



**T.C.  
SAKARYA ÜNİVERSİTESİ  
TIP FAKÜLTESİ  
TIBBİ MİKROBİYOLOJİ ANABİLİM DALI**

**KARBAPENEMAZ ÜRETEN ENTEROBACTERIACEAE  
KÖKENLERİNDE ÇEŞİTLİ ANTİBİYOTİK  
KOMBİNASYONLARININ *IN VITRO* ETKİNLİKLERİNİN  
ARAŞTIRILMASI**

**UZMANLIK TEZİ**

**Arş. Gör. Dr. Ümit KILIÇ**

**DANIŞMAN  
Prof. Dr. Mustafa ALTINDIŞ**

**KASIM-2018**

## BEYAN

Bu çalışma T.C. Sakarya Üniversitesi Girişimsel olmayan Etik Kurulu'ndan 02/10/2017 tarihinde onay olarak hazırlanmıştır. Bu tezin kendi çalışmam olduğunu, planlanmasından yazımına kadar hiçbir aşamasında etik dışı davranışımın olmadığını, tezdeki bütün bilgileri akademik ve etik kurallar içinde elde ettiğimi, tez çalışmasıyla elde edilmeyen bütün bilgi ve yorumlara kaynak gösterdiğimi ve bu kaynakları kaynaklar listesine aldığımı, tez çalışması ve yazımı sırasında patent ve telif haklarını ihlal edici bir davranışımın olmadığını beyan ederim.

Tarih:

30/10/2018

Arş. Gör. Dr. Ümit KILIÇ

İmza

## TEŞEKKÜR

Uzmanlık eğitim sürecimde bilgi, fikir ve tecrübelerinden faydalandığım tez danışman hocam Prof. Dr. Mustafa Altındış'e,

Uzmanlık eğitim sürecim ve tezimin her aşamasında sabır, hoşgörü ile bilgi, fikir ve tecrübelerini sunan değerli hocam Prof. Dr. Mehmet Köroğlu'na,

Laboratuvar çalışmaları süresince yardımlarıyla bana destek olan asistan arkadaşlarım Hüseyin Hatipoğlu, Mehmet Ölmez, Tuğba Ayhancı, Elif Özözen Şahin ve Kerem Yılmaz'a

Uzmanlık eğitimim boyunca bilgi ve tecrübelerini benimle paylaşan uzman doktorlarımız Tayfur Demiray, Özlem Aydemir, Agah Terzi, Engin Karakeçe'ye ve laboratuvar teknisyenlerimize,

Her zaman destekleriyle yanımda olan sevgili aileme teşekkürlerimi sunarım.

Saygılarımla

Arş. Gör. Dr. Ümit KILIÇ

# İÇİNDEKİLER

BEYAN.....	i
TEŞEKKÜR.....	ii
İÇİNDEKİLER .....	iii
KISALTMA VE SİMGELER.....	v
TABLOLAR .....	vi
RESİMLER.....	vii
EKLER.....	viii
ÖZET.....	ix
SUMMARY .....	xi
1.GİRİŞ VE AMAÇ .....	1
2.GENEL BİLGİLER .....	4
2.1. KARBAPENEMAZ ÜRETEN ENTEROBACTERIACEAE .....	4
2.2. ENTEROBACTERIACEAE TÜRLERİNDE DİRENÇ SORUNU VE DİRENÇ MEKANİZMALARI.....	5
2.3. KARBAPENEMAZLAR .....	8
2.3.1. Sınıf A Karbapenemazlar .....	8
2.3.2. Sınıf B Karbapenemazlar: Metallo-beta-laktamazlar .....	9
2.3.3. Sınıf D Karbapenemazlar (Oksasilinazlar).....	10
2.4. KARBAPENEMAZ ÜRETEN ENTEROBACTERIACEAE ENFEKSİYONLARINDA TEDAVİ SEÇENEKLERİ.....	10
2.4.1. Karbapenemler .....	11
2.4.2. Polimiksinler .....	13
2.4.3. Tigesiklin.....	14
2.4.4. Fosfomisin .....	15
2.4.5. Aminoglikozidler.....	15
2.4.6. Kombinasyon Tedavileri .....	16
2.4.7. Beta-laktamaz İnhibitörleri.....	17
2.4.8. Gelişen Tedaviler .....	18

3. MATERYAL ve METOT .....	20
3.1. ETİK KURUL ONAYI .....	20
3.2. SUŞLARIN SEÇİLİMİ .....	20
3.2.1. İdentifikasyon ve Antibiyogram .....	20
3.2.2. Karbapenemaz Üretimini Saptanması .....	23
3.2.2.1. Modifiye Hodge Testi .....	23
3.2.2.2. Real-time PCR .....	23
3.3. ANTİBİYOTİK DUYARLILIK TESTLERİ VE SİNERJİ ÇALIŞMASI .....	23
3.3.1. Broth mikrodilasyon ile antibiyotik duyarlılık testi .....	24
3.3.2. Gradyentli MİK Strip Test .....	27
3.3.3. Checkerboard ile Sinerji Çalışması .....	27
4. BULGULAR .....	31
4.1. AZTREONAM VE AVİBAKTAM .....	31
4.2. KOLİSTİN VE APRAMİSİN .....	31
4.3. SEFTOLOZAN/AZOBAKTAM .....	32
5. TARTIŞMA VE SONUÇ .....	35
KAYNAKLAR .....	43
EK 1. Sakarya Üniversitesi Etik Kurulu Onayı .....	61
ÖZGEÇMİŞ .....	62

## KISALTMA VE SİMGELER

BMD	Broth mikrodilusyon
CLSI	Clinical and Laboratory Standards Institute
<i>E. coli</i>	<i>Escherichia coli</i>
EDTA	Etilendiamin tetraasetik asit
EUCAST	European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing
XDR/YİD	Extensively drug-resistant/yaygın ilaca dirençli
FİK	Fraksiyonel inhibitör konsantrasyonu
FİKİ	Fraksiyonel inhibitör konsantrasyonu indeksi
GSBL	Genişlemiş spektrumlu beta-laktamaz
KÜE	Karbapenemaz üreten Enterobacteriaceae
<i>K. pneumoniae</i>	<i>Klebsiella pneumoniae</i>
KPC	<i>Klebsiella pneumoniae</i> carbapenemases
CMS	Kolistimetat sodyum
MBL	Metallo-beta-laktamaz
MİK	Minimum inhibitör konsantrasyon
MHT	Modifiye Hodge testi
MDR/ÇİD	Multi-drug rezistans/Çoklu ilaca dirençli
NARMS	National Antibiotic Resistance Monitoring System
PDR	Pan-drug resistant
PCR	Polymerase Chain Reaction

## TABLÖLAR

**Tablo 1.** Çalışmada kullanılan suşların ve örneklerin bazı özellikleri

**Tablo 2.** Karbapenemaz türüne göre suşların sayısal dağılımı

**Tablo 3.** Suşların VİTEK 2<sup>®</sup> otomatize sisteme göre antibiyotik duyarlılık durumları

**Tablo 4.** Çalışmada kullanılan antibiyotiklerin sınır MİK değerleri (µg/ml)

**Tablo 5.** Suşların broth mikrodilüsyon MİK değerleri, gradiyentli strip test MİK değerleri (Seftolozan/tazobaktam) ve duyarlılık yorumları

**Tablo 6.** Aztreonam/avibaktam kombinasyonu için Checkerboard çalışmasındaki örnek bir mikropak planı (kuyucuklardaki antibiyotik konsantrasyonları ve kontrol kuyucukları)

**Tablo 7.** Kolistin/apramisin kombinasyonu için Checkerboard çalışmasındaki örnek bir mikropak planı (kuyucuklardaki antibiyotik konsantrasyonları ve kontrol kuyucukları)

**Tablo 8.** Aztreonam ve avibaktamın tek başlarına ve kombinasyondaki MİK değerleri ve FİK indeksi sonuçları

**Tablo 9.** Kolistin ve apramisinin tek başlarına ve kombinasyondaki MİK değerleri ve FİK indeksi sonuçları



## RESİMLER

**Resim 1.** Aztreonam/Avibaktam kombinasyonu çalışılan bir suşa ait checkerboard plağı



## **EKLER**

**Ek 1.** Sakarya Üniversitesi Etik Kurulu Onayı



## ÖZET

**Giriş ve Amaç:** Karbapenemaz üreten Enterobacteriaceae kökenleri, karbapenem dirençli ve mortalitesi yüksek enfeksiyonlara neden olmakta ve her geçen gün bu bildirimlerin sayısı artmaktadır. Yeni antibiyotik çalışmalarının istenilen etkinlikte olmaması ve karbapenem gibi son seçenek ilaçlara karşı direnç gelişimi tedavideki alternatifleri oldukça daraltmıştır. Öyle ki endikasyon ve toksisite endişesi ile sık kullanılmayan tedavi rejimleri gündeme gelmiştir. Çalışmamızda, karbapenemaz üreten Enterobacteriaceae suşlarında etkili olabilecek antibiyotikler ve kombinasyonlarının *in vitro* etkinliği araştırılarak, tedavideki bu çıkmazlar için yol gösterici verilerin eldesi amaçlanmıştır. Bu doğrultuda karbapenemaz üreten *Klebsiella pneumoniae* suşlarında; aztreonam, avibaktam, apramisin, seftolozan/tazobaktam ve kolistin gibi antibiyotikler ile bunların bazı kombinasyonlarının *in vitro* etkinliği araştırılmıştır.

**Gereç ve Yöntem:** Sakarya Üniversitesi Eğitim ve Araştırma Hastanesi Tıbbi Mikrobiyoloji Laboratuvarı'nda yapılan rektal sürüntü tarama kültürlerinden ve çeşitli klinik örneklerden izole edilen suşlar içerisinde karbapenem dirençli olup karbapenemaz ürettiği saptanan ve yaygın ilaca dirençli olan Enterobacteriaceae ailesine ait 38 *K. pneumoniae* suşu çalışmaya dahil edildi. Bakteri tanımlama ve antibiyotik duyarlılık çalışmaları VITEK 2® (bioMerieux, Fransa) otomatize sistemi ve broth mikrodilüsyon yöntemi ile yapıldı. Karbapenemaz üretimi, fenotipik olarak Modifiye Hodge Testi ile genotipik olarak da real-time Polimeraz Zincir Reaksiyonu yöntemi (Gene Xpert Carba-R kiti, Cepheid, ABD) ile belirlendi. Suşların tümünde aztreonam+avibaktam kombinasyonu ve kolistin dirençli 26 suшта ise kolistin/apramisin kombinasyonu checkerboard yöntemi ile çalışıldı. Seftolozan/tazobaktam kombinasyonunun etkinliği gradiyent strip test (Liofilchem®, İtalya) ile belirlendi.

**Bulgular:** Aztreonam ve avibaktam, tek başlarına tüm suşlarda yüksek MİK değerlerine sahip olup, tüm suşlar aztreonama dirençli saptandı. Buna rağmen aztreonam-avibaktam kombinasyonunun tüm suşlarda sinerjik etkinliğinin olduğu

belirlendi. Aynı zamanda aztreonamın kombinasyon MİK değerlerinin EUCAST sınır değerine göre %94.7 oranda duyarlılık sınır aralığında olduğu gözlemlendi. Seftolozan/tazobaktam kombinasyonuna karşı sadece 2 suş duyarlı iken 36 suş dirençli bulundu. Apramisin tek başına, suşların 30/38'unda (%79) etkili iken 8 suş (%21) dirençli bulundu. Kolistin dirençli 26 suşun Checkerboard yöntemi ile yapılan sinerji çalışmasında kolistin ve apramisin kombinasyonu, suşların 4'ünde sinerjik (%15.3), 8'inde antagonist (%30.7), 14'ünde ise aditif (%54) etkili olarak tespit edildi.

**Sonuç:** Aztreonam-avibaktam kombinasyonunun, metallo-beta-laktamaz da dahil olmak üzere karbapenemaz üreten *K. pneumoniae* suşlarında *in vitro* sinerjik etkinliğinin yüksek ve tedavide oldukça umut vaadedici olduğu görülmüştür. Kolistin dirençli suşlarda denenen kolistin/apramisin kombinasyonunun sinerjik etkinliği düşük bulundu. Buna rağmen apramisinin tek başına bu suşlarda düşük MİK değerlerine sahip olması, klinik araştırmalar ve tedavi için potansiyel oluşturmaktadır. Bu ilaçlar, kısıtlı tedavi seçeneklerine sahip olduğumuz karbapenemaz üreten Enterobacteriaceae suşlarında yeni tedavi seçenekleri olabilir.

**Anahtar Kelimeler:** Karbapenemaz üreten Enterobacteriaceae, *Klebsiella pneumoniae*, aztreonam-avibaktam, seftolozan/tazobaktam, apramisin, kolistin

## SUMMARY

**Introduction and Aim:** Carbapenemase-producing Enterobacteriaceae strains cause carbapenem-resistant infections with high mortality, and the number of these reports is increasing with each passing day. The fact that new antibiotic studies do not have the desired efficiency and the development of resistance to the last choice drugs such as carbapenem have restricted the alternatives in treatment. Therefore, the treatment regimens that are not frequently used due to the indication and toxicity concerns have come to the fore. In this study, it was aimed to obtain guiding data for these dilemmas in treatment by investigating the *in vitro* efficacy of antibiotics and their combinations which may be effective in carbapenemase-producing Enterobacteriaceae strains. Accordingly, the *in vitro* efficacy of antibiotics, such as aztreonam, avibactam, apramycin, ceftolozane/tazobactam and colistin, and some combinations of them in Carbapenemase-producing *Klebsiella pneumoniae* strains was investigated.

**Material and Method:** From among the strains isolated from rectal swab screening cultures and various clinical specimens performed in Sakarya University Training and Research Hospital Medical Microbiology Laboratory, 38 *K. pneumoniae* strains of the Enterobacteriaceae family, which are resistant to carbapenem, found to produce carbapenemase and are resistant to extensive drugs were included in the study. Bacterial identification and antibiotic susceptibility studies were performed by the VITEK 2<sup>®</sup> (bioMerieux, France) automated system and broth microdilution method. Carbapenemase production was determined phenotypically by the Modified Hodge Test and genotypically by real-time Polymerase Chain Reaction method (Gene Xpert Carba-R kit, Cepheid, USA). The aztreonam+avibactam combination in all strains and the colistin+apramycin combination in colistin resistant 26 strains were studied by the checkerboard method. The efficacy of ceftolozane/tazobactam combination was determined by the gradient strip test (Liofilchem<sup>®</sup>, Italy).

**Results:** Aztreonam and avibactam had high MIC values in all strains alone, and all strains were found to be resistant to aztreonam. However, it was determined that aztreonam-avibactam combination had synergistic activity in all strains. It was also

observed that the combination MIC values of aztreonam were in 94.7% sensitivity threshold range according to the EUCAST threshold value. Only 2 strains were susceptible to ceftolozane-tazobactam combination, 36 strains were found to be resistant. While apramycin was alone effective in 30/38 (79%) of the strains, 8 strains (21%) were found to be resistant. In the synergy study of colistin-resistant 26 strains performed by the checkerboard method, it was determined that the colistin and apramycin combination had a synergistic effect in 4 (15.3%) of the strains, an antagonist effect in 8 (30.7%) of them and an additive effect in 14 (54%) of them.

**Conclusion:** It was observed that aztreonam-avibactam combination had a high *in vitro* synergistic activity in carbapenemase-producing *K. pneumoniae* strains, including metallo-beta-lactamase, and was very promising in treatment. The synergistic activity of the colistin/apramycin combination tested in colistin-resistant strains was found to be low. Nevertheless, the fact that apramycin has low MIC values in these strains alone constitutes a potential for clinical studies and treatment. These drugs may be new treatment options in carbapenemase-producing Enterobacteriaceae strains with limited treatment options.

**Keywords:** Carbapenemase-producing Enterobacteriaceae, *K. pneumoniae*, aztreonam-avibactam, ceftolozane-tazobactam, apramycin, colistin

## 1. GİRİŞ VE AMAÇ

Enterobacteriaceae, Proteobacteria filumu, Gammaproteobacteria sınıfında yer alan gram negatif fakültatif anaerob, çomak şekilli, endospor form oluşturmeyen bakteri ailesidir (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/mesh/68004755> Erişim tarihi: 10.10.2018). Bu grubun üyeleri, bir dizi farklı ekolojik niş içermektedir. Toprak, su, bitkiler, böcekler, hayvanlar, insanlar dahil canlı organizmalarla ve çevreyle ilişkili olarak bulunmuşlardır. İnsan ve hayvanların intestinal florasında sıkça rastlanan bu bakteri ailesi, klinik örneklerden de enfeksiyon etkeni olarak sıkça izole edilmektedir. Bakteriyeşilerin (%30-35), üriner sistem enfeksiyonlarının (%70) ve intestinal enfeksiyon gibi birçok enfeksiyon hastalıklarının etkeni olarak karşımıza çıkmaktadırlar. *Salmonella Typhimurium*, *Shigella* türleri, *Yersinia pestis* gibi insan normal florasında olmayan patojenlerin yanı sıra *Escherichia coli* (*E. Coli*), *Klebsiella pneumoniae* (*K. Pneumoniae*) ve *Proteus mirabilis* gibi insan florasında olup enfeksiyonlara neden olan türler mevcuttur (Başustaoğlu ve ark. 2014). Bu enfeksiyonlar, toplum kaynaklı basit enfeksiyonlardan sağlık bakımla ilişkili fırsatçı, komplike, tedavisi zor enfeksiyonlara kadar geniş bir klinik tablo oluşturabilirler. Özellikle sağlık bakımla ilişkili/hastane enfeksiyonlarında artan antimikrobiyal ilaç direnci, morbidite ve mortalitenin artmasına neden olmaktadır. Son yıllarda sıklığı artan, toplum kaynaklı ve sağlık bakımla ilişkili (cerrahi işlemler, cihaz kullanımı, yoğun bakımda uzun süre kalma, immünsupresyon gibi) enfeksiyonlara neden olan genişlemiş spektrumlu beta-laktamaz (GSBL) üreten Enterobacteriaceae suşları, karbapenem dışındaki çoğu beta-laktam antibiyotikleri hidrolize edebilmektedir. Hayatı tehdit eden bu enfeksiyonların tedavisinde mecburen ve nihai olarak başvuruşan antibiyotikler de karbapenemler olmaktadır (imipenem, meropenem, ertapenem vb.). Yakın zamanlarda ise karbapenemleri hidrolize eden karbapenemaz enzimine sahip Enterobacteriaceae suşları ortaya çıkmıştır. Bu da karbapenemlerin etkilerinin zayıf olduğu, mortalitesi yüksek, yoğun ve çeşitli antibiyotiklerle tedavi

edilmeye çalışılan enfeksiyonları beraberinde getirmiştir (Falagas et al. 2014, Nabarro et al. 2015). Başlangıçta sağlık bakımla ilişkili enfeksiyonlarda görülen bu karbapenem dirençli suşlar, toplum kaynaklı enfeksiyonlarda da ortaya çıkmaya başlamıştır (Khatri et al. 2015, Van Duin et al. 2016).

Çeşitli salgınlar ve küresel sporadik vakalarla karbapenem dirençli suşların yayılımı; direnç mekanizmalarının araştırılması, dirençli suşlarla kolonize hastaların izolasyonu ve etkin tedavi arayışları gibi çalışmaları beraberinde getirmiştir. Karbapenemaz üreten Enterobacteriaceae (KÜE) suşlarında ilave direnç mekanizmalarının varlığı florokinolon ve aminoglikozid gibi beta-laktam dışı antibiyotiklere karşı da direnç fenotiplerine neden olmaktadır. Geri kalan terapötik seçenekler (kolistin, tigesiklin, fosfomisin vb.), etkinlik ve toksisite profilleri konusundaki endişelere bağlı olarak yetersizdir (Van Duin et al. 2013, Morrill et al. 2015). Tüm bu sorunlar tedaviye ilişkin yeni ajanların ve kombinasyon terapilerinin araştırılması ihtiyacını zorunlu hale getirmiştir. Yeni antibiyotiklerin istenilen maliyet, etkinlik ve hızda geliştirilememesi, bakteri direnç mekanizmalarının irdelenmesi ve mevcut tedavileri bu direnç mekanizmalarını hedefleyerek kullanma ve kombine etme eğilimini ön plana çıkarmaktadır. Literatürde de bu konuyla ilgili çok sayıda alternatif tedavi arayışları ve denenen çeşitli tedavi seçenekleriyle ilgili çalışmalar mevcuttur.

Bu tip enfeksiyonların tedavisinde, toksisitesine rağmen düşük minimal inhibitör konsantrasyona sahip olma olasılığı olan ajanlar arasında yer aldığından dolayı kolistin kullanımı gündeme gelmiştir. Ancak bu ilaca direnç gelişimini önlemek için tek başına kullanılmaması ve uygun antibiyotiklerle kombine kullanılmasını öneren bazı çalışmalar mevcuttur (Petrosillo et. al. (2008). Tedavide alternatif diğer bir antibiyotik grubu aminoglikozidlerdir. Aminoglikozidlerin, toksisitelerinin fazla olması ve ilave direnç mekanizmaları ile karşılaşmalarından dolayı etkin tedavide yer bulmaları güç görünmektedir. Ancak veterinerlik alanında kullanılan bir aminoglikozid olan apramisin, diğer aminoglikozidlerden molekül yapısı nedeniyle ayrılmaktadır. Bu molekül yapısı, nefrotoksitesi ve ototoksisitesinin diğer aminoglikozidlere (amikasin ve gentamisin vb.) oranla az olmasını sağlamaktadır. Aynı zamanda bakteriyel ribozomal mutasyonlardan ve bakteriler tarafından yaygın



olarak üretilen modifiye edici enzimlerden daha az etkilenmeleri nedeniyle aminoglikozid dirençli suşlarda etkili olabilmektedir (Matt et al. 2012). Dolayısıyla çoklu ilaca dirençli/multi-drug rezistans bakterilere karşı etkin ve daha az toksik tedavi sunabileceği için araştırmaya değer bir ajan olarak görülmektedir.

