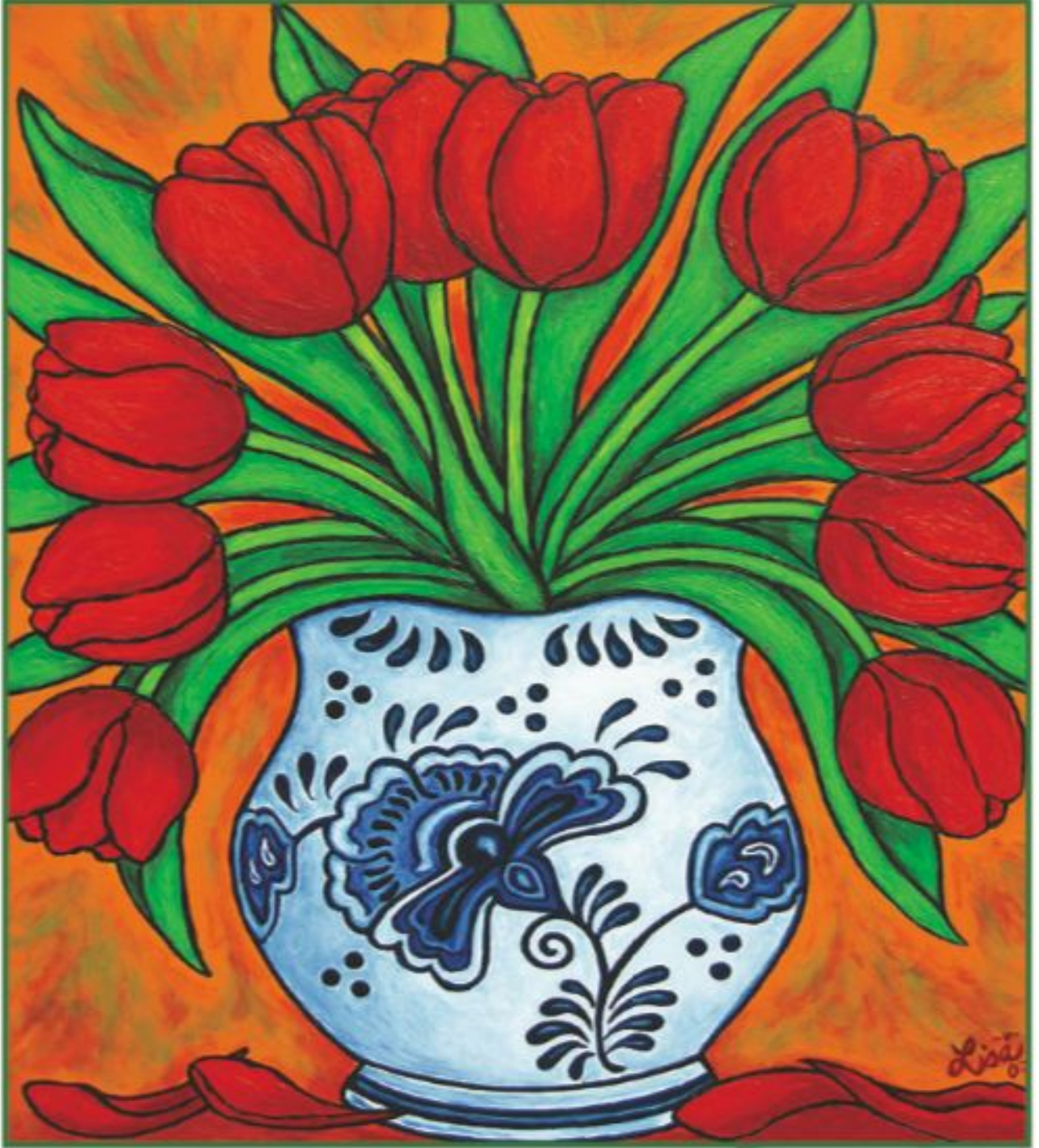




# 11. ANTİMİKROBİK KEMOTERAPİ GÜNLERİ

18 - 20 Nisan 2014, Askeri Müze, Harbiye - İstanbul



Program ve Bildiri Özeti Kitabı



# 11. ANTİMİKROBİK KEMOTERAPİ GÜNLERİ

18 -20 NİSAN 2014  
ASKERİ MÜZE, İSTANBUL

## PROGRAM VE ÖZET KİTABI

### EDİTÖRLER

M. Ufuk Hasdemir  
Onur Karatuna  
Deniz Gür  
Şöhret Aydemir  
Zeynep Gülay  
Çiğdem Kayacan  
İftihar Köksal  
Güner Söyletir

Türk Mikrobiyoloji Cemiyeti (TMC), ATDS Çalışma Grubu,  
Klinik Mikrobiyoloji Uzmanlık Derneği (KLİMUD)

Bilimsel Katkılarıyla



**Kapak Resmi:**

Lisa Lorens

# DÜZENLEME KURULU

**Sempozyum Başkanı:** M. Ufuk HASDEMİR

**ADTS Başkanı:** Deniz GÜR

**Sempozyum Sekreteri:** Onur KARATUNA

Güner SÖYLETİR

Zeynep GÜLAY

Çiğdem KAYACAN

İftihar KÖKSAL

Şöhret AYDEMİR

## TMC Yönetim Kurulu Üyeleri

**Başkan:** Nezahat GÜRLER

**Genel Sekreter:** Şöhret AYDEMİR

**Sayman:** Güven KÜLEKÇİ

Güliden ÇELİK

Deniz GÜR

Cüneyt ÖZAKIN

Bülent SÜMERKAN

## KLİMUD Yönetim Kurulu Üyeleri

**Başkan:** Faruk AYDIN

**Genel Sekreter:** Burçin ŞENER

**Sayman:** Berrin ESEN

Hakan ABACIOĞLU

Fahri Yüce AYHAN

Aynur EREN TOPKAYA

Güner SÖYLETİR

## BİLİMSEL KURUL\*

Erdal AKALIN

Murat AKOVA

Yurdanur AKGÜN

Derya AYDIN

Ahmet BAŞUSTAOĞLU

Nilay ÇÖPLÜ

Mine DOLUCA DERELİ

Sesin KOCAGÖZ

Tanıl KOCAGÖZ

Volkan KORTEN

Betigül ÖNGEN

Meral ÖZALP

Mustafa ÖZYURT

Bülent SÜMERKAN

Burçin ŞENER

İnci TUNCER

Ferda TUNÇKANAT

Nurver ÜLGER

\* İsimler, soyadı sırasına göre verilmiştir.

## DESTEKLEYEN KURULUŐLAR

**BD**

**Ala Sağlık Hizmetleri A.Ő.**

**Bio Merieux**

**Biomina Ltd. Őti**

**Siemens**

**Bio-Rad**

**ATQ**

*Organizasyon Komitesi olarak teŐekkür ederiz.*



# ÖNSÖZ

Değerli Meslektaşlarımız,

Bu yıl 11.sini gerçekleştireceğimiz geleneksel Antimikrobik Kemoterapi Günleri'nin yaklaşmış olması nedeniyle oldukça heyecanlıyız. Antibiyotik direncinin dünya çapında önemli bir tehdit olduğu günümüzde, 11. AKG bilimsel programını hazırlarken; antibiyotik direncinin kontrolünü sağlamada ve gelecekteki antimikrobiyal tedavi yaklaşımlarında bilim dünyasının tartıştığı konuları, şu an ve gelecekte yapabileceklerimizi sizlerle paylaşmak temel amacımız olmuştur. Özel mikroorganizma grupları dahil klinik önemi olan mikroorganizmalarda antibiyotik direncine yol açan mekanizmalar, ulusal ve uluslararası sürveyans verilerinin ışığında direnç epidemiyolojisi her zamanki gibi programımızdaki etkin yerlerini almıştır.

Bildiğiniz üzere 2014 yılı ülkemiz için antimikrobiyal duyarlılık testleri standardizasyonunda bir değişim yılı olacaktır. 11. AKG bu yönüyle de büyük önem taşımakta olup toplantımızda CLSI'den EUCAST'a geçiş süreci detaylı olarak tartışılacak, interaktif oturumlarla olgular bazında antibiyotik duyarlılık testlerinin uygulamasından sonuç raporuna tüm yönleri sizlerle paylaşılmaya çalışılacaktır. Interaktif oturumlara programımızda önemli yer vermemizin ana nedeni, bu sayede siz meslektaşlarımızın da çok değerli katkılarının, katılımcılarla paylaşılmasına olanak sağlamaktır.

Değerli çalışmalarınızın toplantımızı taçlandıracağına olan inancımızı da son olarak ifade ederek, 18 Nisan'da 11. Antimikrobik Kemoterapi Günleri'nde buluşmak üzere diyoruz.

