneumoniae* suşunun mikrodilüsyon yöntemiyle ölçülen kolistin MİK değerlerinde yıllara göre oransal olarak bir artış tespit edilmekle birlikte, istatistiksel olarak anlamlı bir fark tespit edilmemiştir. ($p= 0.382$).

Çalışmamızda, 2016 yılına ait iki suşta ve 2017 yılına ait bir suşta mikrodilüsyon yöntemi ve Phoenix 100 (Becton Dickinson Co, Sparks, MD, ABD) otomatize sistemi sonuçları arasında uyumsuzluk görülmüştür. Çalışmamızda bir suşta çok büyük hata, iki suşta büyük hata saptanmıştır (Tablo 9).

Tablo 9. Test edilen yöntemlerle büyük hata ve çok büyük hata tespit edilen suşlar.

Yıl	Suş numarası	Mikrodilüsyon (MİK değeri $\mu\text{g/ml}$)	Otomatize sistem (MİK değeri $\mu\text{g/ml}$)
2016	18*	S (0.5)	R (8)
2016	42*	S (2)	R (8)
2017	47**	R (8)	S (1)

*Büyük hata tespit edilen suşlar

**Çok büyük hata tespit edilen suş

5. TARTIŞMA

Antibiyotiklere karşı direnç, tüm dünyada insan sağlığını tehdit altında tutmaktadır. Tedavi seçeneklerinin her geçen gün azalmasıyla birlikte, bakteriyel enfeksiyonlara bağlı mortalite ve morbidite giderek yükselmektedir (121). Çoklu ilaç dirençli *K. pneumoniae* enfeksiyonlarında da kolistin ilk tercih edilecek tedavi seçeneklerinden biri olarak öne çıkmaktadır.

Antibiyotiklere dirençli bakteri türlerinin hızlı ve küresel yayılımı son yıllarda bu güne kadar görülmemiş şekilde olmuştur. Dirençli gram pozitif bakteriler önemli bir endişe sebebi olmasına rağmen dirençli gram negatif bakterilerin artmış insidansı daha önemli ve acil önlemlerin alınmasını gerektiren bir sorun olarak karşımıza çıkmaktadır (122). Bu direncin yayılımının daha hızlı olmasına gereksiz antibiyotik kullanımı neden olmuştur (122). β -laktam antibiyotik dirençlerinin yanı sıra *K. pneumoniae* türleri aminoglikozidler, kinolonlar ve tetrasiklinlerin de dahil olduğu çok sayıda antibiyotiğe de direnç geliştirirler. Karbapenemlere dirençli *K. pneumoniae* suşları son yıllarda gözlenmeye başlanmış ve bunların sıklığı giderek yükselmiştir. Karbapenem dirençli *K. pneumoniae* (KRKP) izolatları hemen hemen mevcut tüm antibiyotiklere direnç göstermekle birlikte bu türler genellikle sadece polimiksinlere ve tigesikline duyarlıdırlar (29, 122, 123).

Antibiyotik direnç oranları *K. pneumoniae*'da ülkeden ülkeye hatta aynı ülkenin değişiklik bölgelerinde ve hastanelerde değişiklik gösterir (124). Bu oransal değişiklikler; hastanenin antibiyotik kullanım politikasına, hastanede uygulanan tıbbi ve cerrahi prosedürlere ve hasta popülasyonuna bağlıdır (125).

Karbapenemler GSBL üreten gram negatif enfeksiyonların tedavisinde kullanılan en önemli antibiyotik grubu arasındadır (126). Karbapenem dirençli *K.pneumoniae* ilk kez 1997'de Amerika' da MacKenzie ve arkadaşları tarafından, 2001 yılında da ülkemizde İstanbul Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi'nden üriner sistem enfeksiyonu olan bir hastadan izole edilmiştir (8, 127). Bununla birlikte son yıllarda karbapenemlere dirençli bakteri türleri hem ülkemizde hem de dünyanın

diğer bölgelerinde artmıştır ve bu türlerin sıklığı ülkeden ülkeye büyük değişiklik gösterir (126). Örneğin Middle Atlantic’de bu oran %33 iken New England’da bu oran %85’tir (128). Günümüzde dünyada yayılmakta olan karbapenem dirençli *Enterobacteriaceae* türlerinin görülmesi ciddi sağlık problemidir ve artmış mortalite ile ilişkilendirilmiştir (129). Karbapenem dirençli bakterilerle kolonizasyon için; hastada genel durum bozukluğu, yoğun bakım ünitesinde kalma, önceden antibiyotik kullanımı, bakım evinde kalma, daha önceden anti-pseudomonal penisilin ve kolistin gibi antibiyotiklerin kullanımı, risk faktörleri arasındadır. Bunun yanında Saidel-Odes ve arkadaşları herhangi bir risk faktörü olmadan da genel durumu bozuk olan hastalarda persistan KKKP enfeksiyonu görülebileceğini ifade etmektedir(130). Özellikle *K. pneumoniae*’da belirli karbapenemazlar yoluyla dirençli türlerin uluslararası yayılımı en önemli halk sağlığı problemlerden biri olarak karşımıza çıkmaktadır (131).

Çalışmamıza dahil edilen karbapenem dirençli 66 suş, hastanemizdeki *K. pneumoniae* izolatlarının bir bölümüdür. Bizim çalışmamızı kapsayan 2015-2017 yılları arasında laboratuvarımızda izole edilen *K. pneumoniae* izolatlarının %29’u ertapeneme, %13.3’ü meropeneme, %9.8’i imipeneme dirençli olarak bulunmuştur. Candevir Ulu ve ark. yaptığı bir çalışmada yoğun bakımda yatan hastalardan elde edilen 105 *K. pneumoniae* izolatında karbapenem direnci oranı %48 olarak oldukça yüksek oranda bulunmuştur (132).

Karbapenem dirençli türler ile mücadelede kolistin, tigesiklin, aminoglikozid grubu antibiyotikler monoterapi veya kombine tedaviler şeklinde öne çıkmaktadır (133).

Kolistin, siklik yapılı katyonik polipeptid antibiyotikler olan polimiksin ailesinin bir üyesidir. 1947 yılında keşfedilen polimiksinler, 1962 yılından itibaren gram negatif bakterilerin etken olduğu enfeksiyonların tedavisinde parenteral olarak kullanılmıştır. 1980 yılında ciddi nefrotoksik yan etkileri nedeni ile kullanımı bırakılmıştır. Günümüzde gram-negatif bakterilerin etken olduğu enfeksiyonlarda çoklu ilaç direnci nedeni ile tekrar kullanılmaya başlanmıştır (94).

Acinetobacter spp., *Pseudomonas aeruginosa*, *Klebsiella* spp., *Enterobacter* spp., *Escherichia coli*, *Shigella* spp., *Salmonella* spp., *Citrobacter* spp., *Haemophilus*

influenzae, *Yersinia pseudotuberculosis* ve *Bordetella pertussis*'e karşı kolistin bakterisidal etkisi gözlenmektedir (93).

Son zamanlarda karbapenemaz üreten dirençli suşların tedavisinde ana endişe özellikle kolistin dirençli türlerin gözlenmesidir (134). Kolistin dirençli bu türlerin ortaya çıkmasının yoğun ve artmış şekilde karbapenem grubu antibiyotiklerin kullanımının bir sonucu olduğu belirtilmektedir (133). Ayrıca literatürde kolistin direnç gelişimi için en önemli risk faktörünün uzun süre kolistin kullanımı olduğu ifade edilmiştir (135).

Geçtiğimiz yıllarda sporadik olarak kolistin dirençli karbapenem dirençli *Klebsiella* izolatları raporlanmıştır ve zaman ilerledikçe başka olgular da çıkmaktadır (5, 14, 136). Amerikada ilk kolistin dirençli *Klebsiella* izolatları 2009 yılında raporlanmıştır (137).

2014 yılında Haciseyitoğlu ve ark. yaptıkları çalışmada, çeşitli klinik örneklerden izole edilen *Escherichia coli* ve *K. pneumoniae* izolatlarının antibiyotiklere direncini *K. pneumoniae*'da imipeneme %10.5, meropeneme %7.0, ertapeneme %11.6 dirençli olarak bulunurken, kolistine karşı dirençli izolata rastlamamışlardır (138).