Beta-laktamaz üreten suşların tedavisindeki olağan ve sıkça kullanılan alternatiflerden biri de etkili bir beta-laktamaz inhibitörü ile bir beta-laktam antibiyotiğin kombine kullanılmasıdır. Avibaktam da bu sebeple geliştirilmiş yeni bir beta-laktamaz inhibitörüdür ve metallo-beta-laktamaz (MBL) haricindeki karbapenemaz enzimlerini (OXA-48 ve KPC dahil) inhibe edebilme yeteneğine sahiptir. Seftazidim/avibaktam kombinasyonu Avrupa ve Amerika'da onay almış ve geniş sürveyans çalışmalarında kullanılmıştır. Bu kombinasyonda avibaktam seftazidimin, OXA-48 ve KPC gibi karbapenemaz ve GSBL enzimlerini üreten suşlara karşı etkin olmasını sağlamaktadır (Sader et al. 2015, De Jonge et al. 2016). Bu etkilerinden dolayı avibaktamın, MBL üreten suşlara karşı etkili olma potansiyeli olan aztreonam gibi diğer bir ajanla kombinasyonu, MBL üreten suşları da kapsayan bir tedavi için potansiyel oluşturmaktadır (Nordmann et al. 2011).

Çoklu ilaca dirençli Enterobacteriaceae ve antipsödomonal sefalosporinlere dirençli *Pseudomonas aeruginosa* enfeksiyonları için oluşturulan bir diğer beta-laktam/beta-laktamaz inhibitörü kombinasyonu da seftolozan/tazobaktam olup direnç sürveyans kapsamında bu ilaçla ilgili geniş çalışmalar yapılmıştır (Shortridge et al. 2018).

Bu uzmanlık tezi çalışmasında, karbapenemaz üreten ve yaygın ilaca dirençli/ extensively drug-resistant (YİD/XDR) olan Enterobacteriaceae ailesine ait *K. pneumoniae* suşlarında; aztreonam, avibaktam, seftolozan/tazobaktam, kolistin, apramisin gibi antibiyotiklerin ve bazı kombinasyonlarının *in vitro* etkinliği araştırılarak bu tip dirençli mikroorganizmalarla oluşmuş enfeksiyon hastalıklarının tedavisinde kullanım potansiyelleri ile ilgili verilerin elde edilmesi amaçlanmıştır.

## 2. GENEL BİLGİLER

### 2.1. KARBAPENEMAZ ÜRETEN ENTEROBACTERIACEAE

Enterobacteriaceae, insan mikrobiyomunda sıkça bulunur ve en sık görülen insan patojenleri arasındadır. Sistit, piyelonefrit, septisemi, pnömoni, peritonit, menenjit, yumuşak doku enfeksiyonları ve kateter ilişkili enfeksiyonlar gibi toplum veya hastane kaynaklı enfeksiyonlara neden olur. İnsanlar arasında kontamine eller, yiyecekler ve su ile kolayca yayılabilirler. Ayrıca bu ailenin üyeleri çoğunlukla plazmidler ve transpozonların aracılık ettiği yatay gen transferi yoluyla genetik materyal elde etme eğilimindedirler (Nordmann et al. 2011). Karbapenem dirençli Enterobacteriaceae izolatları, dünya çapında büyük oranda bu bakterilerin karbapenemaz genlerini kazanması sonucu ortaya çıkmıştır (Queenan and Bush, 2007). Özellikle Sağlık bakım ilişkili enfeksiyonlar olmak üzere KÜE prevalansı son yıllarda artmış ve CDC tarafından önlenmesi gereken acil bir halk sağlığı tehdidi olarak tanınmıştır. Yine CDC'nin tahminine göre Amerika Birleşik Devletleri'nde her yıl en yaygın iki KÜE tipi olan Klebsiella türleri ve Escherichia türleri tarafından 9000'den fazla sağlık bakım ilişkili enfeksiyon meydana gelmektedir (CDC, 2013).

Ülkemizdeki çalışmalar sınırlı olsa da epidemiyolojik durumu iç açıcı gözükmemektedir. Avrupa KÜE sörveyans grubunun 2015 yılında yayınladığı raporda ülkemiz Avrupa'da İtalya ve Yunanistan'la beraber endemik bölgeler arasında gösterilmiştir (European Survey of Carbapenemase-Producing Enterobacteriaceae (EuSCAPE) working group 2015). KÜE suşlarının neden olduğu enfeksiyonlar, tedaviye bağlı olarak yüksek mortalite oranlarına (%18-%48) sahip olduğu için endişe verici olmaktadır (CDC, 2013). Bu sonuçlar, etkin tedaviye geç başlama, mevcut kısıtlı tedavi seçenekleri, farmakolojik sınırlamalar ve KÜE

enfeksiyonlarına sahip hastaların genellikle eşlik eden önemli morbidite faktörlerine sahip olma eğilimiyle bağlantılı olabilmektedir (Akova et al. 2012).

## **2.2. ENTEROBACTERIACEAE TÜRLERİNDE DİRENÇ SORUNU VE DİRENÇ MEKANİZMALARI**

Enterobacteriaceae suşlarında direnç, çoğu farklı türler ve hatta farklı cinsler dahil kaynak hücrelerden alınan ve plazmidlere aktarılan, daha sonra da hücreler arasında aktarılabilen "mobil" genler nedeniyle kazanılmaktadır. Bu mobil genler tek antibiyotik sınıfına karşı direnci temsil edebildiği gibi bazı plazmidler birçok antibiyotiğe karşı direnç genlerini bir arada bulundurabilmektedir (Galimand et al. 2003). Bununla birlikte, kromozomal genlerdeki mutasyonlar da direnç oluşumu için önem taşımaktadır. Bu direnç mekanizmaları arasında beta-laktamaz üretimi, aminoglikozid modifiye edici enzimler, eflüks pompaları, geçirgenliğin azaltılması ve hedef bölgelerin modifikasyonları gibi direnç mekanizmaları yer almaktadır (Nordmann et al. 2011, Partridge 2015).

Direnç mekanizmalarına sahip bakterilerin oluşturdukları direnç paternleri, literatürde MDR/ÇİD (multi-drug resistant, çoklu ilaca dirençli), XDR/YİD (extensively drug-resistant, yaygın ilaca dirençli), PDR (Pan-drug resistant) gibi terimlerle ifade edilebilmektedir. Sabit tanımları olmasa da genel kullanımda ve standardizasyon çalışmalarında; MDR/ÇİD, 3 veya daha fazla antimikrobiyal grubundan ajanlara, XDR/YİD, 1-2 antimikrobiyal sınıf dışındaki tüm antimikrobiyal sınıflara, Pan-drug resistant ise tüm antimikrobiyal sınıflara karşı direnç paternini ifade etmek için kullanılmaktadır (Magiorakos et al. 2012).

Beta-laktamazlar, beta-laktam antibiyotikleri hidroliz ederek (penisilin, sefalosporinler, monobaktamlar, karbapenemler) beta-laktam direncine neden olan 300'den fazla üyesi bulunan büyük bir enzim grubunu tanımlamaktadır. Enzim yapılarındaki aminoasit ve aktif bölge farklılıklarından dolayı Ambler sınıflamasına göre sınıf A, B, C ve D grubu beta-laktamazlar olarak sınıflanan bu gruplarda, penisilnazlar, GSBL, Amp C ve karbapenemazlar gibi enzimler yer alır (Ruppé et al. 2015). GSBL, Amp C gibi beta-laktamazlar, penisilin ve sefolasporin direncine neden olurken, karbapenemaz özelliği olan KPC, OXA-48, NDM-1 gibi beta-

laktamazlar, sefalosporinlerin yanı sıra karbapenemleri de hidrolize ederek karbapenem, minimum inhibitör konsantrasyon (MİK) değerlerinde yükselmeye ve karbapenem direncine neden olurlar. Karbapenem direncine neden olan bir diğer mekanizma ise Amp C veya GSBL enzimlerinin üretimi ile geçirgenliğin azalmasına neden olan direnç mekanizmalarının (porin kaybı, efflux pompası gibi) birlikte olduğu bileşik mekanizmalardır (Partridge 2015, Ruppé et al. 2015).

Enterobacteriaceae izolatlarındaki aminoglikozid direnci, esas olarak aminoglikozid modifiye edici enzimlerin aktivitesine (aminoglikozid fosfotransferaz, aminoglikozid nükleotidiltransferaz ve aminoglikozid asetiltransferaz) bağlıdır. Bu enzimler, aminoglikozidlerin yapılarını değiştirerek aktiviteilerini engellerler (Ruppé et al. 2015). Aminoglikozid direncinde diğer bir önemli mekanizma da 16S RNA' daki metilasyon sonrası hedef moleküldeki değişikliğe bağlı olarak aminoglikozidlerin bu bölgeye afinitelerinin azalmasıdır. ArmA ve Rmt gibi metilaz enzimleri bu yolla geniş spektrumlu aminoglikozid direncine neden olmaktadır (Galimand et al. 2003). Yine effluks pompaları da hücre içine giren aminoglikozidleri aktif taşıma ile dışarı atarak aminoglikozid direncine neden olabilmektedir (Garneau-Tsodikova and Labby 2016).

Enterobacteriaceae ailesinde kinolon direnci ise genellikle DNA giraz ve topoizomeraz IV kodlayan genlerdeki (sırasıyla gyrA ve parC) kromozomal mutasyonlardan sonra ortaya çıkar ve her mutasyon MİK değerlerinde yükselmeye neden olur. Böylelikle, tek bir mutasyona sahip olan suşlar, florokinolonlara duyarlı görünebilir, ancak kinolonlara karşı oldukça dirençli olabilir (Hooper and Jacoby, 2015). Bu fenotip, özellikle bakteriyel yük fazla olduğunda ve florokinolon monoterapisi altında, yüksek seviyeli florokinolon direnci olan mutantların ortaya çıkmasını kolaylaştırmaktadır (Jacoby 2005). Kromozomal mutasyonlar, ayrıca effluks pompalarının aşırı ekspresyonuna neden olarak geçirgenliğinin azalmasına dolayısıyla da duyarlılığın azalmasına yol açabilmektedir (Ruppé et al. 2015). Ayrıca diğer antibiyotik gruplarına dirençle kinolon direnci birlikteliği sık görülmektedir. Plazmid kaynaklı dirençler de kinolon direncinde rol almakta olup buna örnek olarak AAC(6')-Ib-cr gibi aminoglikozid modifiye edici enzim kodlayan genetik elementin aynı zamanda siprofiloksasin direncine neden olan mutasyonları içermesi verilebilir

(Strahilevitz et al. 2009). Florokinolon direncinin plazmid kaynaklı yapılarının sıklıkla GSBL ile ilişkili olduğu da dikkate değerdir (Filippa et al. 2013).

Önemli bir direnç fenotipi olan kolistin direnci, daha çok bakteri dışı membran polaritesini düzenleyen genlerdeki mutasyonla ilişkilendirilmektedir. Bu mutasyonun aktivitesi sonucunda kolistin hedefi olan lipopolisakkarit yapıdaki değişikliklere bağlı olarak kolistin etkinliği azalmaktadır. Buna ilaveten *K. pneumoniae* suşlarındaki kapsülün de kolistin duyarlılığını etkilediği düşünülmektedir. Ayrıca son yıllarda tanımlanan plazmid kaynaklı mobilize kolistin direnç geni (MCR-1), direncin yayılımında tehdit oluşturmaktadır. Bu genin aktivitesi de yine lipit A içeriğini değiştirip kolistin afinitesinin azalmasına neden olmaktadır (Caniaux et al. 2017). *Proteus* spp., *Providencia* spp., *Serratia* spp. ve *Morganella* spp. gibi Enterobacteriaceae cinsleri, kolistine intrinsik dirençli olduklarından bu bakterilerdeki karbapenem direnci, tedavi seçenekleri açısından daha da olumsuz bir tablo oluşturmaktadır (Nordmann et al. 2011). Kolistin dirençli Enterobacteriaceae'nin, özellikle de *K. pneumoniae*'nin yayılımı, karbapenem direnci yüksek prevalanslı ve yüksek hacimde kolistin tüketimine sahip yoğun bakımlarda endişe vericidir (Zagorianou et al. 2012). Artan kolistin kullanımının aynı zamanda kolistine intrinsik dirençli Enterobacteriaceae suşları ile enfeksiyonların görülme sıklığını artırdığı düşünülmektedir. Nitekim literatürde artmış kolistin kullanımına bağlı *Serratia marcescens* enfeksiyonlarının neden olduğu salgın raporları mevcuttur (Merkier et al. 2013). Bununla birlikte, kolistin dirençli izolatların, kolistin tedavisinden bağımsız olarak ortaya çıkabileceği de gösterilmiştir (Chen et al. 2011). Kolistinle ilgili geniş katılımlı global bir sörveyans çalışmasında intrinsik dirençli bakteriler dışındaki Enterobacteriaceae suşları üzerinde duyarlılık testleri çalışılmış, beta-laktamaz üretimi ile kolistin direnci arasında korelasyon olduğu vurgulanmıştır. Aynı zamanda bu çalışmada bazı ülkelerde kolistin direnç oranlarının %5'e, KÜE suşlarında ise bu oranın %12'ye kadar yükseldiği bildirilmiştir. Bu çalışmada ülkemizle ilgili kolistin direnç oranının %2-3 arasında olduğu bildirilmiştir (Bradford et al. 2015).

Sağlık bakım ilişkili enfeksiyonlarda, kolistin direnci doğal olarak daha da fazla olmaktadır. Nitekim ülkemizde yapılan bir çalışmada sağlık bakım ilişkili

enfeksiyonlardan izole edilen *K. Pneumineae* suşlarının %16'sının kolistin dirençli olduğu saptanmıştır (Turkish Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases, Healthcare-related Infections Study Group. 2018).

### **2.3. KARBAPENEMAZLAR**

Enterobacteriaceae izolatlarında ilk karbapenemaz (NmcA) üretimi 1993 yılında tanımlanmıştır (Naas and Nordmann 1994). Daha sonra tanımlanmış birçok karbapenemaz enzimi bulunmaktadır ve halen enzim alt tiplerine ilişkin yeni gelişmeler olmaktadır. Ambler sınıflamasına göre üç sınıf beta-laktamaz grubuna ait (A, B ve D sınıfı beta-laktamazlar) olmak üzere Enterobacteriaceae ailesinde çeşitli karbapenemazlar tanımlanmıştır. A ve D sınıfı beta-laktamazlar aktif bölgesinde serin aminoasiti içerirken B sınıfı beta-laktamazlar, aktif bölgesinde çinko (Zn) içerir ve metallo-beta-laktamaz (MBL) olarak adlandırılırlar (Queenan and Bush 2007).

#### **2.3.1. Sınıf A Karbapenemazlar**

Beta-laktam antibiyotikler üzerinde geniş hidrolitik aktiviteye sahip olan sınıf A karbapenemazlar, serin karbapenemazlar grubuna aittirler ve karbapenemlere ek olarak sefalosporinleri, penisilinleri, aztreonam gibi diğer beta-laktam antibiyotikleri hidrolize edebilirler. Klavulanik asit ve tazobaktam gibi beta-laktamaz inhibitörleri ile kısmen inhibisyon göstermektedirler. Bu sınıfta genellikle KPC enzimi, (*Klebsiella pneumoniae* carbapenemase) karbapenem direncinden sorumludur (Nordmann et al. 2011). KPC enzimi, fenil boronik asitle inhibe olur ve bu enzimin laboratuvar tanısında kullanılmaktadır (Stuart JC and Hall MAL 2010). Diğer sınıf A karbapenemazlar arasında başlıca NMC/IMI (not metallo-enzyme carbapenemase/Imipenem hydrolyzing  $\beta$ -lactamase), SME (*Serratia marcescens* enzyme) gibi enzim grupları tanımlanmıştır (Ambler et al. 1991, Yigit et al. 2001). KPC (KPC-2) ilk olarak 1996'da Amerika'da bir *K. pneumoniae* suşunda tespit edilmiştir (Yigit et al. 2001). Daha sonraları sporadik vakalar ve küçük salgınlarla New York ve ülke genelinde yayılım gözlenmiştir (Bratu et al. 2005, Kitchel et al. 2009). İsrail, Avrupa (İtalya ve Yunanistan), Güney Amerika ve Çin'de rapor edilen olgularla KPC global bir problem haline gelmiştir (Samra et al. 2007, Munoz-Price et

al. 2013). Ülkemizde 2014 yılına kadar KPC enzimi ile ilgili bildirim yapılmamıştır (Labarca et al. 2014). Sınırlı veriler olmakla beraber ülkemiz, sürveyans çalışmalarında sporadik vakaların görüldüğü grupta yer almaktadır (Nordmann and Poirel 2014).

### **2.3.2. Sınıf B Karbapenemazlar (Metallo-beta-laktamazlar)**

Metallo-beta-laktamazlar (MBL) olarak bilinen bu grup, serin beta-laktamazlardan farklı olarak aktif bölgesinde, aktivitesini düzenleyen çinko ( $Zn^{++}$ ) iyonları bulundurur (Walsh 2005). Bu nedenle metal şelatör olan etilendiamin tetraasetik asit (EDTA) ile inhibe olur ve enzimin laboratuvar tanısında bu özellik kullanılır. Sefalosporinler ve karbapenemleri hidrolize etmesine rağmen monobaktam grubu (aztreonam) üzerinde etkisi zayıftır (Walsh 2005).

Metal iyon bağımlı beta-laktamazlar 1960'lı yıllardan beri bilinen ve çalışılan bir grup olmakla beraber yakın zamana kadar *Bacillus cereus*, *Stenotrophomonas maltophilia*, *Aeromonas* spp. ve *Chryseobacterium* spp. gibi enfeksiyon etkeni olarak sık karşılaşılmayan bakterilerde gösterilmiştir (Kuwabara and Abraham 1967, Saino et al. 1982). Günümüzde ise MBL üreten Enterobacteriaceae suşlarıyla oluşan enfeksiyonlar, ciddi bir sağlık problemi haline gelmiştir. Çeşitli integron yapılarında lokalize olan bu genler, plazmid ya da transpozonla ilişkili olduğunda bakteriler arasında transferi kolaylaşmaktadır. Enterobacteriaceae suşlarında yaygın görülen MBL'ler, New Delhi MBL-1 (NDM-1), Verona integron-encoded MBL (VIM), Imipenemase (IMP) gibi enzimlerdir. IMP ve VIM, Japonya, Yunanistan ve Tayvan'da endemik olarak rapor edilirken NDM-1, vakaların çoğu Hindistan orjinli olmak üzere Pakistan, Birleşik Krallık, İtalya ve Umman'da çok sayıda rapor edilmiştir (Queenan and Bush 2007, Kumarasamy et al. 2010)

NDM-1, ülkemizde ilk olarak 2011'de yabancı uyruklu bir hastanın kan kültüründen izole edilmiştir (Poirel et al. 2012). Daha sonra NDM-1 enzimi ile ilgili salgın ve sporadik vakaların bildirimini artmıştır (Demir et al. 2015, Karabay et al. 2016). Yapılan sürveyans çalışmalarında da Türkiye'nin artık bölgesel yayılıma sahip olduğu raporlanmıştır (Albiger et al. 2015).

### 2.3.3. Sınıf D Karbapenemazlar (Oksasilinazlar)

Oksasilin ve kloksasilini hidrolize edebilen penisilinazlar olarak tanımlanmaktadır. Bu enzim grubunda karbapenemaz aktivitesi ilk olarak *Acinetobacter baumannii* suşunda tanımlanmıştır (Scaife et al. 1995). *Acinetobacter Resistant to Imipenem* (ARI-1) olarak adlandırılmış olan bu enzim, daha sonra sekans çalışmaları ile OXA grubuna ait olduğu tespit edilip OXA-23 olarak sınıflandırılmıştır (Donald et al. 2000). Enterobacteriaceae ailesinde karbapenemaz aktivitesi ön planda olan başlıca OXA tipi enzim OXA-48 enzimidir. OXA-48 geninin nokta mutasyonu ile oluşan ve benzer aktiviteye sahip diğer bir enzim de OXA-181 enzimidir (Castanheira et al. 2011). Daha sonra çok sayıda OXA-48 benzeri enzim tanımlanmıştır. Karbapenem hidroliz aktiviteleri kısmen zayıftır. EDTA ve klavulanik asit ile zayıf inhibisyon gösterirler (Nordmann et al. 2011). OXA-48 tipi karbapenemaz, ilk olarak 2001 yılında Türkiye’de bir hastanın klinik izolatından elde edilen *K. pneumoniae* suşunda bildirilmiştir (Poirel et al. 2004). Ülkemiz, süveyans çalışmalarında OXA-48 enzimi açısından endemik olarak raporlanmıştır. Ülkemizle beraber Yunanistan ve İtalya başta olmak üzere Fransa, Hollanda, İspanya gibi Avrupa ülkelerinde de bu enzim tipi sık görülmektedir (Albiger et al. 2015, Nordmann et al. 2011).

Çeşitli karbapenemaz ve beta-laktamaz enzimlerinin bir arada bulunması da direnç ve tedavi seçenekleri açısından endişe verici olmaktadır. OXA-48 ve NDM-1 enzimlerini birlikte üreten bazı suşlar raporlanmış olup bu direnç varyantlarının oluşması ve yayılması kaygı uyandırmıştır (Seiffert et al. 2014).

## 2.4. KARBAPENEMAZ ÜRETEN ENTEROBACTERIACEAE ENFEKSİYONLARINDA TEDAVİ SEÇENEKLERİ

Genel olarak etken bakterideki karbapenemaz varlığı, penisilinler, sefalosporinler ve monobaktam dahil olmak üzere çoğu beta-laktam antibiyotiğe direnç oluşturmaktadır. Tedaviyi daha da karmaşık hale getiren KÜE suşlarının sıklıkla, aminoglikozidler ve florokinolonlar gibi yapısal olarak ilişkili olmayan antimikrobiyal sınıflara karşı da direnç fenotipi göstermesidir (Bratu et al. 2005). Aynı zamanda aminoglikozid duyarlılık testi değişken olabilen; KPC enzimini ve aminoglikozid modifiye edici enzimi birlikte taşıyan suşlarda, aminoglikozidlerle



tedavi sırasında direnç ortaya çıkması tedavide bir diğer endişe kaynağını oluşturmaktadır (Anthony et al. 2008, Lee et al. 2009).