Saygılarımızla,

Düzenleme Kurulu adına,

**M. Ufuk HASDEMİR**  
*Sempozyum Başkanı*

**Onur KARATUNA**  
*Sempozyum Sekreteri*

**Deniz GÜR**  
*ADTS Başkanı*





# İÇİNDEKİLER

**BİLİMSEL PROGRAM**..... **XVII**

**GENEL BİLGİLER**..... **XXII**

## **KONUŞMA METİNLERİ**

**Geleceğin Antimikrobiyal Tedavi Vizyonu** ..... **3**

*H. Erdal AKALIN*

**Yeni Antimikrobiyaller** ..... **6**

*Neşe SALTOĞLU*

**Yeni Antimikrobiyaller İçin Yeni Hedefler**..... **14**

*Tanıl KOCAGÖZ*

**Karbapenemazların Başarısı: Plazmidler ve Klonlar** ..... **18**

*Zeynep GÜLAY*

**Polimiksin Direnci: Neredeyiz?** ..... **23**

*Şöhret AYDEMİR*

**Aktif Pompa ve Porin Kaybı: Tehdit Mi?** ..... **25**

*M. Ufuk HASDEMİR*

**Dirençli Gram Pozitif Koklar: Sakın Kaçırmayın!**..... **32**

*Burçin ŞENER*

**Biyofilm Oluşturan Bakteri İnfeksiyonları** ..... **36**

*İftihar KÖKSAL*

**Cerrahi Enfeksiyonlar**..... **39**

*A.Özdemir AKTAN*

**Febril Nötropenik Hastaya Başlangıç Yaklaşımı** ..... **40**

*Volkan KORTEN*

**Clinical Relevance Of Molecular Detection Of Carbapenemases**..... **43**

*Pierre BOGAERTS Ir PhD*

**Türkiye’de CLSI ‘Dan Eucast’a Geçiş** ..... **46**

*Deniz GÜR*

**Direnç Mekanizmalarının Saptanmasında Eucast Önerileri** ..... **48**

*Onur KARATUNA*

**Antimikrobiyal Duyarlılık Testi Sonuçları: Eucast Uzman Kurallar, Yorumlu ve Kısıtlı Bildirim** ..... **59**

*Güner SÖYLETİR*

**Ulusal ve Uluslararası Antimikrobiyal Direnç Süveyans Çalışmaları**..... **62**

*Hüsnüye ŞİMŞEK*

<b>Sürveyans Verilerinin Mikrobiyoloji Laboratuvar Uygulamalarındaki Etkisi</b> .....	<b>66</b>
<i>Nilay ÇÖPLÜ</i>	
<b>Sürveyans Verilerinin Klinisyenin Tedavi Yaklaşımına Etkisi</b> .....	<b>70</b>
<i>Oral ÖNCÜL</i>	
<b>MastDiscs™ - Eucast Compliance and Multidrug Resistance Detection/Classification</b> .....	<b>75</b>
<i>Susan THOMSON</i>	
<b>Anaerob Bakterilerde Antibiyotiklere Direnç Saptayalım mı, Nasıl?</b> .....	<b>76</b>
<i>F. Ferda TUNÇKANAT</i>	
<b>Antifungal Direnç Mekanizmaları ve Duyarlılık Testleri</b> .....	<b>78</b>
<i>Nilgün ÇERİKÇİOĞLU</i>	
<b>Antimikobakteriyel Direnç Mekanizmaları ve Duyarlılık Testleri</b> .....	<b>88</b>
<i>Nuri ÖZKÜTÜK</i>	
<b>Dışkı Patojenlerinde Direnç Mekanizmaları ve Duyarlılık Testleri</b> .....	<b>94</b>
<i>Betigül ÖNGEN</i>	

## POSTER SUNUMLARI

<b>PP-01</b>	<b>Daptomisin Vankomisine Dirençli Enterokoklara (VRE) in-vitro Etkinliği</b> <i>Gülseren Aktaş, Şengül Derbentli</i> .....	<b>111</b>
<b>PP-02</b>	<b>Hacettepe Üniversitesi Pediatrik Gastroenteroloji Bölümüne Başvuran Hastalardan İzole Edilen <i>Helicobacter pylori</i> suşlarının Antibiyotik Direnç Paternlerinin Belirlenmesi</b> <i>Salih Maçin, Hülya Demir, Hasan Özen, Aysel Yüce, Yakut Akyön Yılmaz</i> .....	<b>112</b>
<b>PP-03</b>	<b>Bingöl İli'nde 2011-2013 Yılları Arasında Görülen Bruselloz Seroprevalansı</b> <i>Esin Doğanekin, Akif Doğanekin</i> .....	<b>113</b>
<b>PP-04</b>	<b>Bingöl Devlet Hastanesi Yoğun Bakım Ünitesinde Yatan Hastaların Çeşitli Klinik Örneklerinden İzole Edilen Mikroorganizmalar ve Antibiyotik Duyarlılıkları</b> <i>Esin Doğanekin, Akif Doğanekin</i> .....	<b>114</b>
<b>PP-05</b>	<b>İlaç, Kozmetik ve Gıda Ürünlerinde Kullanılan Bazı Koruyucuların Antimikrobiyal ve Antibiyofil Etkisinin Araştırılması</b> <i>Nihal Güven, Fatma Kaynak Onurdağ</i> .....	<b>115</b>
<b>PP-06</b>	<b>İdrar Örneklerinden İzole Edilen <i>E.coli</i> Suşlarının Fosfomisin Duyarlılığı</b> <i>Serap Süzük, Havva Avcıküçük, Banu Kaşkatepe, Mehmet Kavak</i> .....	<b>117</b>
<b>PP-07</b>	<b>İdrar Kültürlerinden İzole Edilen <i>Escherichia Coli</i> İzolatlarının Antibiyotik Duyarlılıkları</b> <i>Elif Beyaz</i> .....	<b>118</b>
<b>PP-08</b>	<b>Antibiyotik Duyarlılık Testi Kalite Kontrol Çalışmalarının 1 Yıllık Performans Değerlendirmesi</b> <i>Serap Süzük, Havva Avcıküçük, Banu Kaşkatepe, Mehmet Kavak</i> .....	<b>120</b>

PP-09	<b>Klinik <i>Acinetobacter baumannii</i> İzolatlarında Karbapenem Direncine Yol Açan Sınıf-D Beta-laktamazların Araştırılması</b> Iskandar Davandeh, Bayrı Erç, Şöhret Aydemir ..... 121
PP-10	<b>Geriatrik Popülasyonda İdrar Yolu Enfeksiyonlarının Değerlendirilmesi</b> Filiz Pehlivanoğlu, Gönül Şengöz, Meyha Şahin ..... 124
PP-11	<b>NDM-1 Tipi Metallo-β-Laktamaz Enziminin Mutasyonel Analizi</b> Azer Özad Düzgün, Cemal Sandallı, Ayşegül Çopur Çiçek ..... 125
PP-12	<b>VIM-38 Tipi Metallo-β-Laktamaz Enziminin Moleküler Karakterizasyonu ve Mutasyonel Analizi</b> Azer Özad Düzgün, Cemal Sandallı, Ayşegül Çopur Çiçek ..... 127
PP-13	<b>İdrar Kültürlerinden İzole Edilen <i>Escherichia coli</i> suşları'nın Antibiyotik Duyarlılık Paterni</b> Meryem İraz, Bilge Gültepe, Ayşenur Ceylan, Mehmet Ziya Doymaz ..... 128
PP-14	<b>Atık Sulardan İzole Edilen Mikroorganizmalara Karşı Çeşitli antibiyotiklerinin in vitro Antimikrobiyal ve Antibiyofilim Aktivitelerinin Belirlenmesi</b> Merve Bilgin, Sibel Döşler, Gülten Ötük ..... 129
PP-15	<b>Hastane Kaynaklı <i>S. aureus</i> İzolatlarında Antimikrobiyal Direncin Değerlendirilmesi</b> Fulya Bayındır Bilman, Mine Turhanoglu, Arzu Onur, Zeynep Ayaydın, Gülseren Samancı Aktar ..... 130
PP-16	<b>Klinik Örneklerden İzole Edilen <i>Streptococcus pneumoniae</i> Suşlarında Antibiyotik Direnç Profilinin Değerlendirilmesi</b> Barış Derya Erçal, Safiye Delice, Elife Berk, Ömür Mustafa Parkan, Murat Karauz, Demet Timur, Dinçer Koç, Duygu Perçin Renders, Hüseyin Kılıç ..... 132
PP-17	<b>Klinik <i>Stenotrophomonas maltophilia</i> İzolatlarının Antibiyotiklere Direnç Durumu</b> Ömür Mustafa Parkan, Elife Berk, Barış Derya Erçal, Mustafa Altay Atalay, Demet Timur, Safiye Delice, Murat Karauz, Sebahat Yağan, Duygu Perçin Renders, Hüseyin Kılıç ..... 133
PP-18	<b>GES-22 Tipi Beta Laktamazın Karakterizasyonu</b> Ayşegül Saral, Cemal Sandallı, Ayşegül Çopur Çiçek ..... 134
PP-19	<b><i>Shigella</i> İzolatlarının Türlere Göre Dağılımı ve Antibiyotik Duyarlılık Profilleri</b> Murat Karauz, Barış Derya Erçal, Elife Berk, Mustafa Altay Atalay, Safiye Delice, Demet Timur, Ömür Mustafa Parkan, Canan Şanlı, Duygu Perçin Renders, Hüseyin Kılıç ..... 136
PP-20	<b>Çeşitli Klinik Örneklerden İzole Edilen Stafilokok Suşlarında Metisilin Direnci ve Slime İlişkisi</b> Banu Kaşkatepe, Şükran Öztürk, Sulhiye Yıldız ..... 137
PP-21	<b>Kan Kültürlerinden İzole Edilen <i>Escherichia coli</i> ve <i>Klebsiella pneumoniae</i> İzolatlarında Genişlemiş Spektrumlu beta-laktamaz Sıklığı ve Bazı Antibiyotiklere Direnç Oranları</b> Aşiye Altınöz Aytar, Emel Çalıışkan, Gülsüm Biten Güven, Elif Kaş ..... 138