Saygılı Pekintürk ve ark 2011-2015 yıllarını kapsayan çalışmada, yatan hastalardan izole edilen *Escherichia coli* ve *Klebsiella spp.* suşlarında genişlemiş spektrumlu beta-laktamaz üretimi ve yıllar içerisindeki antibiyotik direnç oranlarının değişimini irdelenmişlerdir. Bu çalışmaya 315 *Klebsiella* suşu dahil edilmiş olup bunlardan 293'ü *K. pneumoniae*, 21'i *K. oxytoca* ve biri *K. ozanea* olarak tespit edilmiştir. Yıllara göre kolistin direnç oranları değerlendirildiğinde; 2012 yılında kolistine 23 suştan sadece bir tanesinde (%4) dirençli tespit edilmişken, sonraki yıllarda direnç oranı hızla artmış, 2014'de bu oran %6'ya, 2015'de ise %35'e ulaşmıştır (139).

2009 yılında ABD'de yapılan çalışmada 60 karbapenem dirençli *K. pneumoniae* suşundan sadece beşinde kolistin direncine rastlanılmıştır (125).

Bradford ve ark %95 i *K. pneumoniae* olan 19.719 adet *Enterobacteriaceae spp.* izolatından %1,6'sında kolistin direnci tespit etmişlerdir ancak karbapenemaz olumlu 482 suşta bu oran %12'ye çıkmıştır (131).

İtalya'dan bildirilen bir çalışmada, karbapenemaz üreten *K. pneumoniae* suşlarında kolistin direncinin 2010-2013 yılları arasında %11'den %27'ye yükseldiği belirtilmiştir (132).

Yunanistan, Güney Kore ve Amerika Birleşik Devletleri gibi birçok ülkedeki hastanelerde kolistin dirençli karbapenemaz üreten *K. pneumoniae*'lara bağlı salgınlar tanımlanmıştır (133).

Liste ve arkadaşları Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi'nde Ocak 2016 ve Temmuz 2017 tarihleri arasında kan kültürlerinden izole edilen 151 *Klebsiella* izolatında mikrodilüsyon yöntemi ile kolistin direnci oranlarını araştırmışlardır. 20 suşda (%13,2) kolistin direnci saptamışlardır. Suşların kolistin MİK 50 ve MİK 90 değerlerini 0,125 µg /ml ve 8 µg /ml olarak bulmuşlardır (140). Bizim çalışmamızda ise 2015 yılında MİK 50 ve MİK 90 oranları sırasıyla 1 µg /ml ve 8 µg /ml; 2016 yılında 1 µg /ml ve >16 µg /ml; 2017 yılında ise 2 µg /ml ve > 16 µg /ml olarak tespit edilmiştir.

Çalışmamızda kolistin dirençli izolatların %100'ü yoğun bakım hastalarından izole edilmiştir. Saygılı Pekintürk ve ark.'nın yaptığı çalışmada, suşların %73'ü yoğun bakımlardan soyutlanmıştır (127). Yine aynı çalışmada izole edilen örneklerin onu (%67) idrar, dördü (%27) endotrakeal aspirat, biri (%6) ise kan kültürüdür (127). Bizim çalışmamızda ise en çok kan örneklerinden (%39) patojen izole edilirken onu idrar (%36) izlemiştir ayrıca %19 oranında trakeal aspirat örneklerinden izole edilmiş en az damar içi kataterden (%4) izole edilmiştir.

Şimşek ve ark., Türkiye Halk Sağlığı Kurumu'nda karbapenem dirençli 42 adet *K. pneumoniae* ve beş adet *E. coli* suşunda kolistin direncinin saptanmasında sıvı mikrodilüsyon yöntemi ve gradiyent strip yöntemini karşılaştırmışlardır. Suşların sıvı mikrodilüsyon yöntemi ile 28'ini (%59,57) duyarlı, 19'unu (%40,42) dirençli olarak saptamışlardır. Gradyent strip yöntemi ile izolatların 30'una (%63,82) duyarlı, 17'sine (%36,17) dirençli olarak saptamışlardır. Gradyent strip yöntemi ile duyarlı bulunan altı izolatu sıvı mikrodilüsyon yöntemi ile dirençli bulmuşlardır (140).

Tüzemen ve arkadaşları Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesinde yaptıkları çalışmada, otomatize sistemle kolistin dirençli bulunan 36 *K. pneumoniae*, dokuz *A. baumannii* ve beş *P. aeruginosa* izolatında kolistin direncini saptamada sıvı

mikrodilüsyon yöntemi ile gradiyent difüzyon yöntemini karşılaştırmışlardır. Otomatize sistemle dirençli buldukları 36 *K. pneumoniae* suşunun tümünü dilüsyon yöntemi ile de dirençli bulmuşlardır. Gradyent difüzyon yöntemi ile sadece altı suşu dirençli olarak bulmuşlar ve çok büyük hata oranını gradiyent difüzyon testi ile %83.3 olarak bildirmişlerdir. Otomatize sistemle kolistin dirençli bulunan dokuz *A. baumannii* suşunun yedisi, ve beş *P. aeruginosa* suşunun ise üçü sıvı mikrodilüsyon testi ile dirençli bulunmuştur. Bu iki suş grubu için çok büyük hataya rastlanmazken, büyük hatalar sırasıyla *A. baumannii*'de %22.2, *P. aeruginosa*'da %40 olarak tesbit etmişlerdir. Gradyent difüzyon testlerinde ise *A. baumannii*'de %77,8 oranında, *P. aeruginosa*'da %60 oranında çok büyük hata bildirmişlerdir (141).

Bu çalışmada 2016 yılına ait iki suşta ve 2017 yılına ait bir suşta mikrodilüsyon yöntemi ve Phoenix 100 (Becton Dickinson Co, Sparks, MD, ABD) otomatize sistemi sonuçları arasında uyumsuzluk görülmüştür. Suşların tamamı dikkate alındığında, iki suşta büyük hata (%3), bir suşta (%1.5) çok büyük hata tesbit edilmiştir.

Çalışmamızda, kolistin MİK değerlerini EUCAST kriterlerine göre sıvı mikrodilüsyon yöntemiyle tespit ettik. Kolistin için duyarlılık testlerinde doğru sonuç veren yöntem dilüsyon testidir. Bu nedenle laboratuvarların dinamiği de dikkate alınarak, izlenebildiği ölçüde kolistin MİK düzeylerinin mikrodilüsyon yöntemiyle izlenmesi önemlidir.

Hastanemizde yatan hastalardan izole edilen *K. pneumoniae* türleri için antibiyotik direnci önemli bir sorun teşkil etmektedir. Çeşitli antibiyotik kombinasyonları ile tedavi edilmeye çalışılan bu suşlarla oluşan enfeksiyonlar kaygı vericidir ve acil müdahale gerekmektedir, bunun için; suşların kısa zamanda tespiti önemlidir. Antibiyotik MİK düzeyleri hastaneden hastaneye göre de değişiklik gösterebileceğinden, her hastanenin sadece kolistin için değil tüm antibiyotikler için MİK düzeylerini izlemeleri önemlidir.