Büyüyen bir sorun olmasına rağmen KÜE enfeksiyonlarında en uygun tedavi seçimi konusunda net veriler bulunmamaktadır. KÜE enfeksiyonları için antimikrobiyal tedavi seçeneklerini değerlendiren randomize kontrollü çalışmalar henüz yeterli değildir. Bu nedenle, mevcut verilerin çoğu bir dizi doğal sınırlamaya sahip olgu sunumları, olgu serileri ve küçük retrospektif çalışmalardan elde edilmektedir (Paul et al. 2014, Tzouvelekis et al. 2014).

Şu anda KÜE enfeksiyonları için sınırlı tedavi seçenekleri mevcuttur. Klinisyenler, etkinlik ve/veya toksisite endişelerinden dolayı sık kullanılmayan ya da nadiren kullanılmış polimiksinler, fosfomisin ve aminoglikozidler gibi ajanların kullanımlarını yeniden değerlendirmek zorunda kalmışlardır. Ek tedavi stratejileri ise dozlama rejimlerinin ve kombine tedavilerin optimizasyonunu içermektedir. Bu kapsamda sıkça başvuru alan önemli ajanlar yine karbapenemler başta olmak üzere polimiksinler, tigesiklin, fosfomisin ve aminoglikozid olmaktadır.

#### **2.4.1. Karbapenemler**

Karbapenemler, beta-laktam antibiyotik grubunda yer alan geniş spektrumlu antibiyotik grubudur. Penisilin bağlayan proteine yüksek afiniteleri sayesinde hücre duvar sentezini inhibe ederek etki gösterirler. Yüksek afiniteleri ve beta-laktamazlara dayanıklılıkları sayesinde mevcut beta-laktam antibiyotiklerden (penisilinler, sefalosporinler vb.) ve beta-laktam/beta-laktamaz inhibitörü (klasik inhibitörler: tazobaktam, klavulanat gibi) kombinasyonlarından daha geniş bir *in vitro* antimikrobiyal spektrum göstermektedir. Hem gram pozitif hem gram negatif bakterilere karşı güçlü bir antibiyotik grubudur (Papp-Wallace et al. 2011, Bassetti et al. 2009). Enterobacteriaceae suşlarının neden olduğu enfeksiyonların tedavisinde nihai beta-laktam ajan olduğundan GSBL, AmpC betalaktamaz üreten ve ÇİD bakterilere karşı sıkça kullanılmaktadır (Viale et al. 2015, Harris et al. 2016). KÜE suşlarında da alternatif ve optimal tedavi seçenekleri yeterli olmadığından monoterapide ve kombine terapilerde sıkça denenmektedir (Daikos and Markogiannakis 2011, Tumbarello et al. 2012).

Farmakokinetik veriler, karbapenem MİK değerleri nispeten düşük olduğunda (<4 µg/mL) hatta orta derecede yüksek olduğunda (8–16 µg / mL) bile yüksek doz, uzun süreli infüzyonla hedef MİK değerlerine ulaşıldığını göstermektedir. Roberts ve ark'nın yaptığı dozlama simülasyonları, yüksek doz meropenemin (6000 mg / gün) uzun süreli (4 saatten fazla) / sürekli infüzyon ile uygulandığında 8–16 µg / mL'lik bir MİK hedefine ulaşma olasılığının yüksek olduğunu göstermiştir (Roberts et al. 2009). Bir diğer çalışmada 4 µg/mL MİK hedefi için 1000 mg'lık meropenem tedavisinde uzun süreli infüzyon %93 başarılı iken geleneksel infüzyon süresinde (30 dk) bu değer %69 olarak saptanmıştır (Kuti et al. 2003). Farmakokinetik veriler olumlu görünse de KÜE enfeksiyonlarının tedavisinde monoterapide karbapenem etkinliğini değerlendiren sınırlı klinik veriler mevcuttur. Çeşitli çalışmalardan derlenmiş verilerin değerlendirildiği bir çalışmada 44 hastada Karbapenemaz üreten *K. pneumoniae* suşlarından kaynaklanan enfeksiyonların tedavisinde karbapenem monoterapisinin etkinliğinin MİK değerine bağlı olarak değiştiği saptanmıştır (Tumbarello et al. 2012). Bu çalışmada karbapenemlerin etkinlikleri, değişen MİK değerlerine göre %69 (MIC≤4 µg / mL), %60 (MIC 8 µg / mL), %29 (MIC> 8 µg / mL) olarak saptanmıştır.

Yakın zamanda yapılan bir derlemede, karbapenem monoterapisi ile ilişkili mortalite oranı kabul edilemez derecede yüksek (%40.1) denmiştir (Tzouveleakis et al. 2014). Birkaç retrospektif çalışmada da yine kombinasyon terapilerinin monoterapiye oranla daha düşük mortaliteye sahip olduğu vurgulanmıştır (Giamarellou et al. 2013, Daikos et al. 2014). Bu çalışmalarda kombinasyon tedavilerinde karbapenemlerin etkili olabileceği, aynı zamanda karbapenem içeren kombine terapilerde, karbapenem içermeyen kombinasyonlara oranla mortalitenin daha düşük olduğu bildirilmiştir. Bir diğer deneysel tedavi kombinasyonu da iki farklı karbapenemin kombine (dual-karbapenem) kullanımınıdır. Bu çalışmalar karbapenemaz enziminin afinitesinin bir karbapeneme daha fazla olması ve diğer karbapenemin de bu enzimden dolayısıyla az etkilenip etkinlik göstermesi teorisine dayanmaktadır. Bununla ilgili sınırlı vaka sunumları mevcuttur (Giamarellou et al. 2013).

#### 2.4.2. Polimiksinler

Kolistin (polimiksin E) ve polimiksin B *in vitro* çalışmalarda gram negatif bakterilerin çoğunda ve KÜE suşlarının önemli bir kısmında etkili olan ajanlardır (Gales et al. (2011). Polimiksinler, katyonik lipopeptitler olup, gram negatif bakterilerin dış zarına bağlanırlar ve hücre geçirgenliğini değiştirirerek hızla bakterisidal etki gösterirler (Nicas and Hancock, 1983, Falagas and Kasiakou, 2005). Polimiksin B'nin kolistine göre çeşitli potansiyel avantajları vardır. Bu avantajların birçoğu kolistinin, kolistimetat (CMS) yani inaktif ön ilaç olarak, polimiksin B' nin ise aktif ilaç olarak uygulanmasına dayanır. CMS'nin küçük bir kısmı yavaş bir dönüşümle kolistine dönüştürülür ve maksimum konsantrasyona uygulamadan yaklaşık  $\geq 7$  saat sonra ulaşılır. Aktif ajan olan polimiksin B ise daha düşük dozda uygulanmasına rağmen kolistine göre daha yüksek tepe serum konsantrasyonlarına daha hızlı ulaşır (Garonzik et al. 2011, Sandri et al. 2013).

Ön ilaç olan CMS'nin çoğu renal klirens uğradığından kolistin için renal doz ayarlamaları gerekliken polimiksin B için gerekli gözükmemektedir. Yine de literatürde renal ayarlamadan bağımsız dozlarda polimiksin B' nin güvenliği açık değildir. Renal toksisite için dezavantaj olarak görünen CMS'nin renal klerensi, aynı zamanda idrarda daha yüksek aktif ilaç konsantrasyonu sağladığı için polimiksin B'ye göre üriner sistem enfeksiyonlarında avantaj sağlar (Garonzik et al. 2011, Bergen et al. 2012, Sandri et al. 2013). Yine de nefrotoksisite, tedavide hala en çok endişe edilen durum olmaya devam etmekte çünkü polimiksinlerle tedavi edilen hastaların  $\geq 40$ 'ında nefrotoksisite görülebilmektedir (Akajagbor et al. 2013). Toksisitelerine rağmen KÜE suşlarında *in vitro* etkinlikleri yüksek olduğundan ve alternatif tedavilerin kısıtlı olmasından dolayı monoterapi ve kombinasyon terapilerinde sıkça kullanılmaktadır. KÜE suşlarının *in vitro* etkinlik çalışmalarında genellikle dikkate değer oranda duyarlılık yüksek bulunmuştur. Çalışmalarda kolistin duyarlılıkları farklılık göstermekle beraber genellikle %57-95 oranında saptanmıştır (Souli et al. 2009, Livermore et al. 2011, Ozbek B ve ark. 2015).

Karbapenem dirençli Enterobacteriaceae suşların tedavisinde kolistinle ilgili çalışmalardan bir kısmı da kolistin monoterapisi ile kolistinli kombine terapilerin karşılaştırılması üzerinedir. Kombine tedavilerin daha başarılı bulunduğu çalışmalar

olsa da bu çalışmalar, geniş randomize-kontrollü olmayan sınırlı çalışmalar olduğundan araştırmalar devam etmektedir (Hirsch and Tam, 2010, Zavascki et al. 2013, Balkan ve ark. 2014). Yine kolistinin monoterapide kullanımı heterorezistan suşların varlığında tedavi sırasında direnç gelişimine neden olabileceğinden bazı çalışmalar kombinasyon tedavisinin daha faydalı olabileceğini bildirmişlerdir (Petrosillo et al. 2008, Salameh et al. 2018).

### 2.4.3. Tigesiklin

Tetrasiklin grubu bir antibiyotik olan tigesiklin, glisilsiklin yapısında, geniş spektrumlu bir antibiyotiktir. Bakteri ribozomunun 30S alt ünitesine bağlanarak tRNA'nın mRNA-ribozom kompleksine erişimini engelleyip, protein sentezini durdurarak etki eden bakteriyostatik ajanlar arasında yer alır (Kaewpoowat and Ostrosky-Zeichner, 2015). KÜE suşları karşısında *in vitro* aktivitesi fazla olsa da tigesiklin direncinin de arttığı çalışmalarda bildirilmiştir (Livermore et al. 2011, Daikos et al. 2012, Sader et al. 2014). Ayrıca, sadece intraabdominal ve komplike deri ve yumuşak doku enfeksiyonlarda kullanım için lisanslıdır. Lisans dışında kullanımla ilgili çalışmalarda başarısızlıkları (örn: ventilatör ilişkili pnömonide imipeneme göre etkisiz olması) endikasyon dışı kullanıma karşı bir engel oluşturmaktadır (Freire et al. 2010). Tigesiklin, büyük bir kısmı biliyer sekresyonla elimine edildiği için düşük idrar düzeylerine sahiptir ve üriner sistem enfeksiyonları için de uygun görünmemektedir (Livermore et al. 2011). Antibiyotik duyarlılık sonuçlarının aksine sınırlı klinik çalışmalarda, karbapenem dirençli suşlarla gelişen ciddi enfeksiyoklarda tigesiklinin tek başına kullanımının mortalite üzerine olumsuz etkisi olduğu belirtilmiştir (Tumbarello et al. 2012, Daikos et al. 2014). Kombine terapilerde ise bazı olumlu sonuçlar alınmıştır. Yoğun bakımda KPC üreten suşlarla gelişen enfeksiyonların tedavisinde tigesiklin ile gentamisin ya da kolistin kombinasyonunun 26 hastanın 24'ünde (%92) aktif olduğu bildirilmiştir (Sbrana et al. 2013). Bir diğer çalışmada ise kombinasyonlardaki tigesiklin dozunun yüksek olmasının tedavi başarı açısından olumlu olabileceği bildirilmiştir. Bu çalışmada komplike intraabdominal enfeksiyonlu hastalarda, tigesiklin/kolistin kombinasyonundaki yüksek tigesiklin dozunun normal doza oranla düşük mortalite ile ilişkili olduğu saptanmıştır (Di Carlo et al. 2013).

#### 2.4.4. Fosfomisin

Fosfomisin, bir fosfoenolpiruvat analogu olup antimikrobiyal ve bakterisidal özelliklere sahip sentetik geniş spektrumlu bir antibiyotiktir. Enolpiruvat transferaz enzimini bağlar ve inaktive eder. Böylece hücre duvar sentezinin ilk basamaklarından birinin inhibisyonu sonucu hücre lizisine ve bakteri ölümüne neden olarak etkili olur (<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/446987#section=Top> Erişim tarihi: 09.10.2018). Fosfomisin yüksek oranda idrarla atılır ve idarda uzun süre etkin konsantrasyonlarda atılmaya devam eder (3 g'lık tek dozdan sonra >4000 µg/mL'lik üriner konsantrasyona ulaşır ve 72 saate kadar etkin MİK değerlerinde idrarla atılmaya devam eder (Popovic et al. 2010). Bu farmokolojik özelliği nedeniyle de üriner sistem enfeksiyonlarında sıkça kullanılmaktadır. KÜE suşlarında oral fosfomisinin tedavide başarılı olduğu vaka takdimleri de mevcuttur (Kitchel et al. 2009, Peirano et al 2011). Avrupa'da ve ülkemizde intravenöz formu bulunan fosfomisinin sistemik enfeksiyonlarda kullanımı ile ilgili sınırlı çalışmalar mevcuttur (Morrill et al. 2015). KPC üreten *K. Pneumoniae* bakteriyemisi ile ilgili üç vakadan oluşan bir raporda, intravenöz fosfomisinin "son çare" ek tedavi olarak kullanıldığı, başlangıçta enfeksiyonların kontrolü sağlansa da üç hastanın da tedavisinin nüks ve direnç gelişimi nedeniyle başarısız olduğu bildirilmiştir (Karageorgopoulos et al. 2012). Dolayısıyla tedavi sırasında direnç gelişimi de monoterapide intravenöz fosfomisinin kullanımını sınırlamaktadır. Bu ilacın kombine tedavilerdeki kullanımı hakkında literatürde yeterli veri bulunmamaktadır.

#### 2.4.5. Aminoglikozidler

Aminoglikozidler, geniş spektrumlu antibiyotik grubudur. Bakteriyel 30S ribozomal alt üniteye geri dönüşümsüz olarak bağlanırlar. Böylece protein sentezi engellenir ve bakterisit etki ile sonuçlanır. Gram negatif bakterilerde etkinliğinin iyi olması nedeniyle ciddi enfeksiyonların kısa süreli tedavisinde kullanılmalarına rağmen nefrotoksisite ve ototoksisiteye neden oldukları için tedavide sınırlayıcı özelliklere sahiptirler (Avent et al. 2011). Monoterapi olarak aminoglikozidlerin KÜE enfeksiyonlarında kullanımına ilişkin veriler sınırlıdır ve aminoglikozid monoterapisi üriner sistem enfeksiyonlarında daha etkin gibi görünmektedir (Satlin et al. 2011, Tzouveleakis et al. 2014). Karbapenem dirençli *K. pneumoniae* bakteriyemisi vakalarının

bir retrospektif kohort çalışmasında *in vitro* duyarlı olan aminoglikozidle yapılan tedavi, polimiksin B veya tigesiklin ile karşılaştırıldığında anlamlı derecede yüksek mikrobiyolojik klirens oranı ile ilişkili bulunmuştur (Satlin et al. 2011). Aminoglikozid kombine terapileri ile monoterapi arasında tedavi başarısızlığı açısından anlamlı bir fark olmadığını, dolaşım sistemi enfeksiyonlarında başarısız olduğunu bildiren çalışmalar mevcuttur (Lee and Burgess, 2012). Bir derlemede ise 20 klinik çalışma incelenmiş, aminoglikozidlerle karbapenemlerin kombinasyonunun daha düşük mortaliteye sahip olduğu bildirilmiştir (Tzouvelekis et al. 2014).

#### **2.4.6. Kombinasyon Tedavileri**

Kombinasyon tedavisinin, başarısız ampirik antimikrobiyal tedavi olasılığını azalttığı düşünülmektedir. Aynı zamanda bakterinin baskılanması sonucu tedavi sırasında gelişebilecek direnç önlemleri, tedavideki antibiyotiğe heterorezistan suşlarda dirençli populasyonun seçim ve çoğalmasını önlemleri, kombinasyondaki ajanların potansiyel sinerjik etkileri de kombinasyon terapilerinin denenmesi için motive edici nedenler arasındadır (Zavascki et al. 2013, Petrosillo et al. 2013). Ancak kombinasyon tedavilerinde, *Clostridium difficile* enfeksiyonu, toksisite, diğer dirençli bakterilerle kolonizasyon-enfeksiyon yönünden daha fazla risk potansiyeli gibi olumsuz etkiler de mevcuttur (Petrosillo et al. 2013, Paul et al. 2014). Bu nedenle klinisyen, enfeksiyon hastalıkları uzmanı ve mikrobiyoloji uzmanı iş birliği ile hastanın kliniğine ve fayda-zarar oranına göre uygun bir tedavi rejiminin belirlenmesi gereklidir.

Karbapenem dirençli suşlarla enfekte hastaların değerlendirildiği kapsamlı bir derlemede, 2 veya daha fazla *in vitro* duyarlı ajanla kombinasyon tedavisi (%27.4), tek bir *in vitro* duyarlı ajanla tedaviye (%38.7) oranla daha düşük mortalite ile ilişkili bulunmuştur. Aynı derlemede, *in vitro* duyarlı olmayan ajanlarla kombinasyon ile monoterapi arasında mortalite oranı açısından anlamlı farkın olmadığı bildirilmiştir (Tzouvelekis et al. 2014). Kombine tedavi ile monoterapiyi kıyaslayan diğer bir kısım çalışmalarda da kombine terapilerin daha düşük mortalite ilişkili olduğu vurgulanmıştır (Zarkotou et al. 2011, Qureshi et al. 2012, Daikos et al. 2014).

KÜE ile enfekte olmuş hastaların tedavisinde sıkça denenen ve etkili bulunan bazı kombinasyonlar arasında kolistin ile tigesiklin, karbapenem ile kolistin, karbapenem ile fosfomisin, aminoglikozid ile fosfomisin ve karbapenem ile aminoglikozid gibi ajan ve kombinasyonlar yer almaktadır. Morrill ve ark.'ları (2015), yayınladıkları bir derlemede, literatürdeki bu kısıtlı yayınlardan yola çıkarak KÜE enfeksiyonlarının olası bir tedavi algoritmasından bahsetmektedirler. Enfeksiyon bölgesine göre tedavinin çekirdeğini oluşturan temel ajan ve olası adjuvan ajanlara yer verdikleri derlemede temel ajanlar arasında; dolaşım ve solunum sistemi enfeksiyonlarında meropenem, doripenem, polimiksin B/kolistin, bunlara ilaveten üriner sistem enfeksiyonlarında fosfomisin ve intraabdominal enfeksiyonlarda tigesiklin yer almaktadır. Temel ajanlara ek olarak kullanılan ilaçlar arasında ise aminoglikozidler, rifampin, fosfomisin, tigesiklin ve kolistin yer almaktadır (Morrill et al. 2015).

#### **2.4.7. Beta-laktamaz İnhibitörleri**

Beta-laktam antibiyotiklere karşı başlıca direnç mekanizması olan beta-laktamaz üretimi, bu enzimin inhibitörlerinin kullanılmasını beraberinde getirmiştir. Sık kullanılan klasik beta-laktamaz inhibitörleri, klavulanat, tazobaktam ve sulbaktam gibi inhibitörlerdir. Amoksisilin/klavulanat, tikarsilin/klavulanat, ampisilin/sulbaktam, pipersilin/tazobaktam gibi beta-laktam/beta-laktamaz inhibitörleri kombinasyonlarında kullanılmışlardır. Kullanımlarından kısa bir süre sonra bu inhibitörlere karşı dirençli TEM-1, AmpC, metallo-beta-laktamazlar, gibi enzimlerin varlığı bildirilmiştir. Yine KPC gibi sınıf A karbapenemazlar da bu klasik inhibitörlere dirençli olarak saptanmıştır. Bu yüzden yeni inhibitör geliştirme çalışmaları devam etmektedir. Bu kapsamda monobaktam deriveleri, penem yapıları, non-beta-laktam yapısında tiyol ve boronik asit deriveleri gibi birçok molekül üzerinde çalışmalar sürmektedir (Drawz and Bonomo 2010). Klinik faz çalışmaları aşamasında olan non-beta-laktam yapısında olan avibaktam da bu çalışmaların ürünü olarak ortaya çıkmış ve seftazidim/avibaktam kombinasyonu olarak klinik kullanımda yer almıştır. Avibaktam, metallo-beta-laktamazlar dışındaki KPC, OXA-48 gibi karbapenemazlara ve GSBL enzimlerine karşı etkili olabilmektedir (Biedenbach et al. 2015).