PP-22	<b>Kan Kültürlerinden İzole Edilen <i>Pseudomonas Aeruginosa</i> Suşlarının Antibiyotiklere Duyarlılıkları</b> Demet Timur, <u>Barış Derya Erçal</u> , Elife Berk, Esmâ Gündüz Kaya, Ömür Mustafa Parkan, Safiye Delice, Murat Karauz, Kasım Karacagil, Duygu Perçin Renders, Hüseyin Kılıç ..... 139
PP-23	<b>Toplum Kaynaklı Üriner Sistem İnfeksiyonuna Neden Olan <i>E. coli</i> ve <i>Klebsiella spp.</i> Suşlarının Çeşitli Antibiyotiklere Direnç Oranlarının ve Genişlemiş Spektrumlu Beta-Laktamaz Varlığının Değerlendirilmesi</b> <u>Emel Çalışkan</u> , Asiye Altınöz Aytar, Gülsüm Biten Güven, Elif Kaş, Ayşe Dede..... 140
PP-24	<b>İdrar Kültürlerinden İzole Edilen <i>Candida</i> Türleri ve Antifungal Duyarlılıkları</b> <u>Asiye Altınöz Aytar</u> , Gülsüm Biten Güven, Emel Çalışkan, Elif Kaş ..... 142
PP-25	<b>Çeşitli Antifungallerin Değişen Konsantrasyonlarda <i>Candida albicans</i> Suşlarının Yüzey Adezyonunu Engellemesinin Araştırılması</b> <u>Mayram Tüysüz</u> , Sibel Döşler, Neşe İnan, Gülten Ötük ..... 143
PP-26	<b>Yoğun Bakım Ünitesinden Gönderilen Çeşitli Klinik Örneklerde Saptanan Stafilokok Suşlarında Metisilin Direnci Sıklığının Araştırılması</b> <u>Elif Kaş</u> , Emel Çalışkan, Gülsüm Biten Güven, Asiye Altınöz Aytar ..... 144
PP-27	<b>İdrar Kültürlerinde Üreyen <i>E.coli</i> İzolatlarında Antibakteriyel Direnç Oranlarındaki 3 Yıllık Veriler</b> <u>Fulya Bayındır Bilman</u> , Mine Turhanoglu, Arzu Onur, Şafak Kaya ..... 145
PP-28	<b>Çeşitli Klinik Örneklerden İzole Edilen <i>Staphylococcus aureus</i> Suşlarının Antibiyotiklere Direnç Oranları</b> <u>Hatice Türk Dağı</u> , Ayşe Rüveyda Uğur, İnci Tuncer ..... 147
PP-29	<b>Çeşitli Klinik Örneklerden İzole Edilen <i>Serratia marcescens</i> Suşlarının Antibiyotiklere Duyarlılık Oranları</b> <u>Hatice Türk Dağı</u> , Feyza Alp, İnci Tuncer ..... 148
PP-30	<b>Hacettepe Üniversitesi Merkez Laboratuvarına Gönderilen Alt Solunum Yolu Örneklerinden İzole Edilen <i>Streptococcus pneumoniae</i> Suşlarında Antibiyotik Direncinin CLSI ve EUCAST Rehberlerine Göre Karşılaştırılması (2012-2013)</b> <u>Özben Özden</u> , Salih Maçın, Yakut Akyön Yılmaz, Deniz Gür ..... 149
PP-31	<b>Kan Örneklerinden İzole Edilen Stafilokok Suşlarının İndüklebilir Klindamisin Direncinin Araştırılması</b> <u>Merve Eylül Bozkurt</u> , Nurten Altanlar, Ahmet Akin..... 151
PP-32	<b>Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi'nde 2012-2013 Yıllarında Klinik Örneklerden Soyutlanan Vankomisin Dirençli Enterokokların Değerlendirilmesi</b> <u>Feriha Çilli</u> , <u>Emine Koçman</u> , Şöhret Aydemir, Alper Tünger ..... 152
PP-33	<b><i>Acinetobacter baumannii</i> Suşlarının Antimikrobiyal Direnç Profilleri: Dört Yıllık Değerlendirme</b> <u>Gülsüm Biten Güven</u> , Elif Kaş, <u>Emel Çalışkan</u> , Ayşe Dede, Asiye Altınöz Aytar, Tümer Güven ..... 153

PP-34	<b>Genişlemiş Spektrumlu Beta-Laktamaz İçeren Gram-Negatif Enterobakterilerde blaCTX-M Gen Gruplarının Araştırılması</b> İlkay Bahçeci, Osman Birol Özgümüş .....	155
PP-35	<b>Üriner Sistem Enfeksiyonlarından İzole Edilen <i>E. coli</i>'lerde Fosfomisin, Nitrofurantoin ve Siprofloksasin Direnç Oranları</b> Ömer Kurt, Hayati Güneş, Abdullah Gümüş, Aynur Eren Topkaya .....	156
PP-36	<b>Candida Suşlarında Biyofilm Oluşturma Özelliği</b> Mayram TÜYSÜZ, Neşe İnan, Aslıhan Demirel, Kezban Nur Pilancı, Dilek Mamçu, Emine Sönmez, Ayşe Arısoy.....	157
PP-37	<b>İstanbul Üniversitesi Kardiyoloji Enstitüsü Yoğun Bakım Ünitelerinde Yatan Hastalardan İzole Edilen Candida İzolatlarının Tür Dağılımı</b> Emine Küçükates, Nazmi Gültekin, Esra Kaplan, Şehri Şengün .....	159
PP-38	<b>Türkiye'de Bir Eğitim ve Araştırma Hastanesinde İzole Edilen <i>Klebsiella pneumoniae</i> Türlerinde Karbapenem Direnç Genlerinin Dağılımı</b> Vesile Yazıcı, Bülent Bozdoğan, Canan Balcı .....	160
PP-39	<b>Klebsiella pneumoniae Kökenli blaOXA-48 Genine Ait Yeni Bir Alelin Belirlenmesi</b> Azer Özad Düzgün, Cemal Sandallı, Meryem İraz, Ayşegül Saral, Fatma Çalık, Ayşegül Çopur Çiçek .....	161
PP-40	<b>Seftazidim Dirençli Pseudomonas aeruginosa İzolatlarında Beta Laktamazların Moleküler Epidemiyolojisi</b> Halil Er, Mustafa Altındis, Gülşah Aşık, Cengiz Demir .....	162
PP-41	<b>Karbapenemaz Genlerinin(KPC, OXA-48, VIM ve NDM) Hızlı Tanısı; Check-Direct CPE Testi</b> Mustafa Altındis, Abdullah Kılıç, Mehmet Baysallar .....	163
PP-42	<b>Ayaktan ve Yatan Hastalarda Üriner Sistem İnfeksiyonlarından İzole Edilen <i>E. coli</i> suşlarının Antibiyotik Duyarlılıkları</b> Neval Ağuş, M. Cem Şirin, Nisel Yılmaz, Sevgi Yılmaz Hancı, Yeşer Karaca Derici, Pınar Şamlıoğlu, Arzu Bayram .....	164
PP-43	<b>Karbapenem Dirençli <i>Klebsiella pneumoniae</i> İzolatlarının Genotipik Özelliklerinin Araştırılması</b> Gülşah Aşık, Recep Keşli, Cengiz Demir, Özlem Yoldaş, Özgül Çetinkaya.....	165
PP-44	<b>Yoğun Bakım Ünitelerinden İzole Edilen <i>Acinetobacter baumannii</i> ve <i>Pseudomonas aeruginosa</i> Suşlarının Antibiyotik Duyarlılıkları</b> M. Cem Şirin, Neval Ağuş, Nisel Yılmaz, Yeşer Karaca Derici, Sevgi Yılmaz Hancı, Pınar Şamlıoğlu, Arzu Bayram .....	166
PP-45	<b>Yara Kültürlerinde Üreyen Stafilokoklarda Sürveyans Verileri</b> Fulya Bayındır Bilman, Mine Turhanoğlu, Arzu Onur .....	168

PP-46	<b>İdrar Kültüründen İzole Edilen <i>E.coli</i> ve <i>Klebsiella spp.</i> Kökenlerinin Antibiyotik Duyarlılıkları</b> <i>Ayşe İstanbullu Tosun, Mesut Yılmaz, Hatice Şen, Leyla Sirekbasan, Ezgi Gözün Şaylan, Cemile Gökçeagaçlı, Hilal Özmen</i> .....	170
PP-47	<b>Kolistin, Tigesiklin ve Tobramisin'in Tek Başlarına ve Kombinasyon Halinde Çeşitli Örneklerden İzole Edilen <i>Enterobacteriaceae</i> Türlerine Karşı İn-vitro Etkilerinin Araştırılması</b> <i>Emel Mataracı Kara, Berna Özbek Çelik, Mesut Yılmaz</i> .....	171
PP-48	<b>Stafilokok suşlarında Biyofilm Özelliğinin Araştırılması</b> <i>Duygu Öcal, İştah Dolapçı, Zeynep Ceren Karahan, Alper Tekeli</i> .....	172
PP-49	<b>Çeşitli Gram Negatif Bakterilerin Biyofilm Oluşturma Özellikleri ve Biyofilmlerin Çeşitli Antibiyotik ve Antimikrobik Peptitler Tarafından İnhibisyonunun Araştırılması</b> <i>Sibel Döşler, Elif Karaaslan</i> .....	174
PP-50	<b><i>Klebsiella pneumoniae</i> Suşlarında Sınıf I ve Sınıf II İntegronların Moleküler Karakterizasyonu</b> <i>Azer Özad Düzgün, Cemal Sandallı, Ayşegül Saral, Ayşegül Çopur Çiçek, Meryem Iraz, Osman Birol Özgümüş</i> .....	175
PP-51	<b>Flukonazole Dirençli ve Doza Bağımlı Duyarlı Kandida İzolatlarında Olası Dışa Atım Pompalarının Fenotipik Yöntemle Araştırılması</b> <i>Meltem Kaya, Nilgün Çerikçioğlu</i> .....	177
PP-52	<b>Klinik Örneklerden İzole Edilen <i>Acinetobacter</i> Kökenlerinde IMP-1, IMP-2, VIM-1, VIM-2 tipi Metallo Beta Laktamazların Araştırılması</b> <i>Merve Ocak, Burçin Özer, Melek İnci, Nizami Duran</i> .....	179
PP-53	<b>Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesinde Kan Kültürlerinden Sık Soyutlanan Gram Negatif Bakteriler ve Direnç Profillerinin Değerlendirilmesi</b> <i>Feriha Çilli, Uğur Tüzüner, Şöhret Aydemir, Alper Tünger, Fatma Kamer Varıcı Balcı</i> .....	180
PP-54	<b>Enterik Bakterilerin Çeşitli Antibiyotiklere Duyarlılığının CLSI ve EUCAST Sınır Değerlerine Göre Karşılaştırılması</b> <i>Devrim Dündar, Gülden Sönmez Tamer, Sema Keçeli</i> .....	181
PP-55	<b>Yara Yeri Örneklerinden İzole Edilen Gram Negatif Bakterilerin Antibiyotiklere Direnç Durumunun Değerlendirilmesi</b> <i>Bilge Gültepe, Meryem Iraz, Mehmet Ziya Doymaz</i> .....	182
PP-56	<b>Hastane Enfeksiyonu Etkeni Olarak <i>S. aureus</i>; Enfeksiyonun Yönetimi ve Tedavisi</b> <i>Gönül Şengöz, Cafer Korkut, Ayşe Banu Esen, Derya Yıldız, Meryem Kocuk, Emine Güngör Özdemir</i> ..	183
PP-57	<b>Ege Üniversitesi Tıp fakültesi Hastanesinde Yoğun Bakım Hastalarında Bakteremi Etkenleri ve Antimikrobiklere Karşı Duyarlılığın Değerlendirilmesi</b> <i>Feriha Çilli, Fatma Kamer Varıcı Balcı, Alper Tünger, Şöhret Aydemir</i> .....	184
PP-58	<b>Bir Eğitim ve Araştırma Hastanesinde Enterokokların Yıllara Göre Antimikrobiyal Ajanlara Direnç Durumlarının Değerlendirilmesi</b> <i>Hülya İren Güvenç, Oya Akkaya, Asuman Güzelant, Meral Kaya, Ayşegül Opuş, Şerife Yüksekaya, Muhammet Güzel Kurtoğlu</i> .....	185