6. SONUÇ VE ÖNERİ

- 1) Çalışmamıza Ocak 2015-Ağustos 2017 tarihleri arasında Sağlık Bakanlığı Ankara Eğitim ve Araştırma Hastanesi Tıbbi mikrobiyoloji laboratuvarına gönderilen klinik örneklerden izole edilen 66 karbapenem dirençli *K. pneumoniae* suşu dahil edilmiştir.
- 2) Çalışmada test edilen 66 *K. pneumoniae* suşunun 16'sı (%24.2) 2015 yılında, 26'sı (%39.4) 2016 yılında, 24'ü (%36.4) 2017 yılında izole edilmiştir.
- 3) Çalışmada 2015 yılına ait suşların 11'i (%69) kolistine duyarlı, beşi (%31) dirençli olarak bulunmuştur. Kolistin MİK 50 ve MİK 90 değerleri sırasıyla, 1 µ/ml ve 8 µ/ml olarak tespit edilmiştir
- 4) Çalışmada 2016 yılına ait suşların 19'u (%73) kolistine duyarlı, yedisi (%27) dirençli olarak bulunmuştur. Kolistin MİK 50 ve MİK 90 değerleri sırasıyla, 1 µ/ml ve >16 µ/ml olarak tespit edilmiştir
- 5) Çalışmada 2017 yılına ait suşların 13'ü (%54) kolistine duyarlı, 11'i (%46) dirençli olarak bulunmuştur. Kolistin MİK 50 ve MİK 90 değerleri sırasıyla, 2 µ/ml ve >16 µ/ml olarak tespit edilmiştir
- 6) Çalışmada test edilen 66 *K. pneumoniae* suşunun mikrodilüsyon yöntemiyle ölçülen kolistin MİK değerlerinde yıllara göre oransal olarak bir artış tespit edilmekle birlikte, istatistiksel olarak anlamlı bir fark tespit edilmemiştir. (p= 0.382).
- 7) Çalışmamızda 2016 yılına ait iki suşta ve 2017 yılına ait bir suşta mikrodilüsyon yöntemi ve Phoenix 100 (Becton Dickinson Co, Sparks, MD, ABD) otomatize sistemi sonuçları arasında uyumsuzluk görüldü. Phoenix 100 (Becton Dickinson Co, Sparks, MD, ABD) otomatize sistemi ile kolistin dirençli olarak bulunan iki suş mikrodilüsyon yöntemi ile duyarlı bulundu. Phoenix 100 (Becton Dickinson Co, Sparks, MD, ABD) otomatize sistemi ile kolistin duyarlı olarak bulunan bir suş ise mikrodilüsyon yöntemi ile dirençli bulundu. Sonuç olarak çalışmamızda bir suşta çok büyük hata iki suşta büyük hata saptandı.

- 8) Hastanemizde yatan hastalardan izole edilen *K. pneumoniae* türleri için antibiyotik direnci önemli bir sorun teşkil etmektedir. Çeşitli antibiyotik kombinasyonları ile tedavi edilmeye çalışılan bu suşlarla oluşan enfeksiyonlar kaygı vericidir ve acil müdahale gerekmektedir, bunun için; suşların kısa zamanda tespiti önemlidir. Antibiyotik MİK düzeyleri hastaneden hastaneye göre de değişiklik gösterebileceğinden, her hastanenin sadece kolistin için değil tüm antibiyotikler için MİK düzeylerini izlemeleri önemlidir.



7. KAYNAKLAR

1. Bagley ST. *Habitat association of Klebsiella species*. Infection Control & Hospital Epidemiology 1985; 6(2): 52-58.
2. Podschun R, Ullmann U. *Klebsiella spp. as nosocomial pathogens: epidemiology, taxonomy, typing methods, and pathogenicity factors*. Clinical Microbiology Reviews 1998; 11(4): 589-603.
3. Jarvis WR, et al. *The epidemiology of nosocomial infections caused by Klebsiella pneumoniae*. Infection Control 1985; 68-74.
4. Nordmann P, Poirel L. *Emerging carbapenemases in Gram-negative aerobes*. Clinical Microbiology and Infection, 2002; 8(6): 321-331.
5. Antoniadou A., et al. *Colistin-resistant isolates of Klebsiella pneumoniae emerging in intensive care unit patients: first report of a multiclonal cluster*. Journal of Antimicrobial Chemotherapy, 2007; 59(4): 786-790.
6. Gülay Z. *Antibiyotiklere direnç mekanizmaları ve çözüm önerileri: Beta laktamlara ve Karbapenemlere direnç*. Hastane İnfek. Derg.,(5), 2001; 210-229.
7. Budak S., Aktaş Z, and Erdem H. *Enterik Gram-negatif bakterilerde laboratuvar dan kliniğe karbapenemazlar*. Mediterranean Journal of Infection Microbes and Antimicrobials, 2012; 1: 1.
8. Poirel L., et al. *Emergence of oxacillinase-mediated resistance to imipenem in Klebsiella pneumoniae*. Antimicrobial Agents and Chemotherapy, 2004; 48(1): 15-22.
9. Yigit H., et al. *Novel carbapenem-hydrolyzing β -lactamase, KPC-1, from a carbapenem-resistant strain of Klebsiella pneumoniae*. Antimicrobial Agents and Chemotherapy, 2001; 45(4): 1151-1161.
10. Navon-Venezia S., et al. *First report on a hyperepidemic clone of KPC-3-producing Klebsiella pneumoniae in Israel genetically related to a strain causing outbreaks in the United States*. Antimicrobial Agents and Chemotherapy, 2009; 53(2): 818-820.
11. Queenan A.M. and Bush K. *Carbapenemases: the versatile β -lactamases*. Clinical Microbiology Reviews, 2007; 20(3): 440-458.

12. Hsueh P. R. *New Delhi metallo- β -lactamase-1 (NDM-1): an emerging threat among Enterobacteriaceae*. Journal of the Formosan Medical Association, 2010; 109(10): 685-687.
13. Aubert D., et al. *Functional characterization of IS1999, an IS4 family element involved in mobilization and expression of β -lactam resistance genes*. Journal of Bacteriology, 2006; 188(18): 6506-6514.
14. Zarkotou O., et al. *Predictors of mortality in patients with bloodstream infections caused by KPC-producing Klebsiella pneumoniae and impact of appropriate antimicrobial treatment*. Clinical Microbiology and Infection, 2011; 17(12): 1798-1803.
15. İnce Z., Çoban A. *Yenidoğanda solunum sorunları*. Ertuğrul T, Neyzi O, editörler. Pediatri. Dördüncü baskı. İstanbul: Nobel Tıp Kitabevleri, 2010: 423-43.
16. Jobe A.H. and Bancalari E. *Bronchopulmonary dysplasia*. American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine, 2001; 163(7): 1723-1729.
17. Aydoğan H. and Başustaoğlu A. *Nozokomiyal Patojen Olarak Klebsiella Türlerinin Mikrobiyolojik, Klinik ve Epidemiyolojik Özellikleri*. Hastane İnfeksiyonları Dergisi, 2000; (4): 135-143.
18. Montgomerie J.Z. *Epidemiology of Klebsiella and hospital-associated infections*. Reviews of Infectious Diseases, 1979; 1(5): 736-753.
19. Lederman E.R. and Crum N.F. *Pyogenic liver abscess with a focus on Klebsiella pneumoniae as a primary pathogen: an emerging disease with unique clinical characteristics*. The American Journal of Gastroenterology, 2005; 100(2): 322.
20. Rahimian J., et al. *Pyogenic liver abscess: recent trends in etiology and mortality*. Clinical Infectious Diseases, 2004. 39(11): 1654-1659.
21. Yang C.-C., et al. *Comparison of pyogenic liver abscess caused by non-Klebsiella pneumoniae and Klebsiella pneumoniae*. Journal of Microbiology, Immunology and Infection= Wei mian yu gan ran za zhi, 2004; 37(3): 176-184.

22. Ben-David D., et al. *Potential role of active surveillance in the control of a hospital-wide outbreak of carbapenem-resistant Klebsiella pneumoniae infection*. Infection Control & Hospital Epidemiology, 2010; 31(6): 620-626.
23. Cohen M.J., et al. *Institutional control measures to curtail the epidemic spread of carbapenem-resistant Klebsiella pneumoniae: a 4-year perspective*. Infection Control & Hospital Epidemiology, 2011; 32(7): 673-678.
24. Kotapati S., et al. *Clinical implications of extended spectrum β -lactamase (ESBL) producing Klebsiella species and Escherichia coli on cefepime effectiveness*. Journal of Infection, 2005; 51(3): 211-217.
25. Segatore B., et al. *Antimicrobial susceptibility of clinical isolates of Enterobacteriaceae producing complex β -lactamase patterns including extended-spectrum enzymes*. International Journal of Antimicrobial Agents, 2004; 23(5): 480-486.
26. Wiener J., et al. *Multiple antibiotic-resistant Klebsiella and Escherichia coli in nursing homes*. Jama, 1999; 281(6): 517-523.
27. Goetz A.M., et al. *An outbreak of infusion-related Klebsiella pneumoniae bacteremia in a liver transplantation unit*. Clinical Infectious Diseases, 1995; 21(6): 1501-1503.
28. Johnson A., et al., *Outbreak of infection in two UK hospitals caused by a strain of Klebsiella pneumoniae resistant to cefotaxime and ceftazidime*. Journal of Hospital Infection, 1992; 20(2): 97-103.
29. Livermore D.M., et al. *What remains against carbapenem-resistant Enterobacteriaceae? Evaluation of chloramphenicol, ciprofloxacin, colistin, fosfomycin, minocycline, nitrofurantoin, temocillin and tigecycline*. International Journal of Antimicrobial Agents, 2011; 37(5): 415-419.
30. Pournaras S., et al. *Activity of tigecycline alone and in combination with colistin and meropenem against Klebsiella pneumoniae carbapenemase (KPC)-producing Enterobacteriaceae strains by time-kill assay*. International Journal of Antimicrobial Agents, 2011; 37(3): 244-247.
31. Bassetti M., et al. *Current status of newer carbapenems*. Current Medicinal Chemistry, 2009; 16(5): 564-575.