#### 2.4.8. Gelişen Tedaviler

Yukarıda da bahsedildiği gibi etkin ajanların azlığı, toksisite, endikasyon sorunları ve direnç gelişimi nedeniyle yeni seçeneklerle ilgili araştırmalar devam etmektedir. Yakın zamanda seftazidim/avibaktam, beta-laktam/beta-laktamaz inhibitörü kombinasyonu olarak kullanıma girmiştir. Avibaktam, non-beta-laktam yapısında, yeni bir beta-laktamaz inhibitörüdür. Klasik beta-laktamazlardan daha geniş aktivite spektrumuna sahiptirler ve Ambler Sınıf A, sınıf C ve bazı sınıf D enzimlerine karşı aktivitesi olan inhibitördür. Ancak metallo-beta-laktamazlara etkili değildir (Ehmann et al. 2012, Castanheira et al. 2014). *In vitro* çalışmalar, avibaktamla kombine edildiği takdirde üçüncü kuşak sefalosporin olan seftazidimin, birçok GSBL, AmpC, KPC ve OXA-48 üreten Enterobacteriaceae ve çoklu ilaca dirençli *Pseudomonas aeruginosa* suşlarına karşı etkili olabileceğini göstermiştir (Castanheira et al. 2014, Berkhout et al. 2015, Levasseur et al. 2015). Seftazidim-avibaktam, AB'de ve ABD'de yetişkinlerde piyelonefrit dahil olmak üzere komplike idrar yolu enfeksiyonu, komplike intraabdominal enfeksiyon, hastane kaynaklı pnömoni, ventilatör ilişkili pnömonilerde gram-negatif mikroorganizmalar için onay almıştır ([https://www.ema.europa.eu/documents/product-information/zavicefta-epar-product-information\\_en.pdf](https://www.ema.europa.eu/documents/product-information/zavicefta-epar-product-information_en.pdf) Erişim tarihi: 10.10.2018), (US Food and Drug Administration. [https://www.accessdata.fda.gov/drugsatfda\\_docs/label/2018/206494s0041bl.pdf](https://www.accessdata.fda.gov/drugsatfda_docs/label/2018/206494s0041bl.pdf) Erişim tarihi: 10.10.2018). Global bir surveyans programı kapsamında 40 ülkeden toplanan klinik örneklerden izole edilen suşlarda yapılan çalışmada seftazidim/avibaktam, Enterobacteriaceae suşlarının (karbapenem duyarlı ve dirençli suşlar dahil edilmiştir) %99.5'inde etkili bulunmuştur (Karlowsky et al. 2016). Ayrıca, meropenem duyarlı olmayan Enterobacteriaceae izolatlarının da %83.5'inde seftazidim/avibaktam etkin bulunmuştur. Bu çalışmada incelenen 34.062 suştan 185'i (%0.5) seftazidim/avibaktam dirençli bulunurken bu 185 suşun çoğu (%77.8) metallo-beta-laktamaz pozitif olarak saptanmıştır. Avibaktamla kombinasyonu çalışılan bir diğer antibiyotik, monobaktam grubuna ait olan aztreonamdır. Aztreonamın bir avantajı MBL tipi karbapenemazlara karşı dayanıklı olmasıdır. Dolayısıyla aztreonam/avibaktam kombinasyonu, seftazidim/avibaktam kombinasyonunun başarısız olduğu MBL üreten suşlarda alternatif olma potansiyeline sahiptir. Yakın zamanda yapılan bir çalışmada avibaktam, MBL'yi de



içeren dual karbapenemaz üreten suşların %95'inde aztreonamın etkinliğini sağlamıştır (Chew et al. 2018).

Faz çalışmaları devam eden diğer bir beta-laktamaz inhibitörü olan vaborbaktam ise aktif molekül olarak boronik asit içermektedir. KPC enziminin spesifik inhibitörü olan bu molekül sayesinde meropenem/vaborbaktam kombinasyonu, KPC üreten Enterobacteriaceae suşlarına karşı etkili olmaktadır (Hecker et al. 2015).

KÜE enfeksiyonlarında tedavi arayışları arasında Ceftaroline/avibactam, plazomisin, eravasiklin gibi alternatif ajanlar da yer almaktadır. OXA-48 ve KPC enzimlerine etkili bu ajanların NDM-1 gibi metallo-beta-laktamazlara etkileri sınırlı olarak bildirilmiştir ve çalışmalar devam etmektedir (Morrill et al. 2015).

## 3. MATERYAL VE METOD

### 3.1. ETİK KURUL ONAYI

Çalışmamızın etik kurul onayı; Sakarya Üniversitesi Tıp Fakültesi Girişimsel Olmayan Etik Kurulu'ndan, 02.10.2017 tarihli imza ile alınmıştır (Ek 1).

### 3.2. SUŞLARIN SEÇİLİMİ

#### 3.2.1. İdentifikasyon ve Antibiyogram

Çalışmamızda; Sakarya Üniversitesi Eğitim ve Araştırma Hastanesi Tıbbi Mikrobiyoloji Laboratuvarı kültür koleksiyonuna ait olan, rektal taramalardan ve çeşitli klinik örneklerden izole edilmiş Enterobacteriaceae ailesine ait karbapenem dirençli *K. pneumoniae* suşları kullanıldı. Bu suşlarla ilgili bazı veriler Tablo 1'de sunulmuştur. Suşların identifikasyon ve antibiyotik duyarlılık çalışmaları VITEK 2® (bioMerieux, Fransa) otomatize sistemi ile yapıldı. Karbapenem dirençli olup karbapenemaz üretimi saptanan ve aynı zamanda yaygın ilaç dirençli olan 38 suş çalışmaya dahil edildi. Antibiyotik duyarlılık sonuçlarına göre karbapenem dirençli olan suşlarda karbapenemaz üretimi, fenotipik bir yöntem olan Modifiye Hodge Testi ile belirlendi ve moleküler yöntem olan real-time Polymerase Chain Reaction (PCR) ile doğrulaması yapıldı. Çalışmadaki antibiyotiklerden aztreonam, avibaktam, kolistin ve apramisinin etkinliği broth mikrodilüsyon yöntemi ile saptanırken, sinerjik etkileşimlerin olup olmadığı checkerboard yöntemi ile belirlendi. Seftolozan/tazobaktam kombinasyonunun etkinliği ise gradiyent strip test (Liofilchem®, İtalya) ile belirlendi.

**Tablo 1.** Çalışmada kullanılan suşların ve örneklerin bazı özellikleri

Suş no:	Örnek türü	Hastanın Kliniği	Enzim tipi
1	Kan Kültürü	Yoğun bakım	OXA-48
2	Kan Kültürü	Yoğun bakım	NDM-1
3	Kan Kültürü	Yoğun bakım	NDM-1
4	Rektal sürüntü	Yoğun bakım	NDM-1 + OXA-48
5	Rektal sürüntü	Yoğun bakım	NDM-1
6	Kan Kültürü	Yoğun bakım	NDM-1 + OXA-48
7	Rektal sürüntü	Yoğun bakım	NDM-1
8	Rektal sürüntü	Yoğun bakım	NDM-1
9	Kan Kültürü	Yoğun bakım	KPC
10	Rektal sürüntü	Yoğun bakım	NDM-1 + OXA-48
11	Rektal sürüntü	Yoğun bakım	NDM-1
12	Kan Kültürü	Enfeksiyon Hastalıkları	OXA-48
13	Yara Kültürü	Dahiliye	OXA-48
14	İdrar Kültürü	Yoğun bakım	NDM-1
15	Yara Kültürü	Yoğun bakım	NDM-1
16	İdrar Kültürü	Dahiliye	NDM-1
17	Trakeal Aspirasyon	Yoğun bakım	OXA-48
18	Trakeal Aspirasyon	Yoğun bakım	NDM-1
19	Kan Kültürü	Yoğun bakım	NDM-1
20	Yara Kültürü	Cerrahi	NDM-1
21	Rektal sürüntü	Yoğun bakım	NDM-1 + OXA-48
22	Kan Kültürü	Çocuk hastalıkları	OXA-48
23	İdrar Kültürü	Cerrahi	OXA-48
24	İdrar Kültürü	Dahiliye	NDM-1
25	Rektal sürüntü	Yoğun bakım	OXA-48
26	Rektal sürüntü	Yoğun bakım	KPC
27	Yara Kültürü	Enfeksiyon Hastalıkları	OXA-48
28	Kan Kültürü	Yoğun bakım	OXA-48
29	Rektal sürüntü	Yoğun bakım	OXA-48
30	Rektal sürüntü	Yoğun bakım	OXA-48
31	Rektal sürüntü	Yoğun bakım	OXA-48
32	Rektal sürüntü	Yoğun bakım	KPC
33	Rektal sürüntü	Yoğun bakım	KPC
34	Rektal sürüntü	Yoğun bakım	KPC
35	Rektal sürüntü	Yoğun bakım	KPC
36	Rektal sürüntü	Yoğun bakım	KPC
37	Rektal sürüntü	Yoğun bakım	KPC
38	Rektal sürüntü	Yoğun bakım	KPC

**Tablo 2.** Karbapenemaz türüne göre suşların sayısal dağılımı

KARBAPENEMAZ ENZİM TİPİ	SUŞ SAYISI
OXA-48	12
KPC	9
NDM-1	13
NDM+OXA-48	4
<b>TOPLAM</b>	<b>38</b>

**Tablo 3.** Suşların VITEK 2® otomatize sisteme göre antibiyotik duyarlılık durumları

SUŞ NO	IPM	MEM	ERT	CS	AMI	GEN	CAZ	FEP	FOX	CRO	CIP	TZP	AMC	SXT
1	S	R	R	R	S	R	R	R	R	R	R	R	R	R
2	R	R	R	S	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R
3	R	R	R	S	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R
4	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	S
5	R	R	R	S	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R
6	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R
7	R	R	R	S	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R
8	R	R	R	S	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R
9	R	R	R	R	S	S	R	R	R	R	R	R	R	R
10	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R
11	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R
12	R	R	R	S	S	R	R	R	R	R	R	R	R	R
13	R	S	R	S	S	S	R	R	R	R	R	R	R	R
14	S	S	R	S	S	R	R	R	-	R	R	R	R	R
15	R	R	R	S	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R
16	R	R	R	S	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R
17	R	R	R	R	S	R	R	R	R	R	R	R	R	R
18	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R
19	R	R	R	S	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R
20	R	R	R	S	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R
21	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R
22	R	R	R	S	S	R	R	R	R	R	S	R	R	S
23	I	S	R	S	S	R	R	R	S	R	S	R	R	S
24	R	R	R	S	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R
25	I	R	R	S	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R
26	R	R	R	R	S	S	R	R	R	R	R	R	R	R
27	I	R	R	R	R	S	R	R	R	R	R	R	R	S
28	S	R	R	R	S	R	R	R	R	R	R	R	R	R
29	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R
30	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R
31	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R
32	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R
33	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	S
34	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	S
35	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R
36	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	S
37	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	S
38	I	R	R	R	S	R	R	R	R	R	R	R	R	R

**IPM:** İmipenem, **MEM:** Meropenem, **ERT:** Ertapenem, **CS:** Kolistin, **AMI:** Amikasin **GEN:** Gentamisin, **CAZ:** Seftazidim, **FEP:** Sefepim, **FOX:** Sefoksitin, **CRO:** Seftriakson, **CIP:** Siprofloksasin, **TZP:** Piperasilin/tazobaktam, **AMC:** Amoksisilin/Klavulanat, **SXT:** Trimetoprim/sülfametaksazol, **R:** Dirençli, **I:** Orta duyarlı, **S:** Duyarlı

### 3.2.2. Karbapenemaz Üretiminin Saptanması

#### 3.2.2.1. Modifiye Hodge Testi

Modifiye Hodge testi (MHT), karbapenemaz saptanmasında kullanılan fenotipik bir yöntemdir. Test süresinin uzun olmasına (16-20 saat) ve sonuç değerlendirmesinin yoruma açık olmasına rağmen ulaşılabilir ve laboratuvara fazla maliyet getirmeyen bir test olduğundan sıkça kullanılan bir yöntemdir. Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) kılavuzunda tarif edildiği gibi testte, Mueller Hinton agar besiyeri, meropenem 10 µg diski (Oxoid®, Thermo Scientific, ABD) kullanıldı. *Escherichia coli* (*E. coli*) ATCC 25922 standart suşu indikatör olarak kullanıldı. Test değerlendirmesinde karbapenemaz üreten suşların, karbapenemaz aktivitesine bağlı olarak meropenemin etkinliğini inhibe etmelerinden dolayı meropeneme duyarlı indikatör suş olan *E.coli* ATCC 25922 suşunun inhibisyon zonu, test suşunun olduğu bölgede yonca yaprağı formasyonu gösterdi ve test pozitif olarak kabul edildi. İnhibisyon zonunda değişiklik göstermeyen suşlar ise negatif olarak değerlendirildi (CLSI M100.S24. 2014).

#### 3.2.2.2. Real-time PCR

Moleküler bir yöntem olan real-time, multipleks PCR Xpert® Carba-R kiti sık rastlanan karbapenemaz genlerini (*bla*<sub>KPC</sub>, *bla*<sub>NDM</sub>, *bla*<sub>VIM</sub>, *bla*<sub>OXA-48</sub>, and *bla*<sub>IMP</sub>) kısa sürede (~50 dk) başarılı olarak saptayabilmektedir (Lee et al. 2016). Bu çalışmada da MHT sonucu pozitif olan suşların enzim tipleri, firma önerisi doğrultusunda çalışılarak saptandı. Çalışmamızda incelenen suşların enzim tipleri ve sayısal dağılımları dağılımı Tablo 1 ve Tablo 2’de gösterilmiştir.

### 3.3. ANTİBİYOTİK DUYARLILIK TESTLERİ VE SİNERJİ ÇALIŞMASI

Suşlar ilk izole edilme aşamasında antibiyotik duyarlılık testleri VITEK 2® otomatize sistemle (BioMerieux, Fransa) çalışılmıştır. Suşların antibiyogram sonuçları Tablo 3’te sunulmuştur. Çalışma kapsamında etkinliği denenecek antibiyotiklerin duyarlılık testleri broth mikrodilüsyon (BMD) yöntemi ile sinerji çalışmaları ise Checkerboard yöntemi ile yapıldı. İlk önce apramisin, kolistin, aztreonam, avibaktam için ayrı ayrı MİK değerleri BMD yöntemi ile belirlendi. Daha sonra apramisin/kolistin ve aztreonam+avibaktam kombinasyonların etkinlik ve sinerji çalışması Checkerboard

yöntemi ile yapıldı. Bir diğer kombinasyon olan seftolozan/tazobaktam kombinasyonu ise kombine seftolozan/tazobaktam gradiyentli strip test ile çalışıldı.

### **3.3.1. Broth mikrodilüsyon ile antibiyotik duyarlılık testi**

Çalışılacak antibiyotikler olan kolistin, apramisin, aztreonam, avibaktam toz halde (Cayman Chemical, Michigan, ABD) temin edildi. Antibiyotikler için çözücü olarak ve mikrodilüsyon için CLSI mikrodilüsyon prosedürüne uygun olarak Mueller Hinton Broth (Becton Dickinson, New Jersey, ABD) besiyeri hazırlandı ve kullanıldı (CLSI M07-A10. 2015). Antibiyotikler için BMD kalite kontrol suşu olarak *E.coli* ATCC 25922 kullanıldı.

Denenecek antibiyotik konsantrasyonları CLSI ve European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing (EUCAST) klinik sınır değerlerini kapsayacak şekilde seçildi (CLSI M100 ED28. 2018, EUCAST 2018). Avibaktamın tek başına etkinliği ve kullanımı olmadığı için ayrı bir sınır değeri mevcut olmadığından yine EUCAST kılavuzunda yer alan seftazidim/avibaktam kombinasyonundaki avibaktam değeri (4 µg/ml) dikkate alındı. Apramisin için insanlarda ve *Klebsiella* türlerinde klinik sınır değerleri bu kılavuzlarda yer almadığı için CDC'nin Ulusal Antibiyotik Direnç İzleme Sistemi raporunda *E. coli* için yer alan sınır değerleri kullanıldı (National Antibiotic Resistance Monitoring System-NARMS Working Group. Annual report. 2001). (<http://www.cdc.gov/narms/annual/2001/2001.pdf> Erişim tarihi: 10.10.2018). Antibiyotikler için kullanılan sınır değerler Tablo 4'te, test edilen MİK aralıkları Tablo 5'te sunulmuştur.

Steril pleytlerin ilk iki sütunundaki kuyucuklara, üreme kontrolü için antibiyotiksiz ve sterilit kontrolü için bakteri içermeyen besiyerleri konuldu. Diğer kuyucuklarda antibiyotik solüsyonlarının ½' lik seri dilüsyonları hazırlandı. Daha sonra fotometrik yöntemle (Densicheck plus, Biomerieux, Fransa) 0,5 McFarland bulanıklığında hazırlanan bakteri solüsyonu, kuyucuktaki son konsantrasyonu  $5 \times 10^5$  CFU/mL olacak şekilde dilüe edildi ve kuyucuklara eklendi. İnkübasyon sonunda (35-37 °C de 16-20 saat) gözle bulanıklığın yani üremenin görülmediği en düşük antibiyotik konsantrasyonu, minimum inhibitör konsantrasyonu (MİK) olarak saptandı (CLSI M07-A10. 2015).

**Tablo 4.** Çalışmada kullanılan antibiyotiklerin sınır MİK değerleri (µg/ml)

Kılavuz	Antibiyotik	Dirençli	Orta duyarlı*	Duyarlı
EUCAST	Aztreonam	>4	2	≤1
CLSI	Aztreonam	≥16	8	≤4
EUCAST	Kolistin	>2	-	≤2
CLSI	Kolistin	≥4**	-	≤2**
EUCAST	Seftolozan/tazobaktam	>1	-	≤1
CLSI	Seftolozan/tazobaktam	≥8	4	≤2
NARMS	Apramisin	≥ 64	32-16	≤8

**Kılavuzlar:** EUCAST, Clinical breakpoints-bacteria (v 8.1). CLSI, M100 ED28, National Antibiotic Resistance Monitoring System (NARMS) Working Group. Annual report. (2001).

\*: Orta duyarlılık kategorisi, EUCAST kılavuzunda 'artmış dozda duyarlı' olarak tanımlanmaktadır.

\*\* : Klinik sınır değeri olmayıp wild tip, non-wild tip ayrımı için CLSI tarafından yayınlanan epidemiyolojik değerler

**Tablo 5.** Suşların broth mikrodilüsyon MİK değerleri, gradiyentli strip test MİK değerleri (Seftolozan/tazobaktam) ve duyarlılık yorumları

Suş no	Kolistin (32-0,063 µg/ml)	Sonuç	Apramisin (512 -1 µg/ml)	Sonuç	Aztreonam (64-0,125 µg/ml)	Sonuç	Avibaktam* (64-0,125 µg/ml)	Sonuç	Seftolozan/tazobaktam** (256-0.016 µg/mL)	Sonuç
1	32	R	4	S	>64	R	>64	-	>256	R
2	0.25	S	2	S	>64	R	>64	-	>256	R
3	1	S	4	S	>64	R	>64	-	>256	R
4	32	R	4	S	>64	R	>64	-	>256	R
5	1	S	4	S	>64	R	32	-	>256	R
6	16	R	4	S	>64	R	>64	-	>256	R
7	>32	R	4	S	>64	R	>64	-	>256	R
8	0.5	S	512	R	>64	R	>64	-	>256	R
9	0.125	S	2	S	>64	R	>64	-	>256	R
10	0,5	S	4	S	>64	R	>64	-	>256	R
11	>32	R	2	S	>64	R	>64	-	>256	R
12	0.25	S	2	S	>64	R	>64	-	>256	R
13	4	R	2	S	>64	R	64	-	16	R
14	0.5	S	4	S	>64	R	64	-	>256	R
15	1	S	4	S	>64	R	64	-	>256	R
16	4	R	4	S	>64	R	32	-	>256	R
17	32	R	4	S	>64	R	>64	-	1	S
18	32	R	4	S	>64	R	>64	-	>256	R
19	16	R	2	S	>64	R	32	-	>256	R
20	1	S	4	S	>64	R	32	-	0.25	S
21	32	R	4	S	>64	R	>64	-	>256	R
22	0.5	S	4	S	>64	R	>64	-	>256	R
23	4	R	4	S	>64	R	>64	-	>256	R
24	2	S	4	S	>64	R	>64	-	>256	R
25	4	R	4	S	>64	R	>64	-	32	R
26	32	R	4	S	>64	R	>64	-	>256	R
27	32	R	8	S	>64	R	32	-	48	R
28	>32	R	4	S	>64	R	64	-	>256	R
29	8	R	4	S	>64	R	>64	-	>256	R
30	32	R	4	S	>64	R	>64	-	32	R
31	16	R	4	S	>64	R	>64	-	48	R
32	>32	R	>512	R	>64	R	>64	-	>256	R
33	32	R	>512	R	>64	R	>64	-	>256	R
34	32	R	>512	R	>64	R	>64	-	>256	R
35	16	R	>512	R	>64	R	>64	-	>256	R
36	32	R	>512	R	>64	R	>64	-	>256	R
37	32	R	>512	R	>64	R	>64	-	>256	R
38	16	R	>512	R	>64	R	>64	-	>256	R

R: Dirençli, S: Duyarlı, MİK: Minimum inhibitör konsantrasyon

\*: Avibaktamın tek başına sınır değeri olmadığından, duyarlılık yorumu mevcut değil.

\*\*: Tazobaktamın konsantrasyonu 4 µg/mL olmak üzere sabit.



### 3.3.2. Gradyentli MİK Strip Test

Seftolozan/tazobaktam kombinasyonu MİK değerleri gradiyent strip test (Liofilchem®, İtalya) yöntemi ile belirlendi. Bu strip testte tazobaktamın konsantrasyonu sabit olup 4 µg/ml'dır. Seftolozanın konsantrasyonu ise (0.016-256) µg/mL arasındaki dilüsyonları kapsamaktadır. Üretici firmanın önerisi doğrultusunda 0,5 McFarland bulanıklığında hazırlanan bakteri süspansiyonu Mueller Hinton agarın yüzeyine steril eküvyon çubuğu ile inoküle edildi. Kuruması beklendikten sonra strip test, steril penset yardımıyla, pleytin ortasına denk gelecek şekilde agar yüzeyine, tek harekette kaydırmadan bırakıldı ve agar yüzeyine yapışması sağlandı.  $35 \pm 2^{\circ}\text{C}$ ' de 16-20 saatlik inkübasyon sonunda inhibisyon zonu değerlendirilerek, strip testin üzerindeki karşılık gelen MİK değeri saptandı.

### 3.3.3. Checkerboard ile Sinerji Çalışması

Mikrodilüsyon sonucu MİK değerleri saptanan suşların apramisin/kolistin ve aztreonam/avibaktam kombinasyonlarının sinerji çalışması Checkerboard yöntemi ile yapıldı (Bal, 1999). Bu yöntemde her bir suшта denenecek olan her bir kombinasyon için 96 kuyucuklu bir pleyt gerekmektedir. Kuyucuklardaki antibiyotik konsantrasyonları, kombinasyondaki bir antibiyotiğin konsantrasyonu sütun yönünde seri ½ dilüsyonlu şekilde azalırken diğer antibiyotiğin konsantrasyonu satır yönünde azalacak şekilde planlandı. Böylece pleytlerde kombine edilen antibiyotiklerin artan ve azalan konsantrasyonlarda kombinasyonları sağlanarak sinerjik, aditif veya antagonist etki gözlemlenmeye çalışıldı. Antibiyotik konsantrasyonları, BMD yöntemi ile saptanan MİK değerlerini kapsayacak şekilde planlandı. Tablo 6 ve 7'de örnek olarak kombinasyon çalışmasında mikroyeşillerde kullanılan dilüsyonlar gösterilmiştir.