<b>PP-59</b>	<b>Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesinde Kan Kültürlerinden Sık Soyutlanan Gram Pozitif Bakterilerin Direnç Profilleri</b> Feriha Çilli, Uğur Tüzüner, Şöhret Aydemir, Alper Tünger, <u>Emine Koçman</u> .....	<b>186</b>
<b>PP-60</b>	<b>CLSI'dan EUCAST'a Geçiş: Kirby Bauer Disk Difüzyon Testi Sonuçlarının Karşılaştırılması</b> <u>Büşra Betül Özmen</u> , Duygu Öcal, Zeynep Gençtürk, İstar Dolapçı, Alper Tekeli, Zeynep Ceren Karahan.....	<b>187</b>
<b>PP-61</b>	<b>Balgam Kültürlerinde <i>S.paucimobilis</i> Sıklığı ve Antibiyotik Duyarlılığı</b> Mine Turhanoğlu, <u>Fulya Bayındır Bilman</u> .....	<b>188</b>
<b>PP-62</b>	<b>Çeşitli Klinik Örneklerden İzole Edilen <i>S. marcescens</i> suşlarının Antimikrobiyal Ajanlara Duyarlılıklarının Araştırılması</b> Şerife Yüksekaya, Ayşegül Opuş, Asuman Güzelant, Meral Kaya, Oya Akkaya, <u>Hülya İren Güvenç</u> , Muhammet Güzel Kurtoğlu .....	<b>189</b>
<b>PP-63</b>	<b>Çeşitli Klinik Örneklerden Beş Yılda İzole Edilen <i>Stenotrophomonas Maltophilia</i> Suşlarının Dağılımı ve Antimikrobiyal Duyarlılıkları</b> Asuman Güzelant, Şerife Yüksekaya, Meral Kaya, Ayşegül Opuş, <u>Hülya İren Güvenç</u> , Oya Akkaya, Muhammet Güzel Kurtoğlu.....	<b>191</b>
<b>PP-64</b>	<b>Çeşitli Klinik Örneklerden İzole Edilen <i>Enterobakter Aerogenes</i> ve <i>Enterobakter Cloaca</i> Suşlarının Antimikrobiyal Ajanlara Karşı Duyarlılıklarının Araştırılması</b> Meral Kaya, Şerife Yüksekaya, Asuman Güzelant, Ayşegül Opuş, <u>Hülya İren Güvenç</u> , Oya Akkaya, Muhammet Güzel Kurtoğlu .....	<b>193</b>
<b>PP-65</b>	<b>Yeni Katyonik Steroid Antibiyotiklerden CSA-8, CSA-13, CSA-44, CSA-131 ve CSA-138'in Çeşitli Gram Pozitif ve Gram Negatif Bakteriler Üzerine in vitro Etkilerinin Araştırılması</b> <u>Gözde İnci</u> , Merve Ataman, Çağla Bozkurt Güzel, Sibel Döşler.....	<b>195</b>
<b>PP-66</b>	<b>Klinik Örneklerden İzole Edilen Enterokok Suşlarında Belirlenen Glikopeptid Direncinin Yıllara Göre Değişimi</b> <u>Özlem Yoldaş</u> , Gülşah Aşık, Recep Keşli, Özgül Çetinkaya, Cengiz Demir .....	<b>196</b>
<b>PP-67</b>	<b>İdrar Kültürlerinden İzole Edilen <i>Escherichia coli</i> Kökenlerinin Antimikrobiyal Duyarlılıklarının Araştırılması</b> Oya Akkaya, <u>Hülya İren Güvenç</u> , Şerife Yüksekaya, Ayşegül Opuş, Asuman Güzelant, Meral Kaya, Muhammet Güzel Kurtoğlu .....	<b>197</b>
<b>PP-68</b>	<b>Çevresel Kaynaklı suşlarda Antibiyotik Direnç Genlerinin ve Biyofilm Oluşturma Potansiyellerinin Araştırılması</b> <u>Elif Karaaslan</u> , Sibel Döşler .....	<b>198</b>
<b>PP-69</b>	<b>Çeşitli Klinik Örneklerden İzole Edilen <i>Proteus mirabilis</i> Suşlarının Antimikrobiyal Ajanlara Duyarlılıkları</b> Ayşegül Opuş, Şerife Yüksekaya, Oya Akkaya, <u>Hülya İren Güvenç</u> , Meral Kaya, Asuman Güzelant .....	<b>199</b>

<b>PP-70</b>	<b>Bazı Antibiyotiklerin Hemodiyaliz Hastalarının Polimorf Nüveli Lökosit Fonksiyonları ve Oksidatif Stres Üzerine Etkilerinin İn Vitro Araştırılması</b> Rafiye Garip, <u>Ümran Soyoğul Güner</u> , Burçak Gürbüz, Esra Dalkılıç, Şükri Palandüz, Fatma Nilgün Aysuna, Azize Yaman Şener .....	<b>200</b>
<b>PP-71</b>	<b>Çocuk Hastanesinde Kan Kültürlerinden Soyutlanan Gram Negatif Nonfermentatif Bakteriler ve Direnç</b> <u>Gamze Gülfidan</u> , Yüce Ayhan, İlker Devrim, Yelda Sorguç, Kenan Sipahi, Şener Tulumoğlu .....	<b>201</b>
<b>PP-72</b>	<b>Bir Çocuk Hastanesinde Yoğun Bakım Ünitesinde Görülen Ventilator İlişkili Pnömonilerde Etkenler</b> <u>Yüce Ayhan</u> , Nevbahar Yaşar, Yeliz Oruç, Gamze Gülfidan, İlker Devrim, Yelda Sorguç.....	<b>202</b>
<b>PP-73</b>	<b>Yoğun Bakım Ünitelerinden İzole Edilen <i>Pseudomonas</i> ve <i>Acinetobacter</i> Cinsi Bakterilerin Antimikrobiyal Direnç Durumu</b> <u>Burçin Özer</u> , Melek İnci, Nizami Duran, Şeyda Özarslan Kurtgöz, Gülcan Eraslan Alagöz, Özgür Paşa, Çetin Kılınç.....	<b>203</b>
<b>PP-74</b>	<b><i>Acinetobacter baumannii</i> İzolatlarında Kolistin ve Tigesiklin Duyarlılığı, Sakarya</b> Tayfur Demiray, Mehmet Köroğlu, Engin Karakeçe, İhsan Hakkı Çiftci, Ahmet Özbek, <u>Mustafa Altındiş</u> .....	<b>204</b>
<b>PP-75</b>	<b>Klinik Materyallerden İzole Edilen <i>Candida</i> İzolatların Antifungal Duyarlılıkları</b> Özlem Akkaya Aydemir, Tayfur Demiralay, Mehmet Köroğlu, Huseyin Agah Terzi, Ahmet Özbek, <u>Mustafa Altındiş</u> .....	<b>205</b>
<b>PP-76</b>	<b>Nadir Karşılaşılan bir Enfeksiyon Etkeni; <i>Sphingomonas paucimobilis</i></b> Tayfur Demiray, Mehmet Köroğlu, Ahmet Özbek, Engin Karakeçe, <u>Mustafa Altındiş</u> .....	<b>206</b>
<b>PP-77</b>	<b>Periton Mayı Kültürlerinde Üreyen Mikroorganizmalar ve Antibiyotik Duyarlılıkları</b> Tayfur Demiray, Ahmet Özbek, Mehmet Köroğlu, Engin Karakeçe, İhsan Hakkı Çiftci, <u>Mustafa Altındiş</u> .....	<b>207</b>
<b>PP-78</b>	<b><i>Mycobacterium tuberculosis</i> Kompleksi İzolatlarının Primer Antitüberküloz İlaçlara Direnç Oranları: İki Yıllık Değerlendirme</b> <u>Devrim Dündar</u> , Gülden Sönmez Tamer, Sema Keçeli.....	<b>208</b>
<b>PP-79</b>	<b><i>Pseudomonas oryzaehabitans</i>'ın Etken Olduğu Bir Tromboflebit Kaynaklı Bakteriyemi Olgusu</b> <u>Nevriye Gönüllü</u> , Mahmut Öncül, Esmâ Akkoyun Bilgi, Nilşen Güney, Fatma Köksal Çakırlar, Nuri Kiraz .....	<b>209</b>
<b>PP-80</b>	<b>Bakteriyemi Etkeni Olan <i>S. aureus</i> suşlarının Antimikrobiyal Direnç Paternleri</b> Gülsüm Biten Güven, Ayşe Dede, Asiye Altınöz Aytar, Elif Kaş, <u>Emel Çalışkan</u> , Tümer Güven .....	<b>210</b>
<b>PP-81</b>	<b>Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi Sağlık Uygulama ve Araştırma Merkezi Mikrobiyoloji Laboratuvarı'na Gelen İdrar Örneklerinden İzole Edilen Gram Negatif Bakterilerin Antimikrobiyal Direnç Özellikleri</b> <u>Sati Zeynep Tekin</u> , Ahmet Vural, Aslı Kiraz, Ahmet Ünver.....	<b>212</b>