32. Deshpande L.M., et al. *Emergence of serine carbapenemases (KPC and SME) among clinical strains of Enterobacteriaceae isolated in the United States Medical Centers: report from the MYSTIC Program (1999–2005)*. Diagnostic Microbiology and Infectious Disease, 2006; 56(4): 367-372.
33. Zhanel G.G., et al. *Comparative review of the carbapenems*. Drugs, 2007; 67(7): 1027-1052.
34. Parra Millán R., *Non-antimicrobial strategies for the prevention and treatment of infections by multidrug-resistant gram-negative bacilli*. 2017.
35. Carmeli Y., et al. *Controlling the spread of carbapenemase-producing Gram-negatives: therapeutic approach and infection control*. Clinical Microbiology and Infection, 2010; 16(2): 102-111.
36. Doğanay M., Meşe Alp E. *İnfeksiyon hastalıkları ve mikrobiyolojisi*. 3rd ed., İstanbul: Nobel Tıp Kitabevleri, 2008; 897-909.
37. Jackson J.J. and Kropp H. *β -Lactam antibiotic-induced release of free endotoxin: in vitro comparison of penicillin-binding protein (PBP) 2-specific imipenem and PBP 3-specific ceftazidime*. Journal of Infectious Diseases, 1992; 165(6): 1033-1041.
38. Yoshimura F. and Nikaido H. *Diffusion of beta-lactam antibiotics through the porin channels of Escherichia coli K-12*. Antimicrobial Agents and Chemotherapy, 1985; 27(1): 84-92.
39. Basoli A., et al. *Imipenem/cilastatin (1.5 g daily) versus meropenem (3.0 g daily) in patients with intra-abdominal infections: results of a prospective, randomized, multicentre trial*. Scandinavian Journal of Infectious Diseases, 1997; 29(5): 503-508.
40. Nikaido H. *Role of permeability barriers in resistance to β -lactam antibiotics*. Pharmacology & therapeutics, 1985; 27(2): 197-231.
41. Endtz H., Van Dijk W., and Verbrugh H. *Comparative in-vitro activity of meropenem against selected pathogens from hospitalized patients in The Netherlands. MASTIN Study Group*. The Journal of Antimicrobial Chemotherapy, 1997; 39(2): 149-156.

42. White R., et al. *Comparative in vitro pharmacodynamics of imipenem and meropenem against Pseudomonas aeruginosa*. Antimicrobial Agents and Chemotherapy, 1996; 40(4): 904-908.
43. Mandell L., *Doripenem: a new carbapenem in the treatment of nosocomial infection*. Clinical Infectious Diseases, 2009; 49(Supplement 1): S1-S3.
44. America I.D.S. *Clinical infectious diseases: an official publication of the Infectious Diseases Society of America*. 1992; University of Chicago Press.
45. Djahmi N., et al. *Epidemiology of carbapenemase-producing Enterobacteriaceae and Acinetobacter baumannii in Mediterranean countries*. Biomed Res Int, 2014; 2014; 305784.
46. Nordmann P., Dortet L., and Poirel L. *Carbapenem resistance in Enterobacteriaceae: here is the storm!* Trends in Molecular Medicine, 2012; 18(5): 263-72.
47. Pages J.M., James C.E., and Winterhalter M. *The porin and the permeating antibiotic: a selective diffusion barrier in Gram-negative bacteria*. Nature Reviews Microbiology, 2008; 6(12): 893-903.
48. Li X.Z. and Nikaido H., *Efflux-mediated drug resistance in bacteria: an update*. Drugs, 2009; 69(12): 1555-623.
49. Queenan A.M. and Bush K. *Carbapenemases: the versatile beta-lactamases*. Clinical Microbiology Reviews, 2007; 20(3): 440-58, table of contents.
50. Scaife W., et al. *Transferable imipenem-resistance in Acinetobacter species from a clinical source*. J Antimicrob Chemother, 1995; 36(3): 585-6.
51. Watanabe M., et al. *Transferable imipenem resistance in Pseudomonas aeruginosa*. Antimicrob Agents Chemother, 1991; 35(1): 147-51.
52. Yigit H., 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.
53. Hall B.G. and Barlow M. *Revised Ambler classification of {beta}-lactamases*. J Antimicrob Chemother, 2005; 55(6): 1050-1.
54. Martinez-Martinez L. and Gonzalez-Lopez J.J. *Carbapenemases in Enterobacteriaceae: types and molecular epidemiology*. Enferm Infecc Microbiol Clin, 2014; 32 Suppl 4: 4-9.

55. Queenan A.M., et al. *SME-type carbapenem-hydrolyzing class A beta-lactamases from geographically diverse Serratia marcescens strains*. Antimicrob Agents Chemother, 2000; 44(11): 3035-9.
56. Queenan A.M., et al. *SME-3, a novel member of the Serratia marcescens SME family of carbapenem-hydrolyzing beta-lactamases*. Antimicrob Agents Chemother, 2006; 50(10): 3485-7.
57. Rasmussen B.A., et al. *Characterization of IMI-1 beta-lactamase, a class A carbapenem-hydrolyzing enzyme from Enterobacter cloacae*. Antimicrob Agents Chemother, 1996; 40(9): 2080-6.
58. Radice, M., et al. *First class a carbapenemase isolated from enterobacteriaceae in Argentina*. Antimicrob Agents Chemother, 2004; 48(3): 1068-9.
59. Aubron C., et al. *Carbapenemase-producing Enterobacteriaceae, U.S. rivers*. Emerg Infect Dis, 2005; 11(2): 260-4.
60. Yu Y.S., et al. *First isolation of blaIMI-2 in an Enterobacter cloacae clinical isolate from China*. Antimicrob Agents Chemother, 2006; 50(4): 1610-1.
61. Jacoby G.A., *Beta-lactamase nomenclature*. Antimicrob Agents Chemother, 2006; 50(4): 1123-9.
62. Sageerabano S., et al. *Phenotypic detection of extended spectrum beta-lactamase and Amp-C beta-lactamase producing clinical isolates in a Tertiary Care Hospital: A preliminary study*. J Nat Sci Biol Med, 2015; 6(2): 383-7.
63. Hartl R., et al. *Temocillin and meropenem to discriminate resistance mechanisms leading to decreased carbapenem susceptibility with focus on OXA-48 in Enterobacteriaceae*. Clin Microbiol Infect, 2013; 19(5): E230-2.
64. Poirel L., et al. *Emergence of oxacillinase-mediated resistance to imipenem in Klebsiella pneumoniae*. Antimicrob Agents Chemother, 2004; 48(1): 15-22.
65. Poirel L., et al. *OXA-163, an OXA-48-related class D beta-lactamase with extended activity toward expanded-spectrum cephalosporins*. Antimicrob Agents Chemother, 2011; 55(6): 2546-51.