**Tablo 6.** Aztreonam/avibaktam kombinasyonu için Checkerboard çalışmasındaki örnek bir mikroplak planı (kuyucuklardaki antibiyotik konsantrasyonları ve kontrol kuyucukları)

		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A	Az	64	32	16	8	4	2	1	0.5	0.25	0.125	0.063	Sterilite Kontrol
	Av	64	64	64	64	64	64	64	64	64	64	64	
B	Az	64	32	16	8	4	2	1	0.5	0.25	0.125	0.063	Sterilite Kontrol
	Av	32	32	32	32	32	32	32	32	32	32	32	
C	Az	64	32	16	8	4	2	1	0.5	0.25	0.125	0.063	Sterilite Kontrol
	Av	16	16	16	16	16	16	16	16	16	16	16	
D	Az	64	32	16	8	4	2	1	0.5	0.25	0.125	0.063	Üreme Kontrol
	Av	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	
E	Az	64	32	16	8	4	2	1	0.5	0.25	0.125	0.063	
	Av	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	
F	Az	64	32	16	8	4	2	1	0.5	0.25	0.125	0.063	
	Av	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	
G	Az	64	32	16	8	4	2	1	0.5	0.25	0.125	0.063	
	Av	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	
H	Az	64	32	16	8	4	2	1	0.5	0.25	0.125	0.063	
	Av	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	

Az: Aztreonam, Av: Avibaktam

**Tablo 7.** Kolistin/apramisin kombinasyonu için Checkerboard çalışmasındaki örnek bir mikroplak planı (kuyucuklardaki antibiyotik konsantrasyonları ve kontrol kuyucukları)

		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A	Kol	128	64	32	16	8	4	2	1	0.5	0.25	0.125	Sterilite
	Ap	32	32	32	32	32	32	32	32	32	32	32	Kontrol
B	Kol	128	64	32	16	8	4	2	1	0.5	0.25	0.125	Sterilite
	Ap	16	16	16	16	16	16	16	16	16	16	16	Kontrol
C	Kol	128	64	32	16	8	4	2	1	0.5	0.25	0.125	Sterilite
	Ap	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	Kontrol
D	Kol	128	64	32	16	8	4	2	1	0.5	0.25	0.125	Üreme
	Ap	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	Kontrol
E	Kol	128	64	32	16	8	4	2	1	0.5	0.25	0.125	
	Ap	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	
F	Kol	128	64	32	16	8	4	2	1	0.5	0.25	0.125	
	Ap	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	
G	Kol	128	64	32	16	8	4	2	1	0.5	0.25	0.125	
	Ap	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	
H	Kol	128	64	32	16	8	4	2	1	0.5	0.25	0.125	
	Ap	0.25	0.25	0.25	0.25	0.25	0.25	0.25	0.25	0.25	0.25	0.25	

**Kol:** Kolistin, **Ap:** Apramisin

Dilüsyonlar tamamlandıktan sonra yine BMD yöntemindeki gibi son konsantrasyonu  $5 \times 10^5$  CFU/mL olacak şekilde bakteri süspansiyonundan kombinasyonlu tüm kuyucuklara ve üreme kontrol kuyucuğuna inoküle edildi. Kombinasyondaki antibiyotikler ve besiyeri için sterilite kontrol kuyucukları ayrıldı ve bu kuyucuklara bakteri solüsyonu ilave edilmedi. İnkübasyon sonrasında (35-37 °C de 16-20 saat) başta kontrol kuyucukları olmak üzere gözle bulanıklığın olduğu ve olmadığı kuyucuklar tespit edildi (Resim 1). Antibiyotik kombinasyonlarının üremeyi inhibe ettiği en düşük MİK kuyucuğu, ilgili antibiyotiklerin kombinasyon MİK değeri olarak kaydedildi. Her bir antibiyotiğin bu kombinasyondaki MİK değeri, BMD yöntemi ile belirlenen tek başına MİK değeri ile oranlandığında ise her antibiyotik için fraksiyonel inhibitör konsantrasyonu (FİK) değeri elde edildi. Kombinasyondaki antibiyotiklerin FİK değerleri de toplanarak sinerji yorumunda kullanılacak olan fraksiyonel inhibitör konsantrasyonu indeksi (FİKİ) hesaplandı. Checkerboard yönteminde formülasyon ve yorumlama aşağıda belirtildiği gibidir:

A antibiyotiğinin kombinasyondaki MİK değeri

$$FİK_A = \frac{\text{A antibiyotiğinin kombinasyondaki MİK değeri}}{\text{A antibiyotiğinin tek başına MİK değeri}}$$

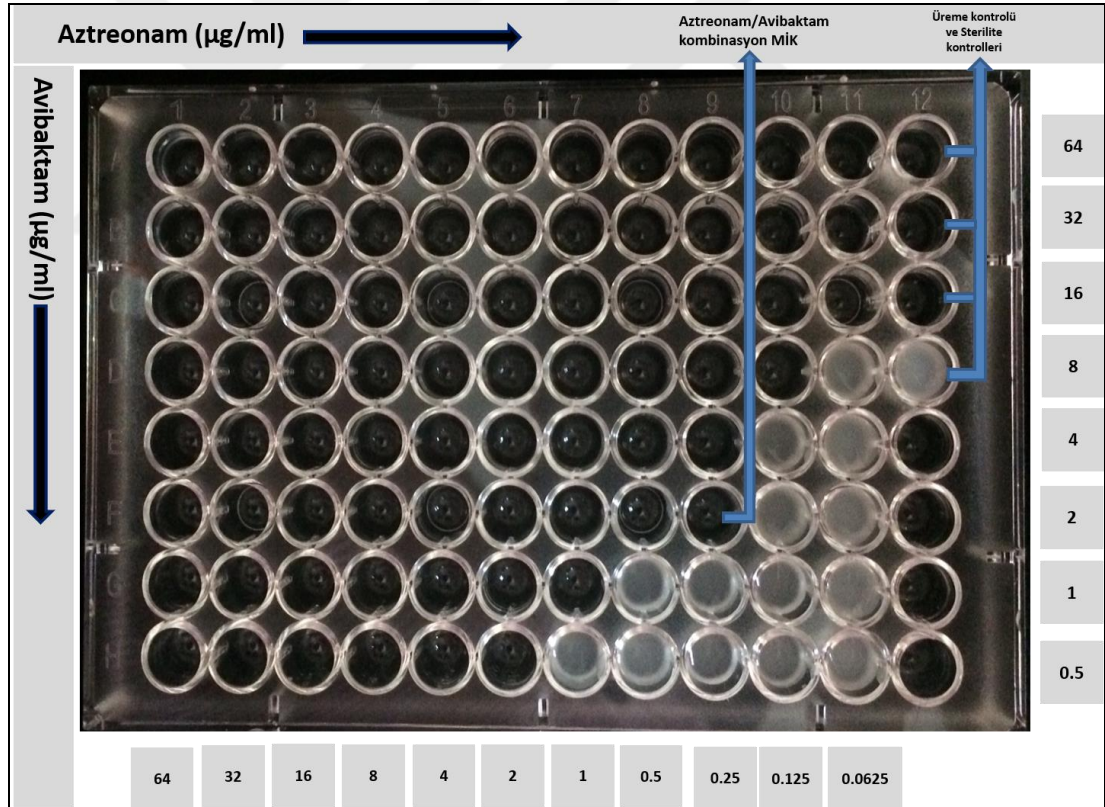
B antibiyotiğinin kombinasyondaki MİK değeri

$$FİK_B = \frac{\text{B antibiyotiğinin kombinasyondaki MİK değeri}}{\text{B antibiyotiğinin tek başına MİK değeri}}$$

B antibiyotiğinin tek başına MİK değeri

$$FİK \text{ indeksi } (\sum FİK) = FİK_A + FİK_B$$

Toplam FİK indeksi  $\leq 0.5$  ise sinerji,  $0.5 < FİK < 4$  ise aditif veya indiferan,  $> 4$  ise antagonist etki olarak değerlendirildi (Bal 1999, Odds 2003).



**Resim 1.** Aztreonam/Avibaktam kombinasyonu çalışılan bir suşa ait checkerboard plağı

## 4. BULGULAR

### 4.1. AZTREONAM VE AVİBAKTAM

Suşların tümünün BMD yöntemi ile saptanan aztreonam MİK değeri  $>64 \mu\text{g/ml}$  olup, hepsinin aztreonama dirençli olduğu görüldü. Aztreonam/avibaktam sinerji çalışmasında FİKİ değerlerine göre suşların 38/38'inde (%100) sinerjik etki olduğu saptandı. Kombinasyondaki aztreonam MİK değerleri incelendiğinde, CLSI sınır değerlerine göre suşların 38/38'inde (%100) duyarlılık sınır değerlerinde (MİK  $\leq 4 \mu\text{g/ml}$ ) saptandı. Kombinasyon MİK değerlerinde EUCAST aztreonam sınır değerleri baz alındığında ise suşların 36/38'sinde (%94.7) aztreonam duyarlı değere (MİK  $\leq 1 \mu\text{g/ml}$ ) ulaşılmış olup, diğer 2 suşun artmış dozda duyarlı kategorisindeki MİK değerine (MİK =2  $\mu\text{g/ml}$ ) sahip olduğu gözlemlendi (Tablo 8). Bu değerlendirmeler avibaktamın kombinasyondaki MİK değerlerinden bağımsız yapılmıştır. Tüm suşlar için kombinasyon MİK değerlerindeki avibaktamın MİK değerleri 0.5-8  $\mu\text{g/ml}$  aralığında saptandı.

Aztreonam/avibaktam kombinasyonundaki, avibaktam konsantrasyonu 4  $\mu\text{g/ml}$  (kılavuzlarda yer alan seftazidim/avibaktam kombinasyonundaki sabit avibaktam konsantrasyonu) olarak sabit kabul edildiği takdirde, CLSI aztreonam sınır değerine göre suşların 37/38'si (%97.3) aztreonama duyarlı, 1'inin ise orta duyarlı olduğu belirlendi. EUCAST sınır değerleri dikkate alındığında ise 31/38'ünde (%81.6) aztreonam duyarlı saptanırken, kalan suşlardan 2'si (%5.3) artmış dozda duyarlı, 5'i (%13.1) dirençli MİK aralığındaydı. Bu farklar, Tablo 8'de görüldüğü gibi 8  $\mu\text{g/ml}$  avibaktam kombinasyon MİK değerlerine sahip olan 6 suştan kaynaklanmaktadır.

### 4.2. KOLİSTİN ve APRAMİSİN

38 KÜE suşundan 12/38'sinin (%31) BMD yöntemi ile kolistine duyarlı ve düşük MİK değerlerine sahip olduğu görüldü ve bu suşlar kolistin/apramisin sinerji

çalışmasına dahil edilmedi. Bu tez çalışmasında incelenen 38 KÜE ve yaygın ilaca dirençli suşundan BMD ile 26'sının ise (%69) kolistine dirençli olduğu saptandı. Apramisin, tek başına suşların 30/38'unda (%79) etkili bulundu. Diğer 8 suş (%21) ise dirençli olarak saptandı. Kolistin dirençli suşların 19/26'unun (%73) apramisine duyarlı olduğu görüldü. Apramisin dirençli suşların 7'sinin KPC, 1'inin NDM-1 üreten suşlar olduğu görüldü. Apramisin için yapılan değerlendirmeler, Uluslararası antibiyotik direnci izlem sistemi çalışma grubu 2001 yılı raporundaki *E. coli* için verilen sınır değerlere göre yapılmıştır (<http://www.cdc.gov/narms/annual/2001/2001.pdf> Erişim tarihi: 10.10.2018). Kolistin/apramisin kombinasyonunun sinerji çalışması yapılan kolistin dirençli 26 suşun FİKİ değerlerine göre; sadece 4'ünde (%15.3) sinerjik etki saptanırken, 8 suшта antagonist (%30.7), 14 suшта (%54) ise aditif etki tespit edildi (Tablo 9).

#### **4.3. SEFTOLOZAN/TAZOKTAM**

Seftolozan/tazobaktam kombinasyonunun, çalışılan kombinasyonlar arasında en düşük etkinlik oranına sahip olduğu görüldü. Suşların sadece 2/38'inde etkili olurken diğer suşlar 36/38 (%94.7) dirençli olarak saptandı (Tablo 5). Dirençli olan suşların 31'inin MİK değerinin çok yüksek olduğu (>256 µg/ml) gözlemlendi.

**Tablo 8.** Aztreonam ve avibaktamın tek başlarına ve kombinasyondaki MİK değerleri ve FİK indeksi sonuçları

Suş No	Enzim tipi	ATM MİK µg/ml	Komb-ATM MİK µg/ml	Komb-AVİ MİK µg/ml	AVİ MİK µg/ml	FİKİ	YORUM
1	OXA-48	>64	1	1	>64	≤0.5	sinerjik
2	NDM-1	>64	0.25	2	>64	≤0.5	sinerjik
3	NDM-1	>64	0.25	2	>64	≤0.5	sinerjik
4	NDM-1 + OXA-48	>64	1	2	>64	≤0.5	sinerjik
5	NDM-1	>64	1	4	32	≤0.5	sinerjik
6	NDM-1 + OXA-48	>64	0.5	2	>64	≤0.5	sinerjik
7	NDM-1	>64	0.25	2	>64	≤0.5	sinerjik
8	NDM-1	>64	0.5	1	>64	≤0.5	sinerjik
9	KPC	>64	0.5	2	>64	≤0.5	sinerjik
10	NDM-1 + OXA-48	>64	0.5	2	>64	≤0.5	sinerjik
11	NDM-1	>64	0.25	2	>64	≤0.5	sinerjik
12	OXA-48	>64	0.5	2	>64	≤0.5	sinerjik
13	OXA-48	>64	0.125	2	64	≤0.5	sinerjik
14	NDM-1	>64	0.25	2	64	≤0.5	sinerjik
15	NDM-1	>64	0.5	2	64	≤0.5	sinerjik
16	NDM-1	>64	0.25	2	32	≤0.5	sinerjik
17	OXA-48	>64	0.5	2	>64	≤0.5	sinerjik
18	NDM-1	>64	0.25	2	>64	≤0.5	sinerjik
19	NDM-1	>64	0.25	2	32	≤0.5	sinerjik
20	NDM-1	>64	0.5	0.5	8	≤0.5	sinerjik
21	NDM-1 + OXA-48	>64	0.5	2	>64	≤0.5	sinerjik
22	OXA-48	>64	0.5	1	>64	≤0.5	sinerjik
23	OXA-48	>64	0.5	2	>64	≤0.5	sinerjik
24	NDM-1	>64	0.25	2	>64	≤0.5	sinerjik
25	OXA-48	>64	1	2	>64	≤0.5	sinerjik
26	KPC	>64	1	8	>64	≤0.5	sinerjik
27	OXA-48	>64	0.25	4	32	≤0.5	sinerjik
28	OXA-48	>64	0.5	2	64	≤0.5	sinerjik
29	OXA-48	>64	1	1	>64	≤0.5	sinerjik
30	OXA-48	>64	0.5	2	>64	≤0.5	sinerjik
31	OXA-48	>64	0.5	4	>64	≤0.5	sinerjik
32	KPC	>64	1	8	>64	≤0.5	sinerjik
33	KPC	>64	2	4	>64	≤0.5	sinerjik
34	KPC	>64	0.5	8	>64	≤0.5	sinerjik
35	KPC	>64	0.5	8	>64	≤0.5	sinerjik
36	KPC	>64	2	2	>64	≤0.5	sinerjik
37	KPC	>64	0.5	8	>64	≤0.5	sinerjik
38	KPC	>64	0.5	8	>64	≤0.5	sinerjik

ATM: Aztreonam, AVİ: Avibaktam, KOMB: Kombinasyondaki, MİK: Minimum İnhibitör Konsantrasyonu, FİKİ: Fraksiyonel İnhibitör Konsantrasyonu

**Tablo 9.** Kolistin ve apramisinin; tek başlarına ve kombinasyondaki MİK değerleri ve FİK indeksi sonuçları

Suş No	Enzim tipi	KOL MİK µg/ml	Komb-KOL MİK µg/ml	Komb-AP MİK µg/ml	AP MİK µg/ml	FİKİ	YORUM
1	OXA-48	32	16	2	4	1	Aditif
4	NDM-1 + OXA-48	32	16	4	4	>1	Aditif
6	NDM-1 + OXA-48	16	32	16	4	>4	Antagonist
7	NDM-1	>32	1	16	4	>4	Antagonist
11	NDM-1	>32	8	0.5	2	≤0.5	Sinerjik
13	OXA-48	4	2	2	2	>1	Aditif
16	NDM-1	4	2	2	4	1	Aditif
17	OXA-48	32	32	2	4	>1	Aditif
18	NDM-1	32	0.25	1	4	≤0.5	Sinerjik
19	NDM-1	16	0.5	0.25	2	≤0.5	Sinerjik
21	NDM-1 + OXA-48	32	64	4	4	3	Aditif
23	OXA-48	4	128	8	4	>4	Antagonist
25	OXA-48	4	1	2	4	>0.5	Aditif
26	KPC	32	4	4	4	>1	Aditif
27	OXA-48	32	2	2	8	≤0.5	Sinerjik
28	OXA-48	>32	1	2	4	>0.5	Aditif
29	OXA-48	8	8	4	4	2	Aditif
30	OXA-48	32	32	16	4	>4	Antagonist
31	OXA-48	16	0.125	8	4	2	Aditif
32	KPC	>32	128	2	>512	>1	Aditif
33	KPC	32	64	2	>512	>2	Aditif
34	KPC	32	64	2	>512	>2	Aditif
35	KPC	16	64	2	>512	>4	Antagonist
36	KPC	32	128	2	>512	>4	Antagonist
37	KPC	32	128	2	>512	>4	Antagonist
38	KPC	16	128	2	>512	>4	Antagonist

**KOL:** Kolistin, **AP:** Apramisin, **KOMB:** Kombinasyondaki, **MİK:** Minimum İnhibitör Konsantrasyonu, **FİK:** Fraksiyonel İnhibitör Konsantrasyonu



## 5. TARTIŞMA VE SONUÇ

Antibiyotik direnci dünya çapında önemli bir halk sağlığı problemi ve dirençli suşlarla oluşan enfeksiyonlar her geçen gün artmaktadır. CDC tarafından yayınlanan, antibiyotik direnci açısından tehdit oluşturan ilk 18 mikroorganizmayı özetleyen bir raporda tehdit oluşturan mikroorganizmalardan üçü tehdit düzeyi açısından “acil öncelikli” grupta sınıflandırılmış olup bunlardan birisi de karbapenem dirençli Enterobacteriaceae üyeleri olarak bildirilmiştir (CDC, 2013). Bu tehdidin şiddeti, yeni antibiyotik ajanlarının araştırılmasının, direnç gelişimine ayak uyduramaması gerçeği ile artmaktadır. Antibiyotiklere dirençli suşlarla enfeksiyon tehdidine karşı yeni antibakteriyel ajanların keşfinin acil ihtiyaç olduğu yaygın olarak kabul edilmektedir ancak yakın gelecekte bakterilere karşı piyasaya sürülecek olan tamamen yeni bir aktif ajan olamayabilir. 20. yüzyıl, yeni ve daha aktif antibiyotiklerin keşfi ve sürekli gelişimi ile dikkat çekmiş “antibiyotik yüzyılı” iken klinikte, 1987'den beri lipopeptitler dışında yeni bir antibiyotik grubu mevcut değildir (Nordmann 2014). Bu nedenle tedavide, mevcut antibiyotiklerin; endikasyonlarının genişletilmesi, doz ve infüzyon süresi gibi farmakolojik özelliklerin esnetilmesi, kombine kullanımları gibi alternatifler üzerinde durulmaktadır. Belirli bir tedavi algoritması olmadığı için literatürde kontrollü olmayan tedaviler ve bunların sınırlı retrospektif incelemeleri karşımıza çıkmaktadır. Diğer yandan *in vitro* olarak çeşitli ajanların, kombinasyonların etkinlik ve sinerji çalışmaları devam etmektedir. Bu doğrultuda çalışmamızda da tedavide alternatif olabilecek bazı antibiyotiklerin ve bazı kombinasyonlarının söz konusu dirençli bakterilere karşı *in vitro* etkinliği araştırılmıştır.

Karbapenem dirençli Enterobacteriaceae suşları, hemen hemen mevcut tüm antibiyotiklere dirençli; solunum yolu, üriner sistem enfeksiyonları, bakteriyemi ve intraabdominal enfeksiyonlar gibi birçok ciddi enfeksiyona neden olmaktadır. Zhang

Y ve ark. Çin'de, 25 hastanede bildirilen 2015 yılına ait 664 karbapenem dirençli Enterobacteriaceae enfeksiyonlarını inceledikleri çalışmada; bu vakaların çoğunda *K. pneumoniae* (%73.3), *E. coli* (%16.6) veya *Enterobacter cloacae* (%7.1) türlerinin etken olduğunu vurgulamışlardır. Bu çalışmada genel mortalite oranı %33.5 olarak rapor edilmiştir (Zhang et al. 2018). Literatürdeki veriler ve bu çalışmaya paralel olarak hastanemizde de karbapenem dirençli suşlar içerisinde *K. pneumoniae* türünün hakim olduğu saptanmıştır. Çalışmamızda; karbapenem dirençli olan Enterobacteriaceae türleri arasında aynı zamanda karabepenemaz üreten ve yaygın ilaç direnci olan *K. pneumoniae* suşları incelenmiştir.