<b>PP-82</b>	<b>Çocuklarda Dışkıda Adenovirüs ve Rotavirüslerin Araştırılması</b> Aslı Kiraz, <u>Satı Zeynep Tekin</u> , Ahmet Vural, Ümit Karadeli, Ahmet Ünver.....	<b>213</b>
<b>PP-83</b>	<b>Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi Uygulama ve Araştırma Hastanesi'nde Kan Kültüründen İzole Edilen Mikroorganizmalar ve Antimikrobiyal Direnç Özellikleri</b> Ahmet Vural, <u>Satı Zeynep Tekin</u> , Aslı Kiraz, Nimet Açıkkol, Ahmet Ünver .....	<b>214</b>
<b>PP-84</b>	<b>Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi Tıp Fakültesi Uygulama ve Araştırma Hastanesi Mikrobiyoloji Laboratuvarına Gönderilen Örneklerde İndirekt Hemaglutinasyon yöntemi ile Kistik Ekinokokkozis Seropozitiflik Oranlarının Değerlendirilmesi</b> <u>Satı Zeynep Tekin</u> , Ahmet Vural, Aslı Kiraz, Mümin Sargin, Ahmet Ünver .....	<b>215</b>
<b>PP-85</b>	<b>Olgu: İdrar Kültüründen İzole Edilen ve Oxa 48 Sentezleyen <i>Klebsiella Pneumoniae</i></b> <u>Semra Kavas Genç</u> , Şeyma Özkurt, Nilay Çöplü, Mustafa Çağatay, Gül Erdem, Deniz Gür, Aslı Ünsal Çakar .....	<b>216</b>
<b>PP-86</b>	<b>Rektal Sürüntü Örneklerinde Karbapenem Dirençli Mikroorganizmaların Saptanmasında Farklı Tarama Yöntemlerinin Değerlendirilmesi</b> <u>Gülşen Altınkanat Gelmez</u> , Ayşe Karaaslan, Sevim Özsoy, Meltem Kaya, Eda Kepenekli, Ahmet Soysal, Mustafa Bakır, Güner Söyletir .....	<b>217</b>
<b>PP-87</b>	<b>Rektal Sürüntü Örneklerinden Karbapenemazların Saptanmasında Yeni Bir Yöntem: Check-Direct CPE</b> <u>Gülşen Altınkanat Gelmez</u> , M. Ufuk Hasdemir, Güner Söyletir .....	<b>219</b>
<b>PP-88</b>	<b>Toplum Kaynaklı GSBL Pozitif Üriner <i>E. coli</i> İzolatlarında Oral Antibiyotiklere Direnç Artıyor mu?: 3 Yıllık Değerlendirme</b> <u>Sevim Özsoy</u> , Arzu İlki, Güner Söyletir.....	<b>221</b>
<b>PP-89</b>	<b><i>Clostridium difficile</i> Toksin İsteği ile Gönderilen Dışkı Örneklerinde Vankomisin Dirençli Enterokok (VRE) Varlığının Araştırılması</b> <u>Sevim Özsoy</u> , Arzu İlki, Güner Söyletir.....	<b>223</b>
<b>PP-90</b>	<b>Olası Pompa İnhibitörü Olarak Benzotiyazol Türevi Bileşikler</b> <u>Deniz Güneşer Merdan</u> , Gülşen Altınkanat Gelmez, İsmail Yalçın, İlkay Yıldız, Esin Akı, Ufuk Hasdemir .....	<b>224</b>
<b>PP-91</b>	<b>Bacteroides Fragilis İzolatlarında Quorum Sensing Aracılı Uyarımın Karbapenem Direncine Etkisinin Araştırılması</b> <u>Öncü Akgül</u> , Nurver Ülger Toprak, Burak Aksu, Gülgün Boşgelmez Tınaz, Güner Söyletir.....	<b>226</b>
<b>PP-92</b>	<b><i>Escherichia coli</i> ve <i>Klebsiella</i> Kökenlerinde Karbapenem Direncine Neden Olan Mekanizmaların Araştırılması: NDM-1'in Sessiz Yayılımı</b> <u>Onur Karatuna</u> , Işın Akyar, Sinem Öktem Okullu, Nihan Ünübol, Deniz Ece Kaya, Eda Güngörürler, Sesin Kocagöz, Tanıl Kocagöz.....	<b>227</b>
<b>YAZAR DİZİNİ</b>		<b>229</b>



# BİLİMSEL PROGRAM

**18 Nisan 2014, Cuma**

---

**15:30-16:00**      **Açılış Töreni**

**16:00-16:45**      **Açılış Konferansı**  
**Oturum Başkanı:** *Nezahat GÜRLER*  
**Geleceğin Antimikrobiyal Tedavi Vizyonu**  
*Erdal AKALIN*

**16:45-17:30**      **PANEL: Yeni Antibiyotikler ve Yeni Bakteriyel Hedefler**  
**Oturum Başkanı:** *M. Ufuk HASDEMİR*  
**Yeni Antibiyotikler**  
*Neşe SALTOĞLU*  
**Bakterilerde Antibiyotikler için Yeni Hedefler ve Antibiyotik Geliştirme Çalışmaları**  
*Tanıl KOCAGÖZ*

# BİLİMSEL PROGRAM

19 Nisan 2014, Cumartesi

---

**09:00-10:30** **PANEL: Antimikrobiyal Direnç Mekanizmaları: Güncel Durum**  
**Oturum Başkanları:** *Çiğdem KAYACAN, Derya AYDIN*  
**Karbapenemazların Başarısı: Plazmidler ve Klonlar**  
*Zeynep GÜLAY*  
**Polimiksin Direnci: Neredeyiz?**  
*Şöhret AYDEMİR*  
**Aktif Pompa ve Porin Kaybı: Tehdit mi?**  
*M.Ufuk HASDEMİR*  
**Dirençli Gram Pozitif Koklar: Sakın Kaçırmayın!**  
*Burçin ŞENER*

---

**10:30-11:00** **Kahve Molası**

---

**11:00-12:30** **İTERAKTİF OTURUM: Olgularla Özel Hasta Gruplarında Doğru Antimikrobiyal Tedavi Yaklaşımları**  
**Moderatörler:** *Güner SÖYLETİR, Ahmet BAŞUSTAOĞLU*  
**Tartışmacılar:** *İftihar KÖKSAL*  
*Özdemir AKTAN*  
*Volkan KORTEN*

**Tartışma Başlıkları:**

- Cerrahi Enfeksiyonlar Çok İlaça Dirençli Bakteri Enfeksiyonları
- Biyofilm Oluşturan Bakteri Enfeksiyonları
- Antimikrobiyal FK/FD Verilerinin Klinikte Kullanımı
- Febril Nötropeni