66. Miriagou V., et al. *Acquired carbapenemases in Gram-negative bacterial pathogens: detection and surveillance issues*. Clin Microbiol Infect, 2010; 16(2): 112-22.
67. Cohen Stuart, J. and Leverstein-Van Hall M.A., *Guideline for phenotypic screening and confirmation of carbapenemases in Enterobacteriaceae*. Int J Antimicrob Agents, 2010; 36(3): 205-10.
68. *EUCAST guidelines for detection of resistance mechanisms and specific resistances of clinical and/or epidemiological importance*.
69. *Clinical and Laboratory Standards Institute. 2011; Performance standards for antimicrobial susceptibility testing; Twenty-first informational supplement; M100-S21*. Clinical and Laboratory Standards Institute, Wayne, PA.
70. Pasteran F., et al. *Sensitive screening tests for suspected class A carbapenemase production in species of Enterobacteriaceae*. J Clin Microbiol, 2009; 47(6): 1631-9.
71. Hammoudi D., Moubareck C.A., and Sarkis D.K., *How to detect carbapenemase producers? A literature review of phenotypic and molecular methods*. J Microbiol Methods, 2014. 107: 106-18.
72. Girlich D., Poirel L., and Nordmann P., *Value of the modified Hodge test for detection of emerging carbapenemases in Enterobacteriaceae*. J Clin Microbiol, 2012; 50(2): 477-9.
73. Maraskolhe D.L., et al. *Comparision of Three Laboratory Tests for Detection of AmpC beta Lactamases in Klebsiella Species and E. coli*. J Clin Diagn Res, 2014; 8(6): DC05-8.
74. Poirel L., Naas T., and Nordmann P. *Diversity, epidemiology, and genetics of class D beta-lactamases*. Antimicrob Agents Chemother, 2010; 54(1): 24-38.
75. Endimiani A., et al. *Evaluation of updated interpretative criteria for categorizing Klebsiella pneumoniae with reduced carbapenem susceptibility*. J Clin Microbiol, 2010; 48(12): 4417-25.
76. Bernabeu S., Poirel L., and Nordmann P., *Spectrophotometry-based detection of carbapenemase producers among Enterobacteriaceae*. Diagn Microbiol Infect Dis, 2012; 74(1): 88-90.

77. Burckhardt I. and Zimmermann S. *Using matrix-assisted laser desorption ionization-time of flight mass spectrometry to detect carbapenem resistance within 1 to 2.5 hours.* J Clin Microbiol, 2011; 49(9): 3321-4.
78. Hrabak J., Chudackova E. and Walkova R. *Matrix-assisted laser desorption ionization-time of flight (maldi-tof) mass spectrometry for detection of antibiotic resistance mechanisms: from research to routine diagnosis.* Clin Microbiol Rev, 2013; 26(1): 103-14.
79. Voulgari, E. et al. *Carbapenemase-producing Enterobacteriaceae: now that the storm is finally here, how will timely detection help us fight back?* Future Microbiol, 2013; 8(1): 27-39.
80. Landman D., et al. *Evaluation of techniques for detection of carbapenem-resistant Klebsiella pneumoniae in stool surveillance cultures.* J Clin Microbiol, 2005; 43(11): 5639-41.
81. Adler A., et al. *Laboratory and clinical evaluation of screening agar plates for detection of carbapenem-resistant Enterobacteriaceae from surveillance rectal swabs.* J Clin Microbiol, 2011; 49(6): 2239-42.
82. Nordmann P., Poirel L. and Dortet L. *Rapid detection of carbapenemase-producing Enterobacteriaceae.* Emerg Infect Dis, 2012; 18(9): 1503-7.
83. Hrabak J., Chudackova E. and Papagiannitsis C.C., *Detection of carbapenemases in Enterobacteriaceae: a challenge for diagnostic microbiological laboratories.* Clin Microbiol Infect, 2014; 20(9): 839-53.
84. Toubes E., et al. *Risk factors for antibiotic-resistant infection and treatment outcomes among hospitalized patients transferred from long-term care facilities: does antimicrobial choice make a difference?* Clinical Infectious Diseases, 2003; 36(6): 724-730.
85. Falagas M.E., et al. *Outcome of infections due to pandrug-resistant (PDR) Gram-negative bacteria.* BMC Infectious Diseases, 2005; 5(1): 24.
86. Giske C.G., et al., *Clinical and economic impact of common multidrug-resistant gram-negative bacilli.* Antimicrobial Agents and Chemotherapy, 2008; 52(3): 813-821.

87. Arias C.A. and Murray B.E., *Antibiotic-resistant bugs in the 21st century—a clinical super-challenge*. New England Journal of Medicine, 2009; 360(5): 439-443.
88. Nation R.L., et al. *Framework for optimisation of the clinical use of colistin and polymyxin B: the Prato polymyxin consensus*. The Lancet Infectious Diseases, 2015; 15(2): 225-234.
89. Falagas M.E. and Kasiakou S.K., *Toxicity of polymyxins: a systematic review of the evidence from old and recent studies*. Critical Care, 2006; 10(1): R27.
90. Kwa A., et al. *Polymyxin B: similarities to and differences from colistin (polymyxin E)*. Expert Review of Anti-infective Therapy, 2007; 5(5): 811-821.
91. Li R.C. and Tang M.C. *Post-antibiotic effect induced by an antibiotic combination: influence of mode, sequence and interval of exposure*. Journal of Antimicrobial Chemotherapy, 2004; 54(5): 904-908.
92. Martis N., Leroy S., and Blanc V., *Colistin in multi-drug resistant Pseudomonas aeruginosa blood-stream infections: a narrative review for the clinician*. Journal of Infection, 2014; 69(1): 1-12.
93. Bergen P.J., et al. *Pharmacokinetics and pharmacodynamics of 'old' polymyxins: what is new?* Diagnostic Microbiology and Infectious Disease, 2012; 74(3): 213-223.
94. Şua Sümer N.D., *Derleme/Review*. Yoğun Bakım Dergisi, 2010; 183-187.
95. Bergen, P.J., Li J., and Nation R.L. *Dosing of colistin—back to basic PK/PD*. Current Opinion in Pharmacology, 2011; 11(5): 464-469.
96. Lim L.M., et al. *Resurgence of colistin: a review of resistance, toxicity, pharmacodynamics, and dosing*. Pharmacotherapy: The Journal of Human Pharmacology and Drug Therapy, 2010; 30(12): 1279-1291.
97. Zavascki A.P., et al. *Polymyxin B for the treatment of multidrug-resistant pathogens: a critical review*. Journal of Antimicrobial Chemotherapy, 2007; 60(6): 1206-1215.
98. Garnacho-Montero J., et al. *Treatment of multidrug-resistant Acinetobacter baumannii ventilator-associated pneumonia (VAP) with intravenous colistin:*

- a comparison with imipenem-susceptible VAP. Clinical Infectious Diseases, 2003; 36(9): 1111-1118.*
99. Pogue J.M., et al. *Incidence of and risk factors for colistin-associated nephrotoxicity in a large academic health system. Clinical Infectious Diseases, 2011; 53(9): 879-884.*
 100. Kim J., et al. *Clinical characteristics and risk factors of colistin-induced nephrotoxicity. International Journal of Antimicrobial Agents, 2009; 34(5): 434-438.*
 101. Rattanaumpawan P., Ungprasert P., and Thamlikitkul V., *Risk factors for colistin-associated nephrotoxicity. Journal of Infection, 2011; 62(2): 187-190.*
 102. Ja Ko H., et al. *Early acute kidney injury is a risk factor that predicts mortality in patients treated with colistin. Nephron Clinical Practice, 2011; 117(3): 284-c288.*
 103. Yahav D., et al. *Colistin: new lessons on an old antibiotic. Clinical Microbiology and Infection, 2012; 18(1): 18-29.*
 104. Fekety F.R., Norman P.S., and Cluff L.E. *The Treatment of Gram-negative Bacillary Infections with Colistin The Toxicity and Efficacy of Large Doses in Forty-eight Patients. Annals of Internal Medicine, 1962; 57(2_Part_1): 214-229.*
 105. Leong K., et al. *Hypersensitivity pneumonitis due to high-dose colistin aerosol therapy. International Journal of Infectious Diseases, 2010; 14(11): 1018-1019.*
 106. Olesen S. and Madsen P. *Intravenous administration of sodium colistimethate in urinary tract infections. Current Therapeutic Research, Clinical and Experimental, 1967; 9(6): 283.*
 107. Sasaki S., Mitsuhashi Y., and Kondo S. *Contact dermatitis due to sodium colistimethate. The Journal of Dermatology, 1998; 25(6): 415-417.*
 108. Lo Ten Foe J.R., et al. *Comparative evaluation of the VITEK 2, disk diffusion, Etest, broth microdilution, and agar dilution susceptibility testing methods for colistin in clinical isolates, including heteroresistant Enterobacter cloacae and Acinetobacter baumannii strains. Antimicrobial Agents and Chemotherapy, 2007; 51(10): 3726-3730.*