Karbapenemaz üreten Enterobacteriaceae suşlarında tedavide alternatif olabilecek kombinasyonlardan olan aztreonam/avibaktam kombinasyonunun, aralarında global sürveyans programlarının da olduğu çalışmalarda bu suşlarda oldukça etkin olduğu saptanmıştır. OXA-48, KPC gibi serin beta-laktamazların yanı sıra NDM-1 gibi metallo-beta-laktamaz üreten suşlara da etkili olduğu belirtilmiştir (Kazmierczak et al. 2018, Chew et al. 2018). Yine Biedenbach ve ark.'nın (2015) yaptıkları global sürveyans çalışmasında aztreonam/avibaktam kombinasyonunun MBL üreten suşlar da dahil olmak üzere KÜE suşlarında *in vitro* etkinliğinin yüksek olduğunu saptamışlardır (Biedenbach et al. 2015). Bizim çalışmamızda da aztreonam/avibaktam kombinasyonunun nerdeyse tüm suşlarda etkili ve sinerjik olduğu saptandı. Bu kombinasyonun, KPC ve OXA-48 grubu karbapenemaz üreten suşlara etkili olduğu gibi MBL (NDM-1) üreten suşlar ve dual-karbapenemaz üreten suşlara (NDM-1+OXA-48 üreten 4 suş) karşı da başarılı olması tedaviye yönelik alternatif sunması açısından önemlidir.

Avibaktamın dirençli suşlar için geliştirilmiş başka bir kombinasyonu olan seftazidim/avibaktam kombinasyonunun, MBL üreten suşlara karşı etkili olmadığı gözlenmiştir (Ehmann et al. 2012, Castanheira et al. 2014). Bu durumun aztreonamın, seftazidimden farklı olarak MBL enzimleri karşısında dayanıklı olmasından kaynaklandığı söylenebilir. Aztreonam/avibaktam kombinasyonunda; avibaktamın MBL enzimlerini inhibe etme özelliği olmasa da aztreonamı hidrolize eden ve birlikte bulunan diğer olası beta-laktamazları (GSBL, AmpC, OXA-48, KPC vb. beta-laktamazları) inhibe etmektedir. Bu kombinasyonun MBL üreten suşlara

karşı da etkili/sinerjik olması bu şekilde açıklanabilir. İleride tedavide kullanılması durumunda, karbapenem dirençli suşlarda, MBL üretiminin araştırılması daha da değer kazanabilir. Böylece MBL üretimi saptanan suşlarda ilk sıralarda bu kombinasyon tercih edilebilir. Aztreonam/avibaktamın kombinasyonunun klinik faz 3 çalışmaları devam etmekte olup, yakın zamanda tedavide kullanıma girmesi kuvvetle muhtemeldir. Çünkü bu iki ilaç bir arada olmasa da klinik kullanımda yer alan ajanlardır (seftazidim/avibaktam kombinasyonu şeklinde ve tek başına aztreonam). Ancak aztreonam/avibaktam kombinasyonunun güncel klinik sınır değerleri uluslararası kılavuzlarda henüz bulunmamaktadır.

Aztreonam/avibaktam kombinasyonunun MBL üreten suşlar karşısında *in vitro* etkinliği başarılı bulunsa da Lohans ve ark. (2017) yakın zamandaki çalışmalarında, MBL enzimlerinin bu iki antibiyotiğe karşı hidrolitik aktivitelerinin olduğunu saptamışlardır. Bu bulguların dikkate alınması gerektiğini ve klinik kullanımda potansiyel direnç nedeni olabileceğini belirtmişlerdir. Çünkü bu çalışmada avibaktam üzerinde VIM ve NDM-1 gibi MBL enzimlerinin dikkate değer düzeyde hidrolitik aktivitelerinin olduğunu saptamışlardır. Yine MBL enzimleri ile ilgili literatürde yer alan monobaktamlara karşı hidrolitik aktivitelerinin olmadığı yönündeki bilgilerin aksine bir bulgu ile konuyu tartışmaya açmaktadırlar. Özellikle NDM-1 enzimin aztreonam üzerindeki hidroliz etkisi TEM-1, OXA-48 gibi enzimlere yakın bulunmuştur.

Tazobaktam, GSBL üreten suşlar ve yüksek konsantrasyonlarda kullanıldığında AmpC üreten suşlara karşı başarılı olmasına rağmen, karbapenemaz enzimlerini inhibe edemediğinden seftolozan/tazobaktam kombinasyonunun KÜE suşlarında etkin olmadığı daha önceki bazı çalışmalarda bildirilmiştir (van Duin and Bonomo 2016). Seftolozan/tazobaktam ve Seftazidim/avibaktam kombinasyonlarının çoklu ilaca dirençli *E. coli*, *K. pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa* suşları üzerinde denendiği *in vitro* bir çalışmada, GSBL üreten suşlarda ve *Pseudomonas aeruginosa* suşlarında her iki kombinasyon başarılı bulunurken, karbapenem dirençli Enterobacteriaceae suşlarında etkinlikleri sırası ile %10 ve %45 olarak saptanmıştır (Alatoom et al. 2017). Seftolozan/tazobaktam kombinasyonu, literatüre paralel olarak bizim çalışmamızdaki KÜE suşlarına karşı etkili bulunmamıştır. Sadece 2 suшта etkin

MİK değerleri saptandı. Tüm bu çalışmalar ve bizim çalışmamızdaki veriler, seftolozan/tazobaktamın KÜE enfeksiyonları için etkili bir ajan olmadığını göstermektedir.

Kolistin duyarlılık testi, yıllar içinde değişmiştir ve hala devam eden bir tartışma konusudur. Bunlardan birisi duyarlılık testinde kolistinin hangi formunun kullanılacağıdır. Kolistin metansulfonat, aktif olmayan ön ilaç formunda olduğu için kılavuzlar kolistin sülfat kullanımı önermektedir. Diğer değişiklikler hem test metodolojisinde hem de sınır değerlerde yapılan değişikliklerini içermektedir. Kolistin, amfipatik doğası nedeniyle plastik maddelere bağlanmasına rağmen şu an için CLSI ve EUCAST, tek geçerli yöntem olarak broth mikrodilüsyon yönteminin kullanılmasını önermektedir. Bir süre için bu dezavantajın üstesinden gelmek için, CLSI önerisi olarak (CLSI 2014) BMD yönteminde polisorbit-80 eklenmesi önerilmiştir fakat kolistin ile sinerjik etkileşimi olduğundan bu öneri de terkedilmiştir ([http://www.eucast.org/fileadmin/src/media/PDFs/EUCAST\\_files/General\\_documents/Recommendations\\_for\\_MIC\\_determination\\_of\\_colistin\\_March\\_2016.pdf](http://www.eucast.org/fileadmin/src/media/PDFs/EUCAST_files/General_documents/Recommendations_for_MIC_determination_of_colistin_March_2016.pdf) Erişim tarihi 29.10.2018). Ancak, Karvanen ve ark. (2017) yaptıkları bir çalışmada kolistinin hem polistiren hem de polipropilen yapısındaki mikrodilüsyon plakları tarafından konsantrasyona bağlı bir olarak önemli ölçüde adsorbe edilebileceğini göstermişlerdir. Bu durumda test ortamında kolistin kaybının bir sonucu olarak, BMD yöntemi ile belirlenen MİK değerlerinde sapmalar olabilecektir. Dolayısıyla halen değişmekte olan kolistin duyarlılık testleri, bu bulgular dikkate alındığında tekrar revize olabilir (Prim et al. 2018). Son kılavuzlarda EUCAST, Enterobacteriaceae için sınır MİK değerlere sahipken, CLSI sınır değerleri yerine sadece bazı türler için epidemiyolojik sınır MİK değerleri oluşturmuştur (CLSI M100 ED28. 2018, EUCAST 2018). Şu an için ortak nokta olarak her iki kılavuz da agar diffüzyon yöntemlerini önermemekte ve BMD yöntemi ile MİK değerinin tespit edilmesini önermektedir.

VITEK 2® otomatize sistemle kolistin duyarlı olarak saptanmış 6 suş, çalışmamızda BMD yöntemi ile dirençli bulunurken, dirençli saptanmış olan 2 suş ise BMD ile duyarlı olarak saptandı. Bu farklılıklara göre kolistin duyarlılık testleri ile ilgili otomatize sistemlerle, BMD yöntemindeki MİK değerlerinin farklılıkları da

araştırılması gereken konular arasındadır. Kolistin/apramisin kombinasyonu çalıştığımız suşların kolistin duyarlılığında BMD yöntemi esas alınmıştır. Buna göre yaygın ilaç dirençli KÜE suşlarının 26'sı BMD ile kolistin dirençli saptanmış ve kolistin/apramisin kombinasyon çalışmasına alınmıştır.

Kolistin/aminoglikozid kombinasyonlarını içeren sınırlı sayıda *in vitro* çalışma bulunmaktadır. Bu çalışmaların birisinde, Chitnis ve ark. checkerboard yöntemi ile amikasin ve gentamisin'in ayrı ayrı kolistinle kombinasyonu çalışılmış, 46 gram negatif suşta (10'u *Klebsiella* spp.) sırasıyla %19.5 ve %10.8 oranında sinerjik etki bulunmuştur. Bu çalışmada diğer suşlarda aditif etki bulunurken, antagonist etki saptanmamıştır (Chitnis et al. 2007). *Acinetobacter*, *Pseudomonas* ve *Klebsiella* cinsi bakterilerle, çeşitli antibiyotikler ve sinerji metodlarının kullanıldığı diğer bir çalışmada sadece bir *K. pneumoniae* suşunda polimiksin B/amikasin kombinasyonu çalışılmış olup, time-kill yönteminde sinerjik bulunurken checkerboard yönteminde aditif etki saptanmıştır (Leite 2015).

Kolistin/apramisin kombinasyonu ile ilgili literatür taramalarında klinik ya da laboratuvar çalışması olarak herhangi bir çalışmaya ulaşılamamıştır. Dirençli suşlara karşı etkili ajanların kısıtlı olması nedeniyle *in vitro* çalışmalarla gündeme gelen apramisin, henüz insanlarda kullanılmamaktadır. Kolistinle kombine kullanımı ile ilgili ilk laboratuvar çalışmalarından birisi olan bu çalışmada, karbapenemaz üreten ve kolistin dirençli *K. pneumoniae* suşlara karşı sinerjik etkisinin olup olmadığı incelenmiştir. Bu kombinasyonda, sadece 4 suşta (%15.3) sinerjik etki saptanırken diğer suşlarda antagonist (%30.7) veya aditif etki (%54) saptandı. Görüldüğü üzere kolistin/apramisin kombinasyonunda da literatürde diğer aminoglikozidlerde olduğu gibi sinerjik etki oranı düşüktür. Bunun yanı sıra yukarıda bahsi geçen kolistin/aminoglikozid kombinasyon çalışmalarına benzer oranda aditif etki saptanırken, bu çalışmalardan farklı olarak önemli oranda antagonist etkinin bulunmuş olması dikkate değerdir.

Apramisin'in EUCAST ve CLSI kılavuzlarında MİK sınır değerlerinin bulunmaması, etkinliğinin optimal değerlendirilmesi açısından sınırlayıcı olmaktadır. Apramisinle ilgili diğer çalışmalarda da bu özel durumdan dolayı etkinlik değerlendirilmesi, sınır MİK değeri olan diğer aminoglikozidlerle (amikasin, gentamisin, tobramisin gibi)

kıyaslama ile ya da uluslararası antibiyotik direnci izlem sistemi çalışma grubu tarafından yayınlanan 2001 yılı raporunda *E. coli* için verilen sınır değerler kullanılarak yapılmıştır (<http://www.cdc.gov/narms/annual/2001/2001.pdf> (Erişim tarihi: 10.10.2018), (Kang et al. 2017). CDC ve FDA ile ortak çalışan bu çalışma grubu; yiyecek, hayvan ve insan kaynaklı izolatlardaki dirençlerin izlemine çalışmaktadır. Apramisin için sınır değerleri yiyecek ve hayvan kaynaklı *E. coli*, *Salmonella* spp. gibi birkaç Enterobacteriaceae üyesi bakteriyi ve eski verileri kapsamaktadır. Apramisin sınır değerleriyle ilgili başka da bir uluslararası ve klinikle ilintili bir veriye ulaşılamamıştır. Bu sebeple gelecekteki klinik ve laboratuvar çalışmalarda apramisin sınır değerlerinin belirlenmesi konusuna odaklanılması gerekmektedir. Klinikte kullanılan mevcut tüm antibiyotiklere dirençli olan bakterilerle karşılaşıldığından, bu tip etkenlerin yol açtığı enfeksiyonlarda her türlü alternatif ajan değerlendirilmeli ve hakkında bilgi sahibi olunmalıdır.

Söz konusu sınır değerlerin kullanıldığı ve farklı bakteri gruplarına karşı apramisin etkinliğinin incelendiği birçok çalışma mevcuttur. Yakın zamanda yapılan çalışmalarda da apramisinin karbapenem dirençli suşlarda etkin olabileceği vurgulanmıştır. Smith and Kirby'nin (2016) karbapeneme duyarlı ve dirençli Enterobacteriaceae suşlarıyla yaptıkları çalışmada, apramisinin etkinliğini tüm suşlar ve karbapenem dirençli suşlarda sırasıyla %78, %70.8 olarak değerlendirmişlerdir. Bu çalışmada karbapenem dirençli suşlarda diğer aminoglikozidlerin duyarlılıkları gentamisin %47.2, tobramisin %34.7, amikasin %65.3 olarak saptanmıştır ve amikasin dışındaki aminoglikozidlere göre anlamlı fark olduğu belirtilmiştir. Yine yakın bir zamanda Galani ve ark. nın (2018) yaptıkları çalışmada, karbapenem dirençli Enterobacteriaceae (n=411) ve direnç probleminin sıkça yaşandığı diğer bir bakteri türü olan karbapenem dirençli *Acinetobacter baumannii* (n=594) suşları üzerinde apramisin etkinliği araştırılmıştır. Apramisin etkinliği bu suşlarda sırasıyla %94.9, %88.6 bulunmuştur. Apramisinle ilgili farklı bir bakteri grubu üzerine yapılmış diğer bir çalışmada ise kistik fibrozisli hastaların balgamından izole edilen non-tüberküloz mikobakterilerden *Mycobacterium abscessus* üzerinde apramisin etkinliği araştırılmış ve tüm suşlarda etkin olarak saptanmıştır (Moore et al. 2018). Sıçanlarda yapılan *in vivo* bir çalışmada ise *M. Tuberculosis* ve metisilin dirençli *Staphylococcus aureus* suşları ile enfekte edilmiş kobaylarda apramisin ve amikasin

tedavileri denenmiş, apramisinin amikasinine göre daha etkili ve daha az toksik olduğu vurgulanmıştır (Meyer et al. 2014). Bu çalışmalar ve bizim çalışmamızdan elde edilen veriler, veterinerlik alanında kullanılan bu molekülün insanlara uygun terapötik bir form haline getirilmesi konusunda çalışmalara ihtiyaç olduğunu göstermektedir. Çalışmamızda apramisinin tek başına MİK değerleri umut vaadedici olarak değerlendirildi. Tüm suşların %79'unda duyarlılık sınırlarında MİK değerleri saptanırken kolistin dirençli suşların da %73'ünde etkili bulundu. Bu oranlar diğer aminoglikozidlerin duyarlılıklarına göre (amikasin: %28.9, gentamisin: %10.5) önemli ölçüde yüksek gözükmemektedir. Yaygın ilaç direncine ek olarak kolistine de dirençli suşların büyük bir kısmında tek başına etkili bulunması çok önemli bir bulgu olarak değerlendirilmiştir. Bu bulgular daha kapsamlı *in vivo* çalışmalarla desteklenmelidir. Çalışmamızda KPC üreten kolistin dirençli suşların büyük bir kısmında (7/8'inde, %87.5) apramisine karşı da direnç olduğu saptandı. Bu suşlarda tek başına apramisin MİK değeri >512 µg/ml, apramisinin kombinasyon MİK değerinin 2 µg/ml'ye düştüğü görüldü. Ancak yine bu suşlardaki kolistin kombinasyon MİK değerlerinin 2-8 kat arttığı için söz konusu iki antibiyotik kombinasyonunda sinerjik etki görülmemiştir. İncelenen suşların büyük bir kısmında sinerji saptanmamış olması ve aminoglikozid/kolistin kombinasyonunun oluşturduğu toksisite endişesi, bu kombinasyonun kullanımının uygun olmadığı anlamına gelebilir.

Bu çalışmada incelemeye aldığımız karbapenem dirençli ve yaygın ilaç direnci olan Enterobacteriaceae izolatlarının tümü *K. pneumoniae* suşları olup, laboratuvarımız kültür kolleksiyonunda bu kriterlere uyan diğer Enterobacteriaceae üyeleri bulunmamaktaydı. Diğer Enterobacteriaceae üyeleri için bu çalışmadaki kombinasyonların denenememiş olması çalışmamızın sınırlayıcı yönüdür. Ayrıca çalışmamızda denenilen antibiyotiklerden apramisinin insanlarda kullanımına yönelik güncel klinik sınır değerlerinin olmayışı bazı yorumlamalarımızı kısıtlamıştır.

Sonuç ve öneriler;

- Aztreonam/avibaktam kombinasyonu, metallo-beta-laktamaz da dahil olmak üzere karbapenemaz üreten Enterobacteriaceae ailesine ait *K. pneumoniae* suşlarında yüksek oranda sinerjik ve etkili bulundu. Klinik faz çalışmaları

devam eden bu kombinasyon, tedavide önemli bir potansiyele sahip gözükmemektedir.

- Kolistin dirençli olan suşlarda denenen kolistin/apramisin kombinasyonunun sinerjik etkinliği düşük bulunurken çoğunlukla aditif ve antagonist etkiler gözlemlendi.
- Tek başına apramisin, suşların çoğunda düşük MİK değerlerine sahip olduğundan etkili olarak değerlendirildi. İnsanlarda şu an için kullanımı olmayan bu antibiyotik, geniş klinik araştırmalar ve faz çalışmalarının yapılması durumunda tedavide önemli bir alternatif olabilir.





## KAYNAKLAR

- Akajagbor DS, Wilson SL, Shere-Wolfe KD, Dakum P, Charurat ME, Gilliam BL. (2013). Higher incidence of acute kidney injury with intravenous colistimethate sodium compared with polymyxin B in critically ill patients at a tertiary care medical center. *Clin Infect Dis.* 57:1300–3.
- Akova M, Daikos GL, Tzouveleki L, Carmeli Y. (2012). Interventional strategies and current clinical experience with carbapenemase-producing Gram-negative bacteria. *Clin Microbiol Infect.* 18:439–48.
- Alatoom A, Elsayed H, Lawlor K, AbdelWareth L, El-Lababidi R, Cardona L, Mooty M, Bonilla MF, Nusair A, Mirza I. (2017). Comparison of antimicrobial activity between ceftolozane-tazobactam and ceftazidime-avibactam against multidrug-resistant isolates of *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, and *Pseudomonas aeruginosa*. *Int J Infect Dis.* 62:39-43.
- Albiger B, Glasner C, Struelens MJ, Grundmann H, Monnet DL, European Survey of Carbapenemase-Producing Enterobacteriaceae (EuSCAPE) working group. (2015). Carbapenemase-producing Enterobacteriaceae in Europe: Assessment by national experts from 38 countries, *Euro Surveill.* 20(45).
- Ambler RP, Coulson AF, Frère JM, Ghuyssen JM, Joris B, Forsman M, Levesque RC, Tiraby G, Waley SG. (1991). A standard numbering scheme for the class A beta-lactamases. *The Biochemical Journal.* 276(Pt 1):269-70.
- Anthony KB, Fishman NO, Linkin DR, Gasink LB, Edelstein PH, Lautenbach E. (2008). Clinical and microbiological outcomes of serious infections with multidrug-resistant gram negative organisms treated with tigecycline. *Clin Infect Dis.* 46:567-70.

- Avent ML, Rogers BA, Cheng AC, Paterson DL. (2011). Current use of aminoglycosides: Indications, pharmacokinetics and monitoring for toxicity. *Intern Med J.* 41(6):441-9.
- Bal Ç. (1999). Antibiyotik kombinasyonlarının in vitro etkinliğinin saptanması, *Flora.* 4(4):219-229
- Balkan II, Aygun G, Aydın S, Mutcalı SI, Kara Z, Kuşkucu M, Midilli K, Şemen V, Aras S, Yemişen M, Mete B, Özaras R, Saltoğlu N, Tabak F, Öztürk R. (2014). Blood stream infections due to OXA- 48-like carbapenemase-producing Enterobacteriaceae: treatment and survival. *Int J Infect Dis.* 26C: 51-6.
- Bassetti M, Nicolini L, Esposito S, Righi E, Viscoli C. (2009). Current status of newer carbapenems. *Curr. Med. Chem.* 16:564–575
- Bergen PJ, Landersdorfer CB, Zhang J, Zhao M, Lee HJ, Nation RL, Li J. (2012). Pharmacokinetics and pharmacodynamics of ‘old’ polymyxins: what is new? *Diagn Microbiol Infect Dis.* 74:213-23.
- Berkhout J, Melchers MJ, van Mil AC, Nichols WW, Mouton JW. (2015). In vitro activity of ceftazidime-avibactam combination in in vitro checkerboard assays. *Antimicrob Agents Chemother.* 59(2):1138–44
- Biedenbach DJ, Kazmierczak K, Bouchillon SK, Sahm DF, Bradford PA. (2015). In vitro activity of aztreonam-avibactam against a global collection of Gram-negative pathogens from 2012 and 2013. *Antimicrob. Agents Chemother.* 59(7):4239-4248
- Bradford PA, Kazmierczak KM, Biedenbach DJ, Wise MG, Hackel M, Sahm DF. (2015). Correlation of  $\beta$ -Lactamase Production and Colistin Resistance among Enterobacteriaceae Isolates from a Global Surveillance Program. *Antimicrob Agents Chemother.* 60(3):1385-92.