**12:30-13:15** **Öğle Yemeği**

---

# BİLİMSEL PROGRAM

13:15-14:15

## UYDU SEMPOZYUM

**Oturum Başkanı:** *Burak AKSU*

**Clinical Relevance of Molecular Detection of Carbapenemases**

*Pierre BOGAERTS*



14:15-15:30

## **PANEL: Antimikrobiyal Duyarlılık Testlerinin Standardizasyonu:**

**Türkiye Standardını Değiştiriyor**

**Oturum Başkanı:** *Zeynep GÜLAY*

**CLSI'den EUCAST'a Geçiş Süreci**

*Deniz GÜR*

**Direnç Mekanizmalarının Saptanmasında EUCAST Önerileri**

*Onur KARATUNA*

**Antimikrobiyal Duyarlılık Testi Sonuçları: EUCAST Uzman Kurallar, Yorumlu ve Kısıtlı Bildirim**

*Güner SÖYLETİR*

15:30-16:00

**Kahve Molası**

16:00-17:30

## **İTERAKTİF OTURUM: Olgularla Antimikrobiyal Duyarlılık Testleri (Gram Pozitif Bakteriler)**

**Moderatörler:** *M. Ufuk HASDEMİR, İftihar KÖKSAL, Şöhret AYDEMİR*

**Olguları Sunanlar:** *Zahide DOYUK BEKTAŞ*

*Bahar AKGÜN KARAPINAR*

*Gülşen ALTINKANAT GELMEZ*

17:30-18:15

**Poster Gezisi**

# BİLİMSEL PROGRAM

20 Nisan 2014, Pazar

09:00-10:30	<p><b>PANEL: Direnç Sürveyansı Verilerinin Işığında Antimikrobiyal Yönetimi</b> <b>Oturum Başkanları:</b> Deniz GÜR, Gönül ŞENGÖZ <b>Ulusal ve Uluslararası Antimikrobiyal Direnç Sürveyans Çalışmaları</b> <i>Hüsnüye ŞİMŞEK</i> <b>Sürveyans Verilerinin Mikrobiyoloji Laboratuvar Uygulamalarındaki Etkisi</b> <i>Nilay ÇÖPLÜ</i> <b>Sürveyans Verilerinin Klinisyenin Tedavi Yaklaşımlarına Etkisi</b> <i>Oral ÖNCÜL</i></p>
10:30-11:00	<p><b>Kahve Molası</b></p>
11:00-12:30	<p><b>İTERAKTİF OTURUM: Olgularla Antimikrobiyal Duyarlılık Testleri (Gram Negatif Bakteriler)</b> <b>Moderatörler:</b> Deniz GÜR, Sesin KOCAGÖZ, Onur KARATUNA <b>Olguları Sunanlar:</b> Çiğdem ARABACI <i>Aslı ÇAKAR</i> <i>Demet HACİSEYİTOĞLU</i></p>
12:30-13:00	<p><b>Öğle Yemeği</b></p>
13:00-14:00	<p><b>UYDU SEMPOZYUM</b> <b>Oturum Başkanı:</b> Sesin KOCAGÖZ <b>mastdiscs™ - EUCAST Compliance and Multidrug Resistance Detection/Classification</b> <i>Susan THOMSON</i></p>
14:00-15:30	<p><b>PANEL: Özel Mikroorganizmalarda Antimikrobiyal Direnç: Güncel Durum</b> <b>Oturum Başkanları:</b> Güven KÜLEKÇİ, Mustafa ÖZYURT <b>Anaerob Bakterilerde Antimikrobiklere Direnci Saptayalım mı, Nasıl?</b> <i>Ferda TUNÇKANAT</i> <b>Antifungal Direnç Mekanizmaları ve Duyarlılık Testleri</b> <i>Nilgün ÇERİKÇİOĞLU</i> <b>Antimikobakteriyel Direnç Mekanizmaları ve Duyarlılık Testleri</b> <i>Nuri ÖZKÜTÜK</i> <b>Dışkı Patojenlerinde Direnç Mekanizmaları ve Duyarlılık Testleri</b> <i>Betiğül ÖNGEN</i></p>
15:30-15:45	<p><b>Kahve Molası</b></p>



# BİLİMSEL PROGRAM

15:45-17:15

**İTERAKTİF OTURUM: Olgularla Özel Mikroorganizmalarda Antimikrobiyal Duyarlılık Testleri**

**Moderatörler:** Zeynep GÜLAY, Nurver ÜLGER, Yakut AKYÖN YILMAZ

**Olguları Sunanlar:** Yakut AKYÖN YILMAZ

Nurver ÜLGER

Cem ERGON

---

17:15-17:30

**Kapanış**

---

## GENEL BİLGİLER

### KAYIT

Kayıt işlemleri 18 Nisan 2014 tarihinde toplantı salonu önünde kurulacak olan kayıt masasında saat 18:30'a kadar devam edecektir.

### KATILIM BELGESİ

20 Nisan 2014 günü katılımcılara dağıtılacaktır.

### POSTERLER

Posterler 18 Nisan 2014 günü saat 09:00-15:00 saatleri arasında program ve özet kitabındaki poster numarasına uyarak asılmalı ve sempozyum sonuna kadar asılı kalmalıdır. 19 Nisan 2014 tarihinde yapılacak olan Poster Gezisi oturumu sırasında araştırmacılar en az bir kişinin poster alanında, posterinin başında bulunması gerekmektedir.



# Konuşma zetleri



# GELECEĞİN ANTİMİKROBİYAL TEDAVİ VİZYONU

H. Erdal AKALIN

*Hacettepe Üniversitesi Emekli Öğretim Üyesi, İstanbul*

**S**on on yıldır dünyanın en önemli sağlık sorunlarının arasına “antibiyotiklere dirençli bakteriler” sorunu girdi. Dünya Sağlık Örgütü (WHO), Amerika Birleşik Devletleri Hastalık Kontrol Merkezi (CDC), Avrupa Hastalık Kontrol Merkezi (ECDC), Birleşik Krallık Sağlık Bakanı ve dünyanın en önemli ekonomik formu (WEF) yakın bir gelecekte en basit bir enfeksiyon hastalığını dahi tedavi edebilecek durumda olamayabileceğimizi bildiren raporlar yayınladılar (3). Bu sorunu aşmak için de büyük bir çaba içine girildi.

Gerçekten böyle bir sorun var mı? Varsa nedenleri ne? Bu sorunu çözebilmek için neler yapılmalı? İşte bütün bunlar “geleceğin antimikrobiyal tedavi vizyonu” içinde yer alması gereken konular.

WHO, CDC, ECDC ve diğer kurumların raporlarında sorunun ne kadar ciddi olduğu açıkça belirtiliyor. Antimikrobiyal dirençli bakterilerin geliştirdiği enfeksiyonların sadece sağlık hizmetine bağlı gelişen enfeksiyonlarda değil, toplumda gelişen enfeksiyonlarda da ciddi bir sorun olduğu saptanmıştır. WHO Başkanı Dr. Chan’ın belirttiği gibi, yakın bir gelecekte streptococcal boğaz enfeksiyonunu veya basit bir yaralanma sonrası gelişen deri ve yumuşak doku enfeksiyonunu tedavi edemeyecek durumda kalabiliriz.

Neden bu duruma geldik? Tüm raporların ortak görüşü içinde yer alan nedenler şunlar:

1. Gereksiz antibiyotik kullanım,
2. Hayvanlarda kontrolsüz antibiyotik kullanımı,
3. Akılcı antibiyotik kullanımına direnç (!),
4. Yeni molekül geliştirmede zorluklar (araştırma ve geliştirme),
5. Finansal güçlükler.

Antibiyotik direnç sorununun getirdiği sorunlar herkes tarafından bilinmektedir. Bir kaç çalışmaya göz atalım. ECDC/EMA Teknik Raporunda (1) 2007 yılında Avrupa’da 400,000 kişinin dirençli bakterilerle enfekte olduğu, bu enfeksiyonlar nedeni ile 25,000’den fazlasının öldüğü, dirençli bakterilerle gelişen enfeksiyonların 2.5 milyon hastane gününe neden oldukları belirtilmiştir. Bu sorunun direkt tıbbi maliyeti yılda 1.5 milyar Euro’dur. CDC’nin yeni yayınladığı bir çalışmada, hastanelerden taburcu olan hastaların %55.7 sinin antibiyotik tedavisi görüldüğü bildirilmiştir (6).

Bu sorunu çözebilmek için ne yapılmalı? Verilecek en kolay cevap “yeni antibiyotik geliştirilmesi”! Ancak 1970-2010 arasında bu konuda ciddi sorunlar olduğu ve geliştirilen antibiyotik sayısının son derecede sınırlı kaldığı görülmektedir. Bunların nedenleri başka bir tartışma

konusudur. Ancak ilaç geliştirme süreci sırasında dahi direnç gelişebilecek olması en önemli engellerden birisi olarak akla gelmektedir.

“Geleceğin Antimikrobiyal Tedavi Vizyonu”nu bir bütün olarak kabul edip, daha geniş bir stratejik plan yapılmasında yarar vardır. Bu konudaki önemli bir rapor Avrupa’daki çeşitli kurumların bir araya gelerek yayınladıkları “Vision Document”de yer almaktadır (4). Raporun üç önemli stratejik önerisi var:

1. Direnç gelişmesinin biyolojisi ve dinamiğinin araştırılması,
2. Direnç gelişmesinin önlenmesi ve tedavi için inovatif yaklaşımlar,
3. Direnç sorununun epidemiyolojisi ve hastalık yükünün araştırılması.

Benzer bir çalışma WHO, CDC ve Infectious Disease Society of America (IDSA) işbirliğinde de yapıldı. Özellikle ECDC, Avrupa Birliği ve işbirliği yaptıkları (ESCMID dahil) kurumların raporunda geliştirilen stratejilerin altı çizilerek, bu programların ulusal ve uluslararası uygulanabilir çalışmalar haline getirilmesi önerildi.

Önerilen stratejiler nelerdir? (2)

1. Veri toplanması,
2. Hayvanlarda kontrolsüz antibiotik kullanımının durdurulması,
3. Antibiotik yönetim programlarının uygulanması,
4. Hastane dışında gereksiz antibiotik kullanımının azaltılması,
5. Hızlı tanı yöntemlerinin kullanımının yaygınlaştırılması,
6. Yeni ilaç geliştirilmesinin desteklenmesi,
7. Antibiotik direnç gelişmesini önleme ile ilgili tüm girişimlerin ülkelerin sağlık politikalarının önemli bir konusu olmasının sağlanması,
8. Her ülkenin bir planının olması.

Yakın zamanda New England Journal of Medicine’da yayınlanan bir editorial ile yazıyı sonlandırmaya çalışacağım (5). Antibiotiklerin geleceğinin ne olacağı ve direnç gelişmesini önlemek veya yavaşlatmak için neler yapılması gerektiğini özetleyen editorialdaki öneriler şunlar:

1. İnfeksiyon ve direnç gelişmesini önlenmesi (infeksiyon önleme uygulamaları),
2. Halen kullanılan antibiotikleri “akılcı” kullanarak, direnç gelişmesini yavaşlatma,
3. Yeni antibiotik geliştirme için ekonomik ve yasal yaklaşımların tekrar gözden geçirilmesi,
4. “Microbe-attacking” tedavi sistemleri geliştirerek, direnç gelişme potansiyelinin azaltılmasının sağlanması (“immun-based” tedaviler),
5. Konakçısındaki hedeflere yönelik tedavi sistemlerinin geliştirilmesi, bu şekilde mikrobiyal seleksiyona engel olunması (PAMP receptor agonists, probiotics, cytokine agonists veya antagonists).

Yeni antibiotik geliştirilmesi ile ilgili heyecan verici çalışmalar rapor edilmeye devam etmektedir. Özellikle bazı özel klonları hedefleyen antimikrobiyal ajanların geliştirilmesi ile ilgili çalışmalar ilgi çekmektedir. “Anti-clone” aşular, “anti-clone” fajlar, sadece dirençli bakterilere etkili olan “reverse antibiotikler”, selektif dekontaminasyon geleceğin antimikrobiyal çalışmaları arasında yer alacak konular. Konu ile ilgili daha fazla bilgi sahibi olmak isteyenlere Fernando Baquero’nun ICAAC 2013 (Denver) Key Note Lecture’ını öneririm ([www.icaac.org](http://www.icaac.org)).