109. Li J., et al. *Colistin: the re-emerging antibiotic for multidrug-resistant Gram-negative bacterial infections*. *The Lancet Infectious Diseases*, 2006; 6(9): 589-601.
110. Li J., et al. *Evaluation of colistin as an agent against multi-resistant Gram-negative bacteria*. *International Journal of Antimicrobial Agents*, 2005; 25(1): 11-25.
111. Gales A.C., Reis A.O., and Jones R .N., *Contemporary assessment of antimicrobial susceptibility testing methods for polymyxin B and colistin: review of available interpretative criteria and quality control guidelines*. *Journal of Clinical Microbiology*, 2001; 39(1): 183-190.
112. Hogardt M., et al. *Pitfalls of polymyxin antimicrobial susceptibility testing of Pseudomonas aeruginosa isolated from cystic fibrosis patients*. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 2004; 54(6): 1057-1061.
113. Groisman E.A., Kayser J., and Soncini F.C., *Regulation of polymyxin resistance and adaptation to low-Mg²⁺ environments*. *Journal of Bacteriology*, 1997; 179(22): 7040-7045.
114. Falagas M.E., Kasiakou S.K., and Saravolatz L.D., *Colistin: the revival of polymyxins for the management of multidrug-resistant gram-negative bacterial infections*. *Clinical Infectious Diseases*, 2005; 40(9): 1333-1341.
115. Hoiby N., Frederiksen B. and Pressler T. *Eradication of early Pseudomonas aeruginosa infection*. *Journal of Cystic Fibrosis*, 2005; 4: 49-54.
116. Littlewood J., et al. *A ten year review of colomycin*. *Respiratory Medicine*, 2000; 94(7): 632-640.
117. Conway S.P., et al. *Antibiotic treatment of multidrug-resistant organisms in cystic fibrosis*. *American Journal of Respiratory Medicine*, 2003; 2(4): 321-332.
118. Gilad J., et al. *Emergence of nosocomial colistin-resistant Acinetobacter baumannii*. in *45th Interscience Conference on Antimicrobial Agents and Chemotherapy*. 2005.
119. Ko K.S., et al. *High rates of resistance to colistin and polymyxin B in subgroups of Acinetobacter baumannii isolates from Korea*. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 2007; 60(5): 1163-1167.

120. Gür D., *Antibiyotik Duyarlılık Testleri, EUCAST: Uygulama, Yorum ve Uzman Kurallar*. Türk Mikrobiyoloji Cemiyeti Dergisi, Supplement 2016; Volume 46.
121. Walker B., et al., *Looming global-scale failures and missing institutions*. Science, 2009; 325(5946): 1345-1346.
122. Vasoo S., Barreto J.N., and Tosh P.K. *Emerging issues in gram-negative bacterial resistance: an update for the practicing clinician*. in *Mayo Clinic Proceedings*. 2015; Elsevier.
123. Hirsch E.B. and Tam V .H., *Detection and treatment options for Klebsiella pneumoniae carbapenemases (KPCs): an emerging cause of multidrug-resistant infection*. Journal of Antimicrobial Chemotherapy, 2010; 65(6): 1119-1125.
124. Bali, E.B., Accedil L., and Sultan N., *Phenotypic and molecular characterization of SHV, TEM, CTX-M and extended-spectrum-lactamase produced by Escherichia coli, Acinobacter baumannii and Klebsiella isolates in a Turkish hospital*. African Journal of Microbiology Research, 2010; 4(8): 650-654.
125. Hidron A.I., et al. *National Healthcare Safety Network Team; Participating National Healthcare Safety Network Facilities. NHSN annual update: antimicrobial-resistant pathogens associated with healthcare-associated infections: annual summary of data reported to the National Healthcare Safety Network at the Centers for Disease Control and Prevention, 2006-2007*. Infect Control Hosp Epidemiol, 2008; 29(11): 996-1011.
126. Iraz M., et al. *Distribution of β -lactamase genes among carbapenem-resistant Klebsiella pneumoniae strains isolated from patients in Turkey*. Annals of Laboratory Medicine, 2015; 35(6): 595-601.
127. MacKenzie F., et al. *Emergence of a carbapenem-resistant Klebsiella pneumoniae*. The Lancet, 1997; 350(9080): 783.
128. Cai B., et al. *Prevalence of carbapenem-resistant Gram-negative infections in the United States predominated by Acinetobacter baumannii and Pseudomonas aeruginosa*. in *Open Forum Infectious Diseases*, 2017; Oxford University Press.

129. Falagas M.E., et al. *Deaths attributable to carbapenem-resistant Enterobacteriaceae infections*. *Emerging Infectious Diseases*, 2014; 20(7): 1170.
130. Saidel-Odes L. and Borer A., *Limiting and controlling carbapenem-resistant Klebsiella pneumoniae*. *Infection and Drug Resistance*, 2014; 7: 9.
131. Woodford N., Turton J.F., and Livermore D.M., *Multiresistant Gram-negative bacteria: the role of high-risk clones in the dissemination of antibiotic resistance*. *FEMS Microbiology Reviews*, 2011; 35(5): 736-755.
132. Ulu A.C., et al. *Risk factors of carbapenem-resistant Klebsiella pneumoniae infection: a serious threat in ICUs*. *Medical Science Monitor: International Medical Journal of Experimental and Clinical Research*, 2015; 21: 219.
133. Munoz-Price L.S., et al. *Clinical epidemiology of the global expansion of Klebsiella pneumoniae carbapenemases*. *The Lancet Infectious Diseases*, 2013; 13(9): 785-796.
134. Labarca J., et al. *KPC-producing Klebsiella pneumoniae, finally targeting Turkey*. *New Microbes and New Infections*, 2014; 2(2): 50-51.
135. Hawley J.S., Murray C.K., and Jorgensen J.H. *Colistin heteroresistance in Acinetobacter and its association with previous colistin therapy*. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 2008; 52(1): 351-352.
136. Suh J.-Y., et al. *Nonclonal emergence of colistin-resistant Klebsiella pneumoniae isolates from blood samples in South Korea*. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 2010; 54(1): 560-562.
137. Marchaim D., et al. *Outbreak of colistin-resistant, carbapenem-resistant Klebsiella pneumoniae in metropolitan Detroit, Michigan*. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 2011; 55(2): 593-599.
138. Haciseyitoğlu D., Y.Ç., Başgönül S., ÖZER S. *Çeşitli Klinik Örneklerden İzole Edilen Escherichia coli ve Klebsiella pneumoniae İzolatlarının Antibiyotiklere Direnç Durumu* *Türk Mikrobiyol Cem Derg*, 2014; 44(3): 101-106.
139. Saygılı Pekintürk N., A.A. *Extended spectrum beta-lactamase production and antibiotic resistance rates in Escherichia coli and Klebsiella spp.*

isolated from hospitalized patients: data of 2011-2015. Türk Hijyen ve Deneysel Biyoloji Dergisi.

140. Liste Ü, Ş.N., Çakar A., Altun B., Sancak B., Gür D., 4. Ulusal Klinik Mikrobiyoloji Kongresi, 2017 (Kan Kültürlerinden İzole Edilen 151 *Klebsiella* İzolatında Mikrodilüsyon Yöntemi ile Belirlenen Antibiyotiklere Direnç Oranları).
141. Ülkü Tüzemen N., K.E., Özakin C. 4. Ulusal Klinik Mikrobiyoloji Kongresi, 2017; (Kolistin Direncini Saptamada Gradyent Difüzyon Yöntemi ve Mikrobroth Dilüsyon Yönteminin Karşılaştırılması).