- Bratu S, Landman D, Haag R, Recco R, Eramo A, Alam M, Quale J. (2005). Rapid spread of carbapenem-resistant *Klebsiella pneumoniae* in New York City: A new threat to our antibiotic armamentarium. *Arch Intern Med.* 165(12):1430-5.
- Bratu S, Tolaney P, Karumudi U, Quale J, Mooty M, Nichani S, Landman D. (2005). Carbapenemase-producing *Klebsiella pneumoniae* in Brooklyn, NY: Molecular epidemiology and in vitro activity of polymyxin B and other agents. *J Antimicrob Chemother.* 56:128–32
- Caniaux I, Van Belkum A, Zambardi G, Poirel L, Gros MF. (2017). MCR: Modern colistin resistance. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis.* 36(3):415-420.
- Castanheira M, Deshpande LM, Mathai D, Bell JM, Jones RN, Mendes RE. (2011). Early dissemination of NDM-1- and OXA-181-producing Enterobacteriaceae in Indian hospitals: Report from the SENTRY antimicrobial surveillance program, 2006-2007, *Antimicrob Agents Chemother.* 55(3):1274-8.
- Castanheira M, Farrell SE, Krause KM, Jones RN, Sader HS. (2014). Contemporary diversity of beta-lactamases among Enterobacteriaceae in the nine U.S. census regions and ceftazidime-avibactam activity tested against isolates producing the most prevalent beta-lactamase groups. *Antimicrob Agents Chemother.* 58:833–8.
- Centers for Disease Control and Prevention. (2013). Antibiotic resistance threats in the United States, 2013. Atlanta: <http://www.cdc.gov/drugresistance/threat-report-2013/> (Erişim tarihi: 10.10.2018).
- Centers for Disease Control and Prevention. (2013). Vital signs: Carbapenem resistant Enterobacteriaceae. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep.* 62:165–70.
- Chen S, Hu F, Zhang X, Xu X, Liu Y, Zhu D, Wang H J. (2011). Independent emergence of colistin-resistant Enterobacteriaceae clinical isolates without colistin treatment. *Clin Microbiol.* 49(11):4022-3.

- Chew KL, Tay MKL, Cheng B, Lin RTP, Octavia S, Teo JWP. (2018). Aztreonam-avibactam combination restores susceptibility of aztreonam in dual-carbapenemase-producing Enterobacteriaceae. *Antimicrob Agents Chemother.* 62(8).
- Chitnis S, Chitnis V, Chitnis DS. (2007). In vitro synergistic activity of colistin with aminoglycosides, beta-lactams and rifampin against multidrug-resistant gram-negative bacteria. *Journal of Chemotherapy.* 19(n.2):226-229
- Clinical and Laboratory Standards Institute CLSI. (2014). M100-S24.
- Clinical and Laboratory Standards Institute CLSI. (2015). M07-A10.
- Clinical and Laboratory Standards Institute CLSI. (2018). CLSI M100 ED28.
- Daikos GL, Markogiannakis A. (2011). Carbapenemase-producing *Klebsiella pneumoniae*: (when) might we still consider treating with carbapenems? *Clin Microbiol Infect.* 17:1135–41.
- Daikos GL, Tsaousi S, Tzouvelekis LS, Anyfantis I, Psychogiou M, Argyropoulou A, Stefanou I, Sypsa V, Miriagou V, Nepka M, Georgiadou S, Markogiannakis A, Goukos D, Skoutelis A. (2014). Carbapenemase-producing *Klebsiella pneumoniae* bloodstream infections: lowering mortality by antibiotic combination schemes and the role of carbapenems. *Antimicrob Agents Chemother.* 58:2322–8
- Daikos, GL, Markogiannakis A, Souli M, Tzouvelekis LS. (2012). Bloodstream infections caused by carbapenemase-producing *Klebsiella pneumoniae*: A clinical perspective. *Expert Review of Anti-Infective Therapy.* 10(12):1393–1404.
- De Jonge BL, Karlowsky JA, Kazmierczak KM, Biedenbach DJ, Sahm DF, Nichols WW. (2016). In vitro susceptibility to ceftazidime-avibactam of carbapenem-nonsusceptible Enterobacteriaceae isolates collected during the INFORM global surveillance study (2012 to 2014). *Antimicrob Agents Chemother.* 60:3163-3169.

- Demir Y, Zer Y, Karaoglan I. (2015). Investigation of VIM, IMP, NDM-1, KPC and OXA-48 enzymes in Enterobacteriaceae strains. *Pak J Pharm Sci.* 28(3) Suppl:1127-33.
- Di Carlo P, Gulotta G, Casuccio A, Pantuso G, Raineri M, Farulla CA, Bonventre S, Guadagnino G, Ingrassia D, Cocorullo G, Mammina C, Giarratano A. (2013). KPC-3 *Klebsiella pneumoniae* ST258 clone infection in postoperative abdominal surgery patients in an intensive care setting: Analysis of a case series of 30 patients. *BMC Anesthesiol.* 13(13).
- Donald HM, Scaife W, Amyes SG, Young HK. (2000). Sequence analysis of ARI-1, a novel OXA beta-lactamase, responsible for imipenem resistance in *Acinetobacter baumannii* 6B92. *Antimicrob Agents Chemother.* 44(1):196-9.
- Ehmann DE, Jahic´ H, Ross PL, Gu RF, Hu J, Kern G, Walkup GK, Fisher SL. (2012). Avibactam is a covalent, reversible, non-b-lactam b-lactamase inhibitor. *Proc Natl Acad Sci USA.* 109(29):11663–8.
- European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing EUCAST. (2018). Clinical breakpoints- bacteria (v 8.1).
- Falagas ME, Kasiakou SK. (2005). Colistin: There vival of polymyxins for the management of multidrug-resistant gram-negative bacterial infections. *Clinical Infectious Diseases,* 40(9): 1333-1341.
- Falagas ME, Tansarli GS, Karageorgopoulos DE, Vardakas KZ. (2014). Deaths attributable to carbapenem-resistant Enterobacteriaceae infections, *Emerg Infect Dis.* 20(7):1170-5
- Filippa N, Carricajo A, Grattard F, Fascia P, El Sayed F, Defilippis JP, Berthelot P, Aubert G. (2013). Outbreak of multidrug-resistant *Klebsiella pneumoniae* carrying qnrB1 and blaCTX-M15 in a French intensive care unit. *Ann Intensive Care.* 3(1):18.

- Freire AT, Melnyk V, Kim MJ, Datsenko O, Dzyublik O, Glumcher F, Chuang YC, Maroko RT, Dukart G, Cooper CA, Korth-Bradley JM, Dartois N, Gandjini H; 311 Study Group. (2010). Comparison of tigecycline with imipenem/cilastatin for the treatment of hospital-acquired pneumonia. *Diagn Microbiol Infect Dis.* 68: 140–51.
- Galani I, Nafplioti K, Chatzikonstantinou M, Giamarellou H, Souli M. (2018). Evaluation of apramycin activity against carbapenem-resistant Enterobacteriaceae and *Acinetobacter baumannii*. 28th ECCMID – European Congress of Clinical Microbiology and Infectious Diseases – Madrid, 21-24 aprile 2018, P0096
- Gales AC, Jones RN, Sader HS. (2011). Contemporary activity of colistin and polymyxin B against a worldwide collection of Gram-negative pathogens: Results from the SENTRY Antimicrobial Surveillance Program (2006–09). *J Antimicrob Chemother.* 66:2070–4
- Galimand M, Courvalin P, Lambert T. (2003). Plasmid-Mediated High-Level Resistance to Aminoglycosides in Enterobacteriaceae Due to 16S rRNA Methylation. *Antimicrob Agents Chemother.* 47(8): 2565–2571.
- Garneau-Tsodikova S, Labby KJ. (2016). Mechanisms of Resistance to Aminoglycoside Antibiotics: Overview and Perspectives. *Medchemcomm.* 7(1):11-27.
- Garonzik SM, Li J, Thamlikitkul V, Shoham S, Jacob J, Silveira FP, Forrest A, Nation RL. (2011). Population pharmacokinetics of colistin methanesulfonate and formed colistin in critically ill patients from a multicenter study provide dosing suggestions for various categories of patients. *Antimicrob Agents Chemother.* 55:3284–94
- Giamarellou H, Galani L, Baziaka F, Karaiskos I. (2013). Effectiveness of a double-carbapenem regimen for infections in humans due to carbapenemase-producing pandrug-resistant *Klebsiella pneumoniae*. *Antimicrob Agents Chemother.* 57:2388–90.

- Harris PN, Wei JY, Shen AW, Abdile AA, Paynter S, Huxley RR, Pandeya N, Doi Y, Huh K, O'Neal CS, Talbot TR, Paterson DL. (2016). Carbapenems versus alternative antibiotics for the treatment of bloodstream infections caused by *Enterobacter*, *Citrobacter* or *Serratia* species: a systematic review with meta-analysis. *J Antimicrob Chemother.* 71(2):296-306
- Hecker SJ, Reddy KR, Totrov M, Hirst GC, Lomovskaya O, Griffith DC, King P, Tsivkovski R, Sun D, Sabet M, Tarazi Z, Clifton MC, Atkins K, Raymond A, Potts KT, Abendroth J, Boyer SH, Loutit JS, Morgan EE, Durso S, Dudley MN. (2015). Discovery of a cyclic boronic acid beta-lactamase inhibitor (RPX7009) with utility vs class A serine carbapenemases. *J Med Chem.* 58:3682–3692.
- Hirsch EB, Tam VH. (2010). Detection and treatment options for *Klebsiella pneumoniae* carbapenemases (KPCs): An emerging cause of multidrug-resistant infection. *J Antimicrob Chemother.* 65:1119–25
- Hooper DC, Jacoby GA. (2015). Mechanisms of drug resistance: quinolone resistance. *Ann N Y Acad Sci.* 1354(1): 12–31.
- Jacoby GA. (2005). Mechanisms of resistance to quinolones. *Clin Infect Dis.* 15(41) Suppl 2:S120-6.
- Kaewpoowat Q, Ostrosky-Zeichner L. (2015). Tigecycline: A critical safety review. *Expert Opin Drug Saf.* 14(2):335-42.
- Kang AD, Smith KP, Eliopoulos GM, Berg AH, McCoy C, Kirby JE. (2017). In vitro Apramycin Activity against multidrug-resistant *Acinetobacter baumannii* and *Pseudomonas aeruginosa*. *Diagn Microbiol Infect Dis.* 88(2):188-191.
- Karabay O, Altindis M, Koroglu M, Karatuna O, Aydemir ÖA, Erdem AF. (2016). The carbapenem-resistant *Enterobacteriaceae* threat is growing: NDM-1 epidemic at a training hospital in Turkey. *Ann Clin Microbiol Antimicrob.* 9(15):6.

- Karageorgopoulos DE, Miriagou V, Tzouvelekis LS, Spyridopoulou K, Daikos GL. (2012). Emergence of resistance to fosfomycin used as adjunct therapy in KPC *Klebsiella pneumoniae* bacteraemia: Report of three cases. *J Antimicrob Chemother.* 67:2777–9
- Karlowsky JA, Biedenbach DJ, Kazmierczak KM, Stone GG, Sahm DF. (2016). Activity of ceftazidime-avibactam against extended-spectrum- and AmpC  $\beta$ -lactamase-producing Enterobacteriaceae collected in the INFORM global surveillance study from 2012 to 2014. *Antimicrob Agents Chemother.* 60(5):2849–57.
- Karvanen M, Malmberg C, Lagerbäck P, Friberg LE, Cars O. (2017). Colistin is extensively lost during standard in vitro experimental conditions. *Antimicrob Agents Chemother* 61:e00857-17.
- Kazmierczak KM, Bradford PA, Stone GG, de Jonge BLM, Sahm DF. (2018). In vitro activity of ceftazidime-avibactam and aztreonam-avibactam against OXA-48-carrying Enterobacteriaceae isolated as part of the International Network for Optimal Resistance Monitoring (INFORM) global surveillance program, 2012 to 2015. *Antimicrob Agents Chemother.* pii: AAC.00592-18.
- Khatri A, Naeger Murphy N, Wiest P, Osborn M, Garber K, Hecker M, Hurless K, Rudin SD, Jacobs MR, Kalayjian RC, Salata RA, van Duin D, Perez F, Bonomo RA, Paterson DL, Harris PN. (2015). Community-acquired pyelonephritis in pregnancy caused by KPC-Producing *Klebsiella pneumoniae*. *Antimicrob Agents Chemother.* 59:4375-8.
- Kitchel B, Rasheed JK, Patel JB, Srinivasan A, Navon-Venezia S, Carmeli Y, Brolund A, Giske CG. (2009). Molecular epidemiology of KPC-producing *Klebsiella pneumoniae* isolates in the United States: clonal expansion of multilocus sequence type 258. *Antimicrob Agents Chemother.* 53(8):3365-70.
- Kitchel B, Sundin DR, Patel JB. (2009). Regional dissemination of KPC producing *Klebsiella pneumoniae*. *Antimicrob Agents Chemother.* 53:4511–3. 58.



- Kumarasamy KK, Toleman MA, Walsh TR, Bagaria J, Butt F, Balakrishnan R, Chaudhary U, Doumith M, Giske CG, Irfan S, Krishnan P, Kumar AV, Maharjan S, Mushtaq S, Noorie T, Paterson DL, Pearson A, Perry C, Pike R, Rao B, Ray U, Sarma JB, Sharma M, Sheridan E, Thirunarayan MA, Turton J, Upadhyay S, Warner M, Welfare W, Livermore DM, Woodford N. (2010). Emergence of a new antibiotic resistance mechanism in India, Pakistan, and the UK: A molecular, biological, and epidemiological study, *Lancet Infect Dis.*10(9):597-602.
- Kuti JL, Dandekar PK, Nightingale CH, Nicolau DP. (2003). Use of Monte Carlo simulation to design an optimized pharmacodynamic dosing strategy for meropenem. *J Clin Pharmacol.* 43:1116–23.
- Kuwabara S, Abraham EP. (1967). Some properties of two extracellular beta-lactamases from *Bacillus cereus* 569/H, *Biochem J.* 103(3):27C-30C.
- Labarca J, Poirel L, Ozdamar M, Turkoglu S, Hakko E, Nordmann P. (2014). KPC-producing *Klebsiella pneumoniae*, finally targeting Turkey. *New Microbes New Infect.* 2(2):50-1.
- Lee CH, Lee JH, Park KS, Kim YB, Jeong BC, Lee SH. (2016). Global Dissemination of Carbapenemase-Producing *Klebsiella pneumoniae*: Epidemiology, Genetic Context, Treatment Options, and Detection Methods. *Front Microbiol.* 13(7):895.
- Lee GC, Burgess DS. (2012). Treatment of *Klebsiella pneumoniae* carbapenemase (KPC) infections: A review of published case series and case reports. *Ann Clin Microbiol Antimicrob.* 11:32.
- Lee J, Patel G, Huprikar S, Calfee DP, Jenkins SG. (2009). Decreased susceptibility to polymyxin B during treatment for carbapenem-resistant *Klebsiella pneumoniae* infection. *J Clin Microbiol.* 47:1611–2.

- Leite, G. C. (2015). Effect of antibiotics combination and comparison of methods for detection of synergism in multiresistant gram-negative bacteria. *Journal of Infectious Diseases and Therapy*. 3(2).
- Levasseur P, Girard AM, Miossec C, Pace J, Coleman K. (2015). In vitro antibacterial activity of the ceftazidime-avibactam combination against Enterobacteriaceae, including strains with well-characterized  $\beta$ -lactamases. *Antimicrob Agents Chemother*. 59(4):1931–4.
- Livermore DM, Warner M, Mushtaq S, Doumith M, Zhang J, Woodford N. (2011). What remains against carbapenem-resistant Enterobacteriaceae? Evaluation of chloramphenicol, ciprofloxacin, colistin, fosfomycin, minocycline, nitrofurantoin, temocillin and tigecycline. *Int J Antimicrob Agents*. 37(5):415-9.
- Lohans CT, Brem J, Schofield CJ. (2017). New Delhi Metallo- $\beta$ -lactamase 1 catalyzes avibactam and aztreonam hydrolysis. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*. 61(12) e01224-17
- Magiorakos AP, Srinivasan A, Carey RB, Carmeli Y, Falagas ME, Giske CG, Harbarth S, Hindler JF, Kahlmeter G, Olsson-Liljequist B, Paterson DL, Rice LB, Stelling J, Struelens MJ, Vatopoulos A, Weber JT, Monnet DL. (2012). Multidrug-resistant, extensively drug-resistant and pandrug-resistant bacteria: an international expert proposal for interim standard definitions for acquired resistance. *Clin Microbiol Infect*. 18(3):268-81.
- Matt T, Ng CL, Lang K, Sha SH, Akbergenov R, Shcherbakov D, Meyer M, Duscha S, Xie J, Dubbaka SR, Perez-Fernandez D, Vasella A, Ramakrishnan V, Schacht J, Böttger EC. (2012). Dissociation of antibacterial activity and aminoglycoside ototoxicity in the 4-monosubstituted 2-deoxystreptamine apramycin. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 109:10984–9.

- Merkier AK, Rodríguez MC, Togneri A, Brengi S, Osuna C, Pichel M, Cassini MH. (2013). Outbreak of a cluster with epidemic behavior due to *Serratia marcescens* after colistin administration in a hospital setting. *Centrón D J Clin Microbiol.* 51(7):2295-302.
- Meyer M, Freihofer P, Scherman M, Teague J, Lenaerts A, Böttger EC. (2014). In vivo efficacy of apramycin in murine infection models. *Antimicrob Agents Chemother.* 58(11):6938-41.
- Moore JE, Koulianos G, Hardy M, Misawa N, Millar BC. (2018). Antimycobacterial activity of veterinary antibiotics (Apramycin and Framycetin) against *Mycobacterium abscessus*: Implication for patients with cystic fibrosis. *Int J Mycobacteriol.* 7(3):265-267.
- Morrill HJ, Pogue JM, Kaye KS, LaPlante KL. (2015). Treatment options for carbapenem-resistant Enterobacteriaceae infections. *Open Forum Infect Dis.* 2;2:50.
- Munoz-Price LS, Poirel L, Bonomo RA Schwaber MJ, Daikos GL, Cormican M, Cornaglia G, Garau J, Gniadkowski M, Hayden MK, Kumarasamy K, Livermore DM, Maya JJ, Nordmann P, Patel JB, Paterson DL, Pitout J, Villegas MV, Wang H, Woodford N, Quinn JP. (2013). Clinical epidemiology of the global expansion of *Klebsiella pneumoniae* carbapenemases. *Lancet Infect Dis.* 13(9):785-96.
- Murray R, Rosenthal KS, Pfaller MA. (2009) *Medical Microbiology*. Tibbi Mikrobiyoloji 6th ed. Başustaoğlu AC. 2014. Atlas Kitapçılık, Ankara.
- Naas T, Nordmann P. Analysis of a carbapenem-hydrolyzing class A  $\beta$ -lactamase from *Enterobacter cloacae* and of its LysR-type regulatory protein. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 91:7693-7
- Nabarro LE, Veeraraghavan B. (2015). Combination therapy for carbapenem-resistant Enterobacteriaceae: Increasing evidence, unanswered questions, potential solutions, *Eur J Clin Microbiol Infect Dis.* 34(12):2307-11.

- Nicas TI, Hancock RE. (1983). Alteration of susceptibility to EDTA, polymyxin B and gentamicin in *Pseudomonas aeruginosa* by divalent cation regulation of outer membrane protein H1. *J Gen Microbiol.* 129:509-17.
- Nordmann P, Naas T, Poirel L. Global spread of Carbapenemase-producing Enterobacteriaceae, *Emerg Infect Dis.* 17(10):1791-8.
- Nordmann P, Poirel L. (2014). The difficult-to-control spread of carbapenemase producers among Enterobacteriaceae worldwide. *Clin Microbiol Infect.* 20(9):821-30.
- Nordmann P. (2014). Carbapenemase-producing Enterobacteriaceae: overview of a major public health challenge. *Med Mal Infect.* 44(2):51-6.
- Odds FC. (2003). Synergy, antagonism, and what the checkerboard puts between them *Journal of Antimicrobial Chemotherapy.* 52,1
- Ozbek B, Mataracı-Kara E, Er S, Ozdamar M, Yilmaz M. (2015). In vitro activities of colistin, tigecycline and tobramycin, alone or in combination, against carbapenem-resistant Enterobacteriaceae strains. *J Glob Antimicrob Resist.* 3(4):278-282.
- Papp-Wallace KM, Endimiani A, Taracila MA, Bonomo RA. (2011). Carbapenems: Past, Present, and Future. *Antimicrob Agents Chemother.* 55(11): 4943–4960.
- Partridge SR. (2015). Resistance mechanisms in Enterobacteriaceae. *Pathology.* 47(3):276-84.
- Paul M, Carmeli Y, Durante-Mangoni E, Mouton JW, Tacconelli E, Theuretzbacher U, Mussini C, Leibovici L. (2014). Combination therapy for carbapenem-resistant Gram-negative bacteria. *J Antimicrob Chemother.* 69:2305–9
- Peirano G, Ahmed-Bentley J, Woodford N, Pitout JD. (2011). New Delhi metallo-beta-lactamase from traveler returning to Canada. *Emerg Infect Dis.* 17:242–4.

- Petrosillo N, Giannella M, Lewis R, Viale P. (2013). Treatment of carbapenem resistant *Klebsiella pneumoniae*: The state of the art. *Expert Rev Anti Infect Ther.* 11:159–77.
- Petrosillo N, Ioannidou E, Falagas ME. (2008). Colistin monotherapy vs. combination therapy: evidence from microbiological, animal and clinical studies. *Clin Microbiol Infect.* 14(9):816-27.
- Poirel L, Héritier C, Tolün V, Nordmann P. (2004). Emergence of oxacillinase-mediated resistance to imipenem in *Klebsiella pneumoniae*. *Antimicrob Agents Chemother.* 48(1):15-22.
- Poirel L, Ozdamar M, Ocampo-Sosa AA, Türkoglu S, Ozer UG, Nordmann P. (2012). NDM-1-producing *Klebsiella pneumoniae* now in Turkey. *Antimicrob Agents Chemother.* 56(5):2784-5.
- Popovic M, Steinort D, Pillai S, Joukhadar C. Fosfomycin: an old, new friend? *Eur J Clin Microbiol Infect Dis.* 29:127–42.
- Prim N, Rivera A, Coll P, Mirelis B. (2018). Is Colistin Susceptibility Testing Finally on the Right Track? *Antimicrobial Agents and Chemotherapy.* 62(4): e02067-17
- Queenan AM, Bush K. (2007). Carbapenemases: The versatile  $\beta$ -lactamases. *Clin Microbiol Rev.* 20:440–58
- Qureshi ZA, Paterson DL, Potoski BA, Kilayko MC, Sandovsky G, Sordillo E, Polsky B, Adams-Haduch JM, Doi Y. (2012). Treatment outcome of bacteremia due to KPC-producing *Klebsiella pneumoniae*: Superiority of combination antimicrobial regimens. *Antimicrob Agents Chemother.* 56:2108–13.