Son not, genome projesi sonrası yapılan çalışmalar ile ilgili! Daha gidilecek çok uzun bir yol var. Son 8 yılda yapılan çalışmaların özeti;

- 300 hedef gen ayırt edildi,
- 70'i yüksek umut veren adaylar olarak tanımlandı,
- 5 ilaç adayı saptandı,
- 0 klinik çalışmalara ulaştı!

Daha az enfeksiyon hastalıkları olan, direnç sorunu olmayan, tedavide kullanabileceğimiz antibiotiklerin olduğu bir gelecek umudu ile!

### **Kaynaklar**

1. The bacterial challenge:time to react; EMEA 576176/2009.
2. Barlett JG, B Spellberg, DN Gilbert. 8 ways to deal with antibiotic resistance. August 07, 2013, www.medscape.com
3. Howell L, ed. Global risks 2013, eighth edition: an initiative of the Risk Response Network. World Economic Forum, 2013.
4. Joint Programming Initiative on Antimicrobial Resistance: An emerging threat to human health. April 14, 2011
5. Spellberg B, JG Bartlett, and DN Gilbert. The Future of Antibiotics and Resistance. NEJM 2013; 368:299-302
6. Vital signs: Improving antibiotic use among hospitalized patients. MMWR March 4, 2014

# YENİ ANTİMİKROBİYALLER

Neşe SALTOĞLU

Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Enfeksiyon Hastalıkları ve  
Klinik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, İstanbul

**A**ntimikrobiyallere direnç dünyada olduğu gibi ülkemizde de önemli sorunlardan biridir. Soruna yaklaşımda antibiyotik kullanma politikaların geliştirilmesi ve uyumun artırılması, uygun ampirik antimikrobiyalin seçilmesi, kanıta dayalı uygulamanın sürdürülmesi esas olmalıdır. Bu yazıda dirençli Gram pozitif bakteriler için geliştirilen daptomisin, linezolid ve geliştirilmekte olan MRSA etkili 5. kuşak sefalosporinler, yeni glikopeptitlerden, gibi seçeneklerin yanı sıra Gram negatif ve Gram pozitif etkinliği olan tigesiklin, ertapenem, yeni sefalosporin ve kinolonlardan da söz edilecektir

## Daptomisin

Daptomisin siklik lipopeptid yapıda bir antibiyotiktir. Antibakteriyel aktivitesi kalsiyum iyon konsantrasyonuyla ilişkilidir (53). Etkisini Gram pozitif bakterinin sitoplazmik membranına bağlanıp membran bütünlüğünü bozarak gösterir. Hızlı bakterisidal aktiviteye sahiptir (49). Daptomisin hem çoğalan hem de duragan bakteriye etkilidir (43). Ayrıca biyofilm üzerine de yüksek oranda etkin bulunmuştur (42). Vankomisine azalmış duyarlılığı olan *S. aureus*'ta daptomisine azalmış duyarlılık bildirilmiştir (39). Daptomisin konsantrasyona bağlı etki gösterir, yarılanma zamanı uzun, günde tek doz kullanım için uygundur. Daptomisin böbreklerden atılır. Kreatinin klirensi <30mL/dakika altında ise doz azaltılmalıdır (45). Gram pozitif MSSA, MRSA, KNS, enterokoklara, streptokoklara, *S. pneumoniae*'ye etkilidir. Bazı gram pozitif anaeroplara; Clostridium türleri ve peptostreptokoklara da etkilidir (44, 55).

Deri-yumuşak doku enfeksiyonları (DYDE), kan dolaşımı enfeksiyonu, endokardit tedavisinde onaylanmıştır (3, 18). Diyabetik ayak enfeksiyonlarının da içeren DYDE'nda 4mg/kg/gün dozda (31, 32), kemik-eklem enfeksiyonlarının tedavisinde 6mg/kg dozda etkili bulunmuştur (46). Akciğer surfaktanın etkisi nedeni ile daptomisin pnömoni tedavisinde önerilmemiştir,

Yan etkileri bulantı, kusma, ishal, dispne, hipotansiyon, baş ağrısı olarak bildirilmiştir. Daha az görülebilen yan etki iskelet kasına toksisitesidir. CK düzeyleri hasta semptomsuz olsa da normalin 5 katına ulaştığında veya miyopati bulguları varlığında ilaç kesilmelidir. Nadiren eozinofilik pnömoni bildirilmiştir.

## Linezolid

Oksazolidinon sınıfında yer alan sentetik antibiyotiktir. Linezolid protein sentez inhibitörü olup bakteriyel protein sentezinin erken dönemini inhibe eder (10). Bakteriostatik bir etkiye sahiptir Etkisini  $T > MIC$  (MIC üzerinde kalan zaman)'e bağlı olarak gösterir. Absorbsiyonu hızlı, biyoyararlanımı %100, %85'i üriner yolla atılır. Renal hepatik yetmezlikte doz ayarlanması gerekmez. Alveolar epitelyal sıvıda, pankreatik sekresyon, kemikte uygun düzeyde belirlenmiştir, BOS'a geçebilmektedir.

Oral ve i.v uygulanabilir, erişkinde şiddetli enfeksiyonda günde 2 kez, 600mg i.v ya da oral, komplike olmayan DYDE'unda günde 2 kez, 400mg önerilir.

Gram pozitif mikroorganizmalara etkili metisiline duyarlı-dirençli *S. aureus*, KNS, vankomisin duyarlı-dirençli *E. faecium* ve *E. faecalis*, streptokoklar, penisiline dirençli dahil *S. pneumoniae* 'ya etkilidir, *M. pneumoniae*, *M. hominis*, *Ureoplasma ureolyticum*, *Nocardia*, *M. tuberculosis*, MAC, *M. marinum*'a etkili olduğu bildirilmiştir (14).

Komplike DYDE, diyabetik ayak enfeksiyonu, kemik-eklem enfeksiyonu, renal allograftin enfeksiyonu ventrikülit, menenjit, epidural apse, bakteriyemi, çeşitli lokalize enfeksiyonlarda kullanılır. MRSA'nın neden olduğu düşünülen komplike DYDE, alt ekstremitte enfeksiyonları ve diyabetik ayak tedavisi için etkin bir seçenektir (9,5). Vankomisin dirençli enterokok, VRE bakteremisi, endokardit tedavisinde önerilmiştir. Van A-Van B genotiplerde VRE direnci bildirilmiştir (14).

Tedavi süresi 2 hafta üzerinde olduğunda hematolojik yan etkiler bildirilmiştir, bunlar reversibl myelosupresyon, trombositopeni, aplazi, pansitopeni, anemi eritropoezin supresyonu, immün ilişkili trombositopeni gibidir. Serotonerjik ilaç alanlarda serotonin sendrom gelişmesi bildirilmiştir (22, 23).

## Tedizolid

Sentetik oksazolidinon derivesidir. Protein sentezini inhibe eder, 50S ribozoma bağlanır. Oral yolla 200 mg kullanılır. MSSA, MRSA, KNS, vankomisine duyarlı ve dirençli enterokok, pnömokoklar (dirençli dahil), *S. pyogenes*, *S. agalactiae* 'ya etkilidir. Akut bakteriyel DYDE'nda en az linezolid kadar etkin olduğu gösterilmiştir (41).

**Seftarolin ve seftobiprol** metisilin dirençli *Staphylococcus aureus*'a (MRSA) etkili beşinci kuşakta yer alan antimikrobiallardır. Gram negatif bakterilere karşı üçüncü ve dördüncü kuşak sefalosporinlere benzer etkileri de bulunmaktadır

## Seftarolin fosamil

Toplum kaynaklı pnömoni ve akut bakteriyel deri enfeksiyonlarında kullanım için 2010 yılında FDA onayı almış, 5 kuşak sefalosporindir (6). Günde iki kez 600 mg intravenöz infüzyon olarak verilmekte, idrarla atılmaktadır. CrCl < 30 ml/dk ve hemodiyaliz hastalarında yeterli veri olmadığından önerilmemektedir.

MRSA, vankomisin dirençli *S.aureus*, vankomisin orta duyarlı *S.aureus* (VISA), hetero-dirençli vankomisin orta duyarlı *S.aureus* (hVISA)'a etkilidir. *Neisseria meningitidis*,

*Moraxella catarrhalis*, *H.influenzae* üzerine etkinliği iyidir. *Proteus mirabilis* ile GBSL üreten *E.coli*, *K.pneumoniae*, seftaroline dirençlidir.

Komplike DYDE'nda vankomisin + aztreonamla benzer etki ve güvenilirlik saptanmıştır (11). Toplum kaynaklı hastaneye yatış gerektiren pnömonili hastada seftriaksonla benzer etki görölmüştür (17). Seftarolin-avibaktam çalışmaları sürmektedir (16).

## Seftobiproil

Seftobiproil, MSSA ve MRSA, metisiline duyarlı ve dirençli koagülaz-negatif stafilokoklar, penisiline dirençli suşlar dahil *S.pneumoniae*, ampisiline duyarlı *Enterococcus faecalis*'e etkili, *Enterococcus faecium*'a etkisi bulunmamaktadır. Çoğu duyarlı enterik gram negatif basile etkilidir (6). Amp-C betalaktamazlara dayanıklıdır. Günde iki veya üç kez 500 mg i.v infüzyon olarak verilir. Böbrek yetmezliğinde doz azaltılmalıdır. Komplike DYDE ve toplum kökenli pnömonide etkin bulunmuştur (35, 36).

## Yeni Glikopeptidler

Bu grupta televansin, dalbavansin ve oritovansinden söz edilecektir.