8. EKLER

Ek – 1



T.C.
SAĞLIK BAKANLIĞI
SAĞLIK BİLİMLERİ ÜNİVERSİTESİ
ANKARA SAĞLIK ARAŞTIRMA UYGULAMA MERKEZİ
BİLİMSEL ARAŞTIRMA BAŞVURU FORMU

Tarih: 25/04/2017

ARAŞTIRMA BAŞLIĞI:

Karbapenem dirençli Klebsiella kökenlerinde yıllar içerisinde Kolistin MİK değerindeki artışın in vitro değerlendirilmesi.

ARAŞTIRMANIN KONUSU:

Ankara Eğitim ve Araştırma Hastanesi yoğun bakım üniteleri ve servislerinde kan dolaşımı, solunum ve idrar yolu enfeksiyonu etkeni olan karbapenem dirençli Klebsiella kökenlerinde yıllar içerisinde kolistin minimum inhibitör konsantrasyon(MİK) değerinde artış olup olmadığının mikrodilüsyon yöntemiyle in vitro değerlendirilmesi amaçlandı.

Hastanemizde yoğun bakım üniteleri ve servislerinde kan dolaşımı, solunum ve idrar yolu enfeksiyonu etkeni olan Klebsiella kökenlerinde yıllar içerisinde karbapenem grubu antibiyotiklere direnç belirgin hale gelmiştir. Tedavi alternatifi kısıtlı olan bu kökenlerde kolistin bir seçenek olarak ön plana çıkmaktadır ve hastanemizde de yaygın olarak kullanılmaktadır.

Son yıllarda yapılan çalışmalarda kolistin için de direnç bildirilmektedir. Çalışmamızda 2014-2015-2016 ve 2017 yıllarına ait yoğun bakım üniteleri ve servislerinde kan dolaşımı, solunum ve idrar yolu enfeksiyonu etkeni olan ve disk diffüzyon veya otomatize sistemle karbapenem dirençli saptanan Klebsiella kökenleri tekrar pasajlanıp canlandırılarak kolistin MİK değerleri mikrodilüsyon yöntemiyle çalışılacak ve yıllar içerisinde kolistin MİK değerinde artış olup olmadığı, varsa istatistiksel olarak anlamlı olup olmadığı araştırılacaktır.

ARAŞTIRMANIN YAPILACAĞI HASTANE ve KLİNİK:

Ankara Eğitim ve Araştırma Hastanesi Tıbbi Mikrobiyoloji Kliniği

ARAŞTIRMANIN YAPILACAĞI KLİNİK EĞİTİM SORUMLUSU ONAYI:

Prof. Dr. Ali Kudret Adiloğlu

ARAŞTIRMANIN TÜRÜ:
 RETROSPEKTİF

ARAŞTIRMANIN AMACI, GEREÇ ve YÖNTEM:

Ankara Eğitim ve Araştırma Hastanesi yoğun bakım üniteleri ve servislerinde izole edilen kan dolaşımı, solunum ve idrar yolu enfeksiyonu etkeni olan Karbapenem dirençli Klebsiella kökenlerinde yıllar içerisinde Kolistin MİK değerinde artış olup olmadığının in vitro araştırılması ve istatistiksel olarak yıllara göre değerlendirilmesi amaçlandı.

Antimikrobiyal ajanların MİK değerlerinin tespit edilmesi için dilüsyon yöntemleri kullanılmaktadır. Bu yöntemler antimikrobiyal duyarlılık testleri için referans yöntemlerdir. Dilüsyon testlerinde, antimikrobiyal ajanın dilüsyonlarını içeren mikroplak kuyucuklarında ya da agar yüzeyinde üremenin gözle görülebilir olması temel alınır. Çalışmamızda mikroplak kuyucuk yöntemi kullanılacaktır. Bir mikroorganizmanın gözle görülebilir olarak üremesinin inhibe olduğu en düşük antimikrobiyal ajan konsantrasyonu "Minimal İnhibitör Konsantrasyon (MİK)" olarak belirlenir. Dilüsyon testleri sonucunda elde edilen MİK değerleri klinisyene, enfeksiyona neden olan mikroorganizmayı inhibe etmek için gerekli olan

antimikrobiyal ilaç konsantrasyonunu vermektedir. Antibiyotik duyarlılık yöntemlerinin uygulanması ve breakpoint değerlerinin belirlenmesinde birçok ülke tarafından standartların oluşturulması için komiteler kurulmuştur.

ARAŞTIRMAYA ALINACAK OLGU SAYISI ve ÖZELLİKLERİ:

Araştırmaya Ankara Eğitim ve Araştırma Hastanesi yoğun bakım üniteleri ve servislerinde kan dolaşımı, solunum ve idrar yolu enfeksiyonu etkeni olarak tespit edilen 2014, 2015 ve 2016, 2017 yıllarına ait her bir yıl için en az 15 adet karbapenem dirençli Klebsiella kökeni dahil edilecektir.

ÖNGÖRÜLEN ÇALIŞMA SÜRESİ:

Çalışma Başlangıç Tarihi:01.05.2017

Çalışma Bitiş Tarihi:31.09.2017

Çalışma "Helsinki Deklerasyonu son versiyonu"na ve "İyi Klinik Uygulamalar Yönergesi"ne uygun olarak yürütülecektir.

ARAŞTIRMA BÜTÇESİ:

Çalışma Başlığı: Karbapenem dirençli Klebsiella kökenlerinde yıllar içerisinde kolistin MİK değerindeki artışın in vitro değerlendirilmesi

Çalışma ile ilgili uygulama tetkik ve girişimlerin bedelleri çalışma grubunca karşılanacaktır. Bu bedellerin ödenmesi hastaya, yakınlarına ve sosyal güvencesine yansıtılmayacaktır. Çalışmaya alınan hastaların Ad, Soyad ve TC: Kimlik numaraları liste halinde Eğitim Planlama ve Koordinasyon Kurulu Sekreteryasına teslim edilecektir.

SORUMLU ARAŞTIRMACI ve İMZASI:

Doç Dr. Bedia Dinç

DİĞER ARAŞTIRMACILAR (Yayınlanacak isim sırası ile) ve İMZALARI:

Dr. İsmail Selçuk Aygar

Doç. Dr. Bedia Dinç

Uzm. Dr. Serap Yağcı

Prof. Dr. Ali Kudret Adiloğlu

ARAŞTIRMANIN SONUCU: Çalışma tamamlandığında rapor halinde arz edilecektir.

EPKK KARARI:

Yukarıda özellikleri belirlenmiş araştırmanın protokol, usul, yaklaşım ve yöntem yönünden "TEKNİK" ve "ETİK" değerlendirmesinde "UYGUN" "OLDUĞUNA" / "OLMADIĞINA" "OYÇOKLUĞU" "OYBİRLİĞİ" ile karar verilmiş ve araştırma için belirlenen uygulama, tetkik ve girişimlerin araştırma grubunca karşılanması kaydı ile

çalışmanın yapılmasına ve Hastanemiz arşiv bilgi ve belgelerinin kullanılmasına, Hastanemiz EPK Kurulunun ..12.. / ..05 / 2017.. - 06.. tarih-numaralı toplantısında ..02.. numaralı karar ile "İZİN" "VERİLMİŞTİR / VERİLEMİŞTİR". "ETİK KURUL ONAYI" "GEREKTİRİR" "GEREKTİRMEZ".