- Roberts JA, Kirkpatrick CM, Roberts MS, Robertson TA, Dalley AJ, Lipman J. (2009). Meropenem dosing in critically ill patients with sepsis and without renal dysfunction: intermittent bolus versus continuous administration? Monte Carlo dosing simulations and subcutaneous tissue distribution. *J Antimicrob Chemother.* 64:142–50
- Ruppé É, Woerther PL, Barbier F. (2015). Mechanisms of antimicrobial resistance in Gram-negative bacilli. *Ann Intensive Care.* 5:21
- Sader H, Castanheira M, Mendes RE, Flamm RK, Farrell DJ, Jones RN. (2015). Ceftazidime-avibactam activity against multidrug-resistant *Pseudomonas aeruginosa* isolated in U.S. medical centers in 2012 and 2013. *Antimicrob Agents Chemother.* 59:3656-3659.
- Sader HS, Farrell DJ, Flamm RK, Jones RN. (2014). Variation in potency and spectrum of tigecycline activity against bacterial strains from U.S. medical centers since its approval for clinical use (2006 to 2012). (2014). *Antimicrob Agents Chemother.* 58:2274–80
- Saino Y, Kobayashi F, Inoue M, Mitsuhashi S. (1982). Purification and properties of inducible penicillin  $\beta$ -lactamase isolated from *Pseudomonas maltophilia*, *Antimicrob Agents Chemother.* 22(4):564-70.
- Salameh M, Abou Daher L, Chartouny M, Abi Hanna P. (2018). Colistin monotherapy v/s colistin combination therapy for treatment of *Acinetobacter* infections, a systematic review. *J Infect Dev Ctries.* 12:23S.
- Samra Z, Ofir O, Lishtzinsky Y, Madar-Shapiro L, Bishara J. (2007). Outbreak of carbapenem-resistant *Klebsiella pneumoniae* producing KPC-3 in a tertiary medical centre in Israel, *Int J Antimicrob Agents.* 30(6):525-9.

- Sandri AM, Landersdorfer CB, Jacob J, Boniatti MM, Dalarosa MG, Falci DR, Behle TF, Bordinhão RC, Wang J, Forrest A, Nation RL, Li J, Zavascki AP. (2013). Population pharmacokinetics of intravenous polymyxin B in critically ill patients: implications for selection of dosage regimens. *Clin Infect Dis.* 2013; 57:524–31
- Sarah M. Drawz and Robert A. Bonomo (2010). Three decades of beta-lactamase inhibitors. *Clinical microbiology reviews.* 23(1):160-201
- Satlin MJ, Kubin CJ, Blumenthal JS, Cohen AB, Furuya EY, Wilson SJ, Jenkins SG, Calfee DP. (2011). Comparative effectiveness of aminoglycosides, polymyxin B, and tigecycline for clearance of carbapenem-resistant *Klebsiella pneumoniae* from urine. *Antimicrob Agents Chemother.* 55:5893–9.
- Sbrana F, Malacarne P, Viaggi B, Costanzo S, Leonetti P, Leonildi A, Casini B, Tascini C, Menichetti F. (2013). Carbapenem-sparing antibiotic regimens for infections caused by *Klebsiella pneumoniae* carbapenemase-producing *K. pneumoniae* in intensive care unit. *Clin Infect Dis.* 56:697–700.
- Scaife W, Young HK, Paton RH, Amyes SG. (1995). Transferable imipenem-resistance in *Acinetobacter* species from a clinical source, *J Antimicrob Chemother.* 36(3):585-6.
- Seiffert SN, Marschall J, Perreten V, Carattoli A, Furrer H, Endimiani A. (2014). Emergence of *Klebsiella pneumoniae* co-producing NDM-1, OXA-48, CTX-M-15, CMY-16, QnrA and ArmA in Switzerland. *International Journal of Antimicrobial Agents.* 44(3):260-262
- Shortridge D, Pfaller MA, Castanheira M, Flamm RK. (2018). Antimicrobial activity of ceftolozane-tazobactam tested against Enterobacteriaceae and *Pseudomonas aeruginosa* collected from patients with bloodstream infections isolated in United States hospitals (2013-2015) as part of the Program to Assess Ceftolozane-Tazobactam Susceptibility (PACTS) surveillance program. *Diagn Microbiol Infect Dis.* 92(2):158-163.

- Smith KP, Kirby JE. (2016). Evaluation of apramycin activity against carbapenem-resistant and susceptible strains of Enterobacteriaceae. *Diagnostic Microbiology and Infectious Disease*. 86(4):439-441
- Souli M, Rekatsina PD, Chryssouli Z, Galani I, Giamarellou H, Kanellakopoulou K. (2009). Does the Activity of the Combination of Imipenem and Colistin In Vitro Exceed the Problem of Resistance in Metallo-Beta-Lactamase-Producing *Klebsiella pneumoniae* Isolates? *Antimicrob Agents Chemother*. 53(5):2133-5.
- Strahilevitz J, Jacoby GA, Hooper DC, Robicsek A. (2009). Plasmid-mediated quinolone resistance: A multifaceted threat. *Clin Microbiol Rev*. 22(4):664-89.
- Stuart JC, Hall MAL. (2010). Guideline for phenotypic screening and confirmation of carbapenemases in Enterobacteriaceae. *International Journal of Antimicrobial Agents*. 36(3):205-210
- Tumbarello M, Viale P, Viscoli C, Treccarichi EM, Tumietto F, Marchese A, Spanu T, Ambretti S, Ginocchio F, Cristini F, Losito AR, Tedeschi S, Cauda R, Bassetti M. (2012). Predictors of mortality in bloodstream infections caused by *Klebsiella pneumoniae* carbapenemase producing *K. pneumoniae*: importance of combination therapy. *Clin Infect Dis*. 55:943–50.
- Turkish Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases, Healthcare-related Infections Study Group. (2018). Rapid emergence of colistin resistance and its impact on fatality among healthcare-associated infections. *J Hosp Infect*. 98(3):260-263.
- Tzouvelekis LS, Markogiannakis A, Piperaki E, Souli M, Daikos GL. (2014). Treating infections caused by carbapenemase-producing Enterobacteriaceae. *Clin Microbiol Infect*. 20:862–72.



- Van Duin D, Bonomo RA. (2016). Ceftazidime/Avibactam and Ceftolozane/Tazobactam: Second-generation  $\beta$  lactam/ $\beta$ -lactamase inhibitor combinations. *Clin Infect Dis.* 63(2):234-41.
- Van Duin D, Kaye KS, Neuner EA, Bonomo RA. (2013). Carbapenem-resistant Enterobacteriaceae: A review of treatment and outcomes. *Diagn Microbiol Infect Dis.* 75:115-20.
- Van Duin D, Paterson DL. (2016). Multidrug-resistant bacteria in the community: Trends and lessons learned. *Infect Dis Clin North Am.* 30:377-90.
- Viale P, Giannella M, Tedeschi S, Lewis R. (2015). Treatment of MDR-Gram negative infections in the 21st century: A never ending threat for clinicians. *Current Opinion in Pharmacology.* 24:30-7
- Walsh TR. (2005). The emergence and implications of metallo- $\beta$ -lactamases in Gram-negative bacteria, *Clin Microbiol Infect.* 11(Suppl 6):2-9.
- Yigit H, Queenan AM, Anderson GJ, Domenech-Sanchez A, Biddle JW, Steward CD, Alberti S, Bush K, Tenover FC. (2001). Novel carbapenem-hydrolyzing  $\beta$ -lactamase, KPC-1, from a carbapenem-resistant strain of *Klebsiella pneumoniae*, *Antimicrob Agents Chemother.* 45(4):1151-61.
- Zagorianou A, Sianou E, Iosifidis E, Dimou V, Protonotariou E, Miyakis S, Roilides E, Sofianou D. (2012). Microbiological and molecular characteristics of carbapenemase-producing *Klebsiella pneumoniae* endemic in a tertiary Greek hospital during 2004-2010. *Euro Surveill.* 16; 17(7).
- Zarkotou O, Pournaras S, Tselioti P, Dragoumanos V, Pitiriga V, Ranellou K, Prekates A, Themeli-Digalaki K, Tsakris A. (2011). Predictors of mortality in patients with bloodstream infections caused by KPC-producing *Klebsiella pneumoniae* and impact of appropriate antimicrobial treatment. *Clin Microbiol Infect.* 17:1798–803.

Zavascki AP, Bulitta JB, Landersdorfer CB. (2013). Combination therapy for carbapenem-resistant Gram-negative bacteria. *Expert Rev Anti Infect Ther.* 11(12):1333-1353.


Zhang Y, Wang Q, Yin Y, Chen H, Jin L, Gu B, Xie L, Yang C, Ma X, Li H, Li W, Zhang X, Liao K, Man S, Wang S, Wen H, Li B, Guo Z, Tian J, Pei F, Liu L, Zhang L, Zou C, Hu T, Cai J, Yang H, Huang J, Jia X, Huang W, Cao B, Wang H. (2018). Epidemiology of carbapenem-resistant Enterobacteriaceae infections: Report from the China CRE Network. *Antimicrob Agents Chemother* 62:e01882-17.




## EKLER

### Ek 1. Sakarya Üniversitesi Etik Kurulu Onayı

02/10/2017-E.14744





T.C.  
SAKARYA ÜNİVERSİTESİ REKTÖRLÜĞÜ  
Tıp Fakültesi Dekanlığı

Sayı : 71522473/050.01.04/ *175*  
Konu : Girişimsel Olmayan Etik Kurul  
Başvuru Dosyası Hk.

Sayın Prof. Dr. Mustafa ALTINDIŞ  
Sakarya Üniversitesi Tıp Fakültesi  
Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı

İlgi : 16.08.2017 tarihli 160 sayılı başvurunuz.

Destekleyicisi olduğunuz "Karbapenemaz üreten Enterobacteriaceae kökenlerinde çeşitli antibiyotik kombinasyonlarının in vitro etkinliklerinin araştırılması" isimli çalışmanın ilgili belgeler araştırmanın gerekçe, amaç, yaklaşım ve yöntemleri dikkate alınarak incelenmiş olup; çalışmanın başvuru dosyasında belirtilen şekilde etik ve bilimsel açıdan sakınca bulunmadığına etik kurul üyelerince karar verilmiştir.

Bilgilerinize rica ederim.





**Prof.Dr. Hasan Çetin EKERBİÇER**  
Etik Kurulu Başkanı

**Yücel DEMİR**  
Etik Kurulu Sekr.  
*Yücel Demir*

Güvenli Elektronik  
İmzalı Aslı İle Aynıdır.  
*02.10.2017*

Evrakı Doğrulamak İçin : <http://193.140.253.232/envision.Sorgula/BelgeDogrulama.aspx?V=BEL54D154>

Fakülte Girişimsel Olmayan Etik Kurulu Sakarya Üniversitesi Tıp Fakültesi  
Dekanlığı, Korucuk Kampüsü, Korucuk, Adapazarı/Sakarya  
Tel:264 295 6630 Faks:264 295 6629  
E-Posta :tip@sakarya.edu.tr Elektronik Ağ :www.tip.sakarya.edu.tr



Bu belge 5070 sayılı Elektronik İmza Kanununun 5. Maddesi gereğince güvenli elektronik imza ile imzalanmıştır.

# ÖZGEÇMİŞ

## I- Bireysel Bilgiler

Adı-Soyadı: Ümit KILIÇ

Doğum yeri ve tarihi: Gaziantep-1988

Uyruğu: T.C.

Medeni durumu: Bekar

Askerlik durumu: Sınıf ve tertibat bekliyor.

İletişim adresi ve telefonu: Serdivan/Sakarya, 05309608787

Yabancı dili: İngilizce

## II- Eğitimi (tarih sırasına göre yeniden eskiye doğru)

2014- Sakarya Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Uzmanlık eğitimi

2006-2012, İstanbul Üniversitesi, İstanbul Tıp Fakültesi, İstanbul Tıp Bölümü

2002-2005, Kahramanmaraş, Süleyman Demirel Fen Lisesi

## III- Ünvanları (tarih sırasına göre eskiden yeniye doğru)

2012-2014, Dr.

2014- Araştırma Görevlisi Dr.

## IV- Mesleki Deneyimi

2012-2014, Devlet Hizmet Yükümlülüğü kapsamında Bakırkör Toplum Sağlığı Merkezinde pratisyen doktorluk

2014- Sakarya Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, uzmanlık eğitimi

## V- Üye Olduğu Bilimsel Kuruluşlar

Viral Hepatitle Savaşım Derneği

## VI- Bilimsel İlgi Alanları

### Yayımları:

### Makaleler

- 1- Kılıç Ü, Demiray T, Altındış M. (2016). Karbapenemaz üreten Enterobacteriaceae izolatlarının saptanmasında fenotipik ve genotipik metotlar. ANKEM Derg 2016;30(2):62-75

- 2- Altındış M, Elmas B, Kılıç Ü, Aslan FG, Küçükpara G, Köroğlu M. (2017). Loop-Mediated Isothermal Amplification PCR (LAMP-PCR) For Rapid Molecular Diagnosis of Group A Streptococci, J Biotechnol and Strategic Health Res. 2017;1:11-16
- 3- Yılmaz K, Demiray T, Kılıç Ü, Köroğlu M, Altındış M. (2017). A Case of Meningitis and Brain Abscess Due to Streptococcus constellatus. J Biotechnol and Strategic Health Res. 2017;1:31-33
- 4- Hatipoğlu H, Kilbas İ, Kılıç U, Yılmaz K, Koroglu M, Altındis M. (2018). Çoklu ilaca dirençli Acinetobacter baumannii suşlarında kolistin ve sulbaktamın sinerjik etkinliğinin gradient şerit test yöntemi ile araştırılması. Mediterr J Infect Microb Antimicrob 2018;7:Sup1:SS-172
- 5- Polat ZM, Altındış M, Aslan FG, İnci MB, Kılıç Ü, Demiray T, Altındış S, Toptan H, Köroğlu M, Çıkrıklar Hİ. (2018). Ambulans Kaynaklı Enfeksiyonlar ve Hijyen. Sdü Sağlık Bilimleri Enstitüsü Dergisi / Cilt 9 Sayı 2 / 2018
- 6- Kılıç Ü, Altındış M. (2017). Antibiyotik Kullanımı ve Mikrobiyota Journal Of Biotechnology And Strategic Health Research, 2017, Cilt 1, Sayı,S.39-43

#### **Posterler**

- 1- Altındış M, Demiray T, Köroğlu M, Kılıç Ü, Aybala AN, Karabay O. (2016). Comparison of Novel Blood Culture System DL-Bt112TM with BacT/Alert 3DTM. 26th European Congress of Clinical Microbiology and Infectious Diseases (Poster) Amsterdam, Apr, 2016
- 2- Demiray T, Altındış M, Akkaya-Aydemir Ö, Kılıç Ü, Köroğlu M. (2015). Comparison of combined disc test and Modified Hodge method in clinical isolates of NDM-1+OXA-48 positive Klebsiella Pneumoniae, The 7th

Eurasia Congress of Infectious diseases (poster) Tbilisi, September-October, 2015

- 3- Gün R, Özbayraktar S, Demiray T, Köröglü M, Çiftçi İH, Kılıç Ü, Altındış M. (2015). Son beş yılda, Kızılay' dan kan ve kan ürünler temin etme oranları; Sakarya, 8. Ulusal Kan Merkezleri ve Transfüzyon Tıbbı Kongresi (poster), Antalya,2015
- 4- Aydemir Ö, Demiray T, Köröglü M, Terzi HA, Kılıç Ü, Özbek A, Altındış M. (2015). Klinik materyallerden izole edilen Candida izolatları ve antifungal duyarlılıklarının araştırılması, 3. Ulusal Klinik Mikrobiyoloji Kongresi (poster), 2015
- 5- Yılmaz K, Demiray T, Köröglü M, Kılıç Ü, Karabay O, Şahin K, Altındış M. (2016). Germ Tube Test for the Rapid Discrimination of Candida albicans from Non-albicans Species by from Positive Blood Culture Bottles. GCCMID Kongresi (poster), Dubai, Mayıs, 2016
- 6- Yılmaz K, Demiray T, Aydemir Ö, Kılıç Ü, Köröglü M, Çakmak G, Özbek A, Altındış M. (2016). Streptococcus anginosus'un neden olduğu primer peritonit olgusu. 6. Türkiye EKMUD Kongresi (poster), Antalya, Mayıs, 2016
- 7- Kılıç Ü, Demiray T, Yılmaz K, Aydemir Ö, Köröglü M, Özbek A, Uslu-Yuvacı H, Altındış M. (2016). Gebelerde HBsAg, Anti-HCV ve Anti- HIV 1/2 seroprevelansı; Sakarya. 6. Türkiye EKMUD Kongresi (Poster), Antalya, Mayıs, 2016
- 8- Yılmaz K, Demiray T, Aydemir Ö, Kılıç Ü, Köröglü M, Özbek A, Altındış M. (2016). Kan Kültürlerinden İzole Edilen Pseudomonas aeruginosa ve Acinetobacter baumannii İzolatlarının Antibiyotik Direnç Oranları; Sakarya. 6. Türkiye EKMUD Kongresi (poster), Antalya, Mayıs, 2016

- 9- Demiray T, Aydemir Ö, Kılıç Ü, Yılmaz K, Köroğlu M, Özbek A, Altındış M. (2016). Karbapenemaz İnaktivasyon Testinin Karbapenem Dirençli Klebsiella pneumoniae İzolatlarında Tanısal Değerinin İrdelenmesi. 31. ANKEM Kongresi (poster), Muğla, Mayıs, 2016
- 10- Aydemir Ö, Terzi HA, Demiray T, Karakeçe E, Kılıç Ü, Köroğlu M, Altındış M. (2016). Kan Kültürlerinden İzole Edilen Gram Negatif Mikroorganizmalar ve Antibiyotik Duyarlılıkları; Beş Yıllık Sakarya Verileri. 31. ANKEM Kongresi (poster), Muğla, Mayıs, 2016
- 11- Altındış M, Demiray T, Köroğlu M, Kılıç Ü, Aybala AN, Öğütlü A, Karabay O. (2016). Yeni Bir Otomatize Kan Kültür Sistemi Olan DL-Bt112'nin BacT/Alert 3D ile Kıyaslanması. 31. ANKEM Kongresi (poster), Muğla, Mayıs, 2016
- 12- Yılmaz K, Demiray T, Köroğlu M, Kılıç Ü, Özbek A, Karabay O, Altındış M. (2016). Direkt Kan Kültür Şişesinden Yapılan Germ Tüp Testi ile Candida albicans ve albicans-dışı Candida İzolatlarının Hızlı Tanımlanması. 12. Antimikrobik Kemoterapi Günleri (poster), İstanbul, Nisan, 2106
- 13- Yılmaz K, Özbek A, Köroğlu M, Kılıç Ü, Demiray T, Terzi HA, Altındış M. (2016). Pediatrik Yaş Grubunda Hepatit B ve C Virüsü Seroprevalansı; Sakarya;13. Ulusal Viral Hepatit Kongresi (poster),
- 14- Altındış M, Elmas B, Kılıç Ü, Aslan FG, Küçükkara G, Köroğlu M. (2017). Grup A Streptokokların (GAS) Hızlı Moleküler Tanısında Loop-Mediated Isothermal Amplification PCR (LAMP-PCR), 6. Türkiye EKMUD Bilimsel Platformu (poster), Nisan 2017

- 15-Demiray T, Koroglu M, Kilic U, Yilmaz K, Ozbek A, Altindis M. (2017).  
Detection and clinical implicaitons of biofilm formation among clinical  
isolates of Sphingomonas paucimobilis, 27. ECCMID Kongresi (poster),  
2017, Viyana
- 16-Kahraman EP, Aydemir Ö, Toptan H, Kılıç Ü, Köroğlu M, Altındış M.  
Klebsiella pneumoniae suşlarının karbapenem duyarlılığının sıvı  
mikrodilusyonve otomatize sistem ile karşılaştırılması. 13. Antimikrobik  
Kemoterapi Günleri, 6-8 Nisan 2018

### **Olgu sunumu**

- 1- Kılıç Ü, Demiray T, Teoman E, Yılmaz K, Köroğlu M, Altındış M. (2016).  
Tipik olmayan öykü ile gelen bir paraziter deri enfestasyonu olgusu [A case  
of parasitic skin infestation presented with non-typical patient history],  
Online Türk Sağlık Bilimleri Dergisi, Haziran 2016;1(2)-34-37 (Vaka  
Takdimi)

### **VII- Bilimsel Etkinlikleri**

Aldığı burslar

Ödüller

Projeleri

Verdiği konferans ya da seminerler

Katıldığı paneller (panelist olarak)

### **VIII- Diğer Bilgiler**

Eğitim programı haricinde aldığı kurslar ve katıldığı eğitim seminerleri

- 1- Laboratuvardan Kliniğe: Antibiyotik Duyarlılık Testleri ve Direnç  
Mekanizmaları Kursu, 9-10 Eylül 2017, İstanbul
- 2- “Kan Parazitleri Tanı Kursu” 3 Eylül 2016, İstanbul

**Organizasyonunda katkıda bulunduğu bilimsel toplantılar**

**Diğer üyelikleri**