Doç. Dr. M. Recep Pekcici
Başhekim



T.C.S.B.
Sağlık Bilimleri Üniversitesi
Ankara Sağlık Araştırma Uygulama Merkezi
Tıpta Uzmanlık Eğitim Kurulu
Karar Defteri

Toplantı No: 0006

10.05.2017

BAŞKAN
Doç. Dr. M. Recep Pekcici
Başhekim

TUEK ASIL ÜYELERİ	TUEK YEDEK ÜYELERİ
Doç. Dr. Murat Kekilli Gastroenteroloji Kliniği (Eğitim Koordinatörü)	
Doç. Dr. Nadir Turgut Çavuşoğlu Genel Cerrahi Kliniği	Prof. Dr. Meliha Korkmaz Nükleer Tıp Kliniği
Prof. Dr. K. Bahadır Alemdaroğlu Ortopedi ve Travmatoloji Kliniği	Doç. Dr. Elif Ergün Radyoloji Kliniği
Prof. Dr. Uğur Koçer Plastik Rekonstrüktif ve Estetik Cerrahi Kliniği	Doç. Dr. Ayşe Esra Karakoç Mikrobiyoloji Kliniği
Doç. Dr. Hülya Başar Anestezi ve Reanimasyon Kliniği	Doç. Dr. Necmi Arslan KBB Hastalıkları Kliniği
Doç. Dr. Sevim Aslan Felek KBB Hastalıkları Kliniği	Doç. Dr. Burcu Duyut Çakır Fiziksel Tıp ve Rehabilitasyon Kliniği

KARAR:

60. Karbapenam dirençli Klebsiella kökenlerinde yıllar içerisinde Kolisin MİK değerlerindeki artışın invitro değerlendirilmesi. T.C. Sağlık Bakanlığı Ankara Eğitim ve Araştırma Hastanesi Tıbbi Mikrobiyoloji Kliniği, (Dr. İsmail Selçuk Aygar, Doç. Dr. Bedia Dinç, Dr. Serap Yağcı, Prof. Dr. Ali Kudret Adiloğlu) çalışması, Retrospektif Çalışmasının protokol, usul, yaklaşım ve yöntem yönünden "TEKNİK" ve "ETİK" değerlendirmesinde "UYGUN" "OLDUĞUNA" / "OLMAYIĞINA" "OYÇOKLUĞU" "OYBİRLİĞİ" ile karar verilmiş ve araştırma için belirlenen uygulama, tetkik ve girişimlerin araştırma grubunca karşılanması kaydı ile çalışmanın yapılmasına ve Hastanemiz arşiv bilgi ve belgelerinin kullanılmasına "İZİN" "VERİLMİŞTİR" / "VERİLMEMİŞTİR". "ETİK KURUL ONAYI" "GEREKTİRİR" / "GEREKTİRMEZ".

Doç. Dr. N. Turgut Çavuşoğlu
Nükleer Tıp Kliniği
Kıdem ve Eğitim Sorumlusu

Prof. Dr. Uğur Koçer

Doç. Dr. Sevim Aslan Felek

Doç. Dr. Murat Kekilli
Eğitim Koordinatörü

Doç. Dr. M. Recep Pekcici
Başhekim

Prof. Dr. K. Bahadır Alemdaroğlu

Doç. Dr. Hülya Başar

06.10.2017

T. C. S. B.
SAĞLIK BİLİMLERİ ÜNV.
ANKARA EĞİTİM VE ARAŞTIRMA HASTANESİ
BAŞHEKİMLİK MAKAMINA

Hastanemiz Tıpta Uzmanlık Eğitim Kurulunun 10.05.2017-0006 tarih ve toplantı numaralı 0060 Karar nosu ile kabul edilmiş bulunan, "**Karbapenem dirençli Klebsiella kökenlerinde yıllar içerisinde Kolistin MİK değerlerindeki artışın invitro değerlendirilmesi**" isimli Retrospektif bilimsel çalışmasının Hastanemiz Tıbbi Mikrobiyoloji Kliniği asistanlarından **Asist.Dr.İsmail Selçuk AYGAR**'a ait **Retrospektif Tez** Çalışması olarak yeniden değerlendirilmesini bilgilerinize sunarım.

Prof.Dr.Ali Kudret Adiloğlu

Tıbbi Mikrobiyoloji Kliniği Eğitim Sorumlusu



- Hastaneye TUEK'te gıdınabek
İnce TUEK Selçuk'a iletti





T.C.S.B.
Sağlık Bilimleri Üniversitesi
Ankara Sağlık Araştırma Uygulama Merkezi
Tıpta Uzmanlık Eğitim Kurulu
Karar Defteri

Toplantı No: 0020

11.10.2017

BAŞKAN
Doç.Dr.M.Recep Pekcici
Başhekim

TUEK ASIL ÜYELERİ	TUEK YEDEK ÜYELERİ
Doç.Dr.Nadir Turgut Çavuşoğlu Genel Cerrahi Kliniği	Prof.Dr.Meliha Korkmaz Nükleer Tıp Kliniği
Prof.Dr.K.Bahadır Alemdaroğlu Ortopedi ve Travmatoloji Kliniği	Doç.Dr.Elif Ergün Radyoloji Kliniği
Prof.Dr.Uğur Koçer Plastik Rekonstrüktif ve Estetik Cerrahi Kliniği	Doç.Dr.Ayşe Esra Karakoç Mikrobiyoloji Kliniği
Doç.Dr.Hülya Başar Anestezi ve Reanimasyon Kliniği	Doç.Dr.Necmi Arslan KBB Hastalıkları Kliniği
Doç.Dr.Sevim Aslan Felek KBB Hastalıkları Kliniği	Doç.Dr.Burcu Duyut Çakır Fiziksel Tıp ve Rehabilitasyon Kliniği

KARAR:

213.Tıbbi Mikrobiyoloji Kliniği'nden Prof.Dr.Ali Kudret Adiloğlu'nun 06.10.2017 tarihli yazısında; Tıpta Uzmanlık Eğitim Kurulumuzun 10.05.2017-0006 tarih ve toplantı nolu 0060 karar numarası ile onay verilmiş bulunan "Karbapenem dirençli Klebsiella kökenlerinde yıllar içerisinde Kolistin MİK değerlerindeki artışın invitro değerlendirilmesi" isimli Retrospektif çalışmasının Tıbbi Mikrobiyoloji Kliniği Asistan Doktorlarından Ast.Dr.İsmail Selçuk AYGAR'ın Retrospektif tez çalışması olarak değerlendirilmesini talep etmektedir. Prof.Dr.Ali Kudret Adiloğlu'nun bu talebi görüşüldü incelendi "UYGUN" "OLDUĞUNA / ~~OLMADIGINA~~" "~~OLÇUKLUĞU~~ / OYBİRLİĞİ" ile karar verilmiştir.

Doç.Dr.N.Turgut Çavuşoğlu

Prof.Dr.Uğur Koçer

Doç.Dr.Sevim Aslan Felek

Prof.Dr.K.Bahadır Alemdaroğlu

Doç.Dr.Hülya Başar

Prof.Dr.Murat Kekilli
Eğitim Koordinatörü

Doç.Dr.M.Recep Pekcici
Başhekim

9.ÖZGEÇMİŞ

I- Bireysel Bilgiler

Adı-Soyadı: İSMAİL SELÇUK AYGAR

Doğum yeri ve tarihi: ANKARA - ALTINDAĞ/ 22.06.1986

Uyruğu: Türkiye Cumhuriyeti

Medeni durumu: Evli

Askerlik durumu: Bedelli askerlik muafiyeti

İletişim adresi ve telefonu: drisa1986@hotmail.com +0905078458375

Yabancı dili: İngilizce (orta düzey)

II- Eğitimi (tarih sırasına göre yeniden eskiye doğru)

T.C. Sbü Ankara Eğitim Ve Araştırma Hastanesi Tıbbi Mikrobiyoloji Kliniği

Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi

Ankara Atatürk Lisesi

III- Ünvanları (tarih sırasına göre eskiden yeniye doğru)

Pratisyen Doktor

IV- Mesleki Deneyimi

Yozgat Sorgun Toplum Sağlığı Merkezi (1 hafta)

Yozgat Halk Sağlığı Müdürlüğü Aile Hekimliği Şube Müdürlüğü (3 ay)

Ankara Eğitim ve Araştırma Hastanesi Anesteziyoloji ve Reanimasyon Kliniği (3 ay)

Yozgat Toplum Sağlığı Merkezi(3 ay)

Yozgat 112 Komuta Kontrol Merkezi (3 ay)

T.C. Sbü Ankara Eğitim Ve Araştırma Hastanesi Tıbbi Mikrobiyoloji Kliniği(4 yıl)

V- Üye Olduğu Bilimsel Kuruluşlar

VI- Bilimsel İlgi Alanları

Viroloji

Temel İmmünoloji