### Televansin

Semisentetik lipoglikopeptid ajandır. Hücre duvarı peptidoglikan sentezini inhibe eder, membran bariyer işlevinin bozulmasına yol açar. Bakterisidal etkilidir. Etkisini konsantrasyona bağımlı olarak gösterir. **Günde bir kez 10mg/kg, infüzyon önerilir.** CrCl 10-30 ml/dk: 48 saatte 10 mg/kg/gün önerilir. Gebelikte kullanılmamalıdır (kategori C). **Çocuklarda güvenlik ve etkinliği bilinmemektedir.** MRSA dahil Gram pozitif komplike DYDE ları için onaylanmıştır (25, 38). Komplike DYDE, akut bakteriyel DYDE'nda vankomisin kadar etkin bulunmuştur (30, 52). 2013 yılında televansin FDA tarafından *S. aureus* kaynaklı hastane ilişkili pnömoni ve VİP için onaylanmıştır (57). **İstenmeyen etkileri** bulantı, kusma, ishal, İştahsızlık, karın ağrısı, tat alma duyusunda bozukluk, kaşıntı, döküntü, baş dönmesi gibidir.

### Dalbavansin

Semisentetik lipoglikopeptid antibiyotik, hücre duvarı sentezini inhibe eder, parenteral kullanım önerilir. Yarılanma süresi 6-12 gündür, haftada tek doz 500mg önerilir (48). MRSA'yı da içeren gram pozitiflere etkilidir (51).Kateter ilişkili enfeksiyonda etkisi vankomisine benzer. Komplike DYDE 'nda linezolidle benzer etki bildirilmiştir. İstenmeyen etkileri; GİS intoleransı, transaminaz yüksekliği, hipokalemi, hipotansiyondur.

### Oritovansin

Semisentetik glikopeptid, hücre duvarı sentezini inhibe eder, stafilokok, VRE 'a karşı etkilidir (58). Vankomisinle karşılaştırmada etkisi benzer bulunmuştur. Yarılanma zamanı 100 saattir. Günde bir kez ya da iki günde bir kez önerilir (12).



## Tigesiklin

Tigesiklin glisilsiklinlerin ilk üyesidir. Minosiklinin yarı sentetik bir derivativesidir. Ribozomların 30 S ribozomal alt ünitesine bağlanır, protein sentezini inhibe eder. Bakteriostatik etki gösterir (15). Direnç gelişimi efflux pompası ve ribozomal bağlanma, nokta mutasyonu yolu ilelerdir.

Gram pozitif, Gram negatif ve anaerop bakterilere; metisiline dirençli *S.aureus*, *S. epidermidis*, viridans streptokoklar, vankomisine dirençli pnömokok, penisiline dirençli pnömokok, *H. influenzae*, *M. catarrhalis*, enterik Gram negatif bakteriler, *Acinetobacter*, *S. maltophilia*, ESBL yapan *E.coli*, *Klebsiella pneumoniae*'ya etkilidir. Biyofilm oluşturan *S. epidermidis* türlerine etkilidir (19,26). *Pseudomonas aeruginosa* ve *Burkholderia cepacia*'ya etkisi yoktur. Anaerop etkisi peptostreptokok, *Prevotella*, *Fusobacterium*, *Porphyromonas*, *Bacteroides* türlerine etkilidir. Atipik mikroorganizmalara; *Chlamydia pneumoniae*, *Mycoplasma* türlerine etkili, atipik mikobakterilerden *M. abscessus*, *M. chelonae*, *M. fortuitum*'a etkilidir.

Zamana bağlı öldürme etkisi gösterir. Proteinlere orta derecede bağlanır. Atılımı safra yoluyla feçesten, bir kısmı idrar yolu ilelerdir. Dokulara geçişi iyidir. 100mg yükleme dozunu takiben 12 saatte bir 50mg intravenöz olarak 30-60 dakikalık infüzyon şeklinde önerilir. Böbrek yetmezliği olan hastalarda doz ayarlanması gerekmez. Ağır karaciğer yetmezliği (Child C) olan hastalarda doz 25mg'a azaltılmalıdır (34). Gebelere ve 8 yaş altı çocuklara önerilmez.

Komplike DYDE(7) ve komplike intraabdominal enfeksiyonlarda (37) FDA onayı almıştır (40). Diyabetik ve periferik avasküler hastalıkta etkinliği iyidir (29). Toplum kökenli pnömönil hastalarda önerilmekle birlikte mortalite ile ilişkili sonuçlar bildirilmiştir. En sık yan etkiler bulantı, kusma, gastrik irritasyon, ishaldir. ALT, AST de hafif artışlar bildirilmiştir. Kaşıntı, ürtiker, döküntü, baş dönmesi çok nadir görülebilir.

## Sefditoren

Semisentetik üçüncü kuşak geniş spektrumlu sefalosporin, hücre duvarı sentezini inhibe eder. Bakterisid etkilidir. Gram pozitiflere (metisiline duyarlı *S. aureus*, *S. epidermidis*, *S. pneumoniae*, streptokok suşları, *S. pyogenes*, *S. viridans*) etkili ve gram negatif (*H. influenzae*, *M. catarrhalis*, *Neisseria meningitidis*, *N. gonorrhoeae*, *E. coli*, *Klebsiella*, *Proteus* türlerine) etkinliği iyidir (4). *P. aeruginosa*'ya, atipik mikroorganizmalara *Chlamydia*, *Legionella*, *Mycoplasma*'ya etkisi yoktur. Anaerop etkinliği peptostreptokok, *Clostridium perfringens*'e karşı iyi, bakteroides türlerine değişkendir. Orta-ciddi böbrek yetmezliği olanda doz ayarlanmalıdır. Gebelerde kontrollü çalışma yoktur, B grubunda yer alır (21). Günlük kullanım dozu ve tedavi süresi enfeksiyonun şiddetine göre oral yolla yemeklerden sonra tek doz 200-400mg/gün, yaşlı hastalarda doz ayarlanması gerekmez. H2 reseptör blokerleri, antiasidler etkinliğini azaltır. Kullanım yeri toplum kökenli pnömöni(20, 21), KOAH alevlenmesi(2), akut maksiller sinüzit, streptokoksik farenjit, komplike olmayan deri-yumuşak doku enfeksiyonlarıdır.

## Ertapenem

Ertapenem karbapenem grubu içerisinde yer alan betalaktam ajandır. Diğer karbapenemlerden etki spektrumu ve günde 1 kez kullanılabilme özelliği ile ayrılır. Ertapenemin yapısındaki

trans pozisyonunda 1 hidroksi- etil kısmı antibiyotiğin beta laktamlara dayanıklılığını arttırmaktadır (24, 28).

Etkisini bakteri hücre duvarında PBPleri inhibe ederek gösterir, bakterisidal etkiye sahiptir. Etkisini plazma ilaç konsantrasyonunun MİK'in üzerinde olduğu sürede gösterir (T>MİK). Yüksek oranda proteinlere bağlanır, yarılanma ömrü uzundur (50). Ertapenem erişkinde parenteral i.v ya da i.m olarak günde 1 g tek doz önerilir. Atılım yolu böbreklerdir, ilerlemiş ve son dönem böbrek yetmezliğinde doz ayarlaması yapılmalıdır. Karaciğer yetmezliğinde ve yaşlılarda doz ayarlanması gerekmez. Gebelik kategorisi B'dir.

Gram negatif *Enterobacteriaceae* ailesinin tüm üyelerine etkilidir. GSBL yapan mikroorganizmalara ve *H. influenzae* ve *Morexella catarrhalis*'e etkilidir (18, 33). AmpC üreten mikroorganizmalara karşı etkindir. *P.aeruginosa* ve *Acinetobacter spp* üzerine etkileri az ya da yok, MRSA'ya ve psödomonasa etkisi yoktur. Enterokoklara karşı etkisi iyi değildir. Metisiline duyarlı *S. aureus*, koagülaz negatif stafilokoklar, penisiline duyarlı-orta derecede dirençli *S.pneumoniae*, *Streptococcus agalactiae* ve *Streptococcus pyogenes*'e etkilidir. *Bacteroides*, *Clostridium*, *Fusobacterium* ve *Provetella* türlerine etkilidir. Klinik endikasyonunu komplike intraabdominal enfeksiyonlar (13), komplike DYDE, orta şiddetli diyabetik ayak enfeksiyonları(32)., komplike idrar yolu enfeksiyonları (54), toplum kökenli pnömoni hastanede yatış gerektiren grupta (56), akut pelvik enfeksiyonlar için almıştır. Yan etkileri bulantı, ishal, lokal infüzyona bağlı lokal etki, baş ağrısı olarak belirtilmiştir.

## Yeni Kinolonlar

Onbir yeni molekül klinik çalışma aşamasındadır. Bunların üçü florlu olmayan kinolonlar; nemonoksasin, ozenoksasin, KRP-AM 1977X; altısı kinolon zincirinde karbon atomunun 6. pozisyonunda florin içeren; zabofloksasin, finafloksasin, delafloksasin, JNJ-Q2, WCK771, KPI-10'u içermektedir. Kadazolid ve CBR-2092 diğer hibrid yapıda moleküllerdir (27).

## Kaynaklar

1. Alhambra A1, Cuadros JA, Cacho J, Gómez-Garcés JL, Alós JI. In vitro susceptibility of recent antibiotic-resistant urinary pathogens to ertapenem and 12 other antibiotics. J Antimicrobiol Chemother 2004 ;53(6):1090-4.
2. Anzueto A, Bishai WR, Pottumarthy S. Role of oral extended-spectrum cepems in the treatment of acute exacerbation of chronic bronchitis. Diagn Microbiol Infect Dis 2007;57(3 Suppl):31S-38S.
3. Arbeit RD, Maki D, Tally FP, Campanaro E, Eisenstein BI. Daptomycin 98-01 and 99-01 Investigators. The safety and efficacy of daptomycin for the treatment of complicated skin and skin-structure infections. Clin Infect Dis 2004 ;38(12):1673-81.
4. Barberán J, Aguilar L, Giménez MJ. Update on the clinical utility and optimal use of cefditoren. Intern J Gen Med 2012;5:455-64.
5. Bassetti M, Baguneid M, Bouza E, Dryden M, Nathwani D, Wilcox M. European perspective and update on the management of complicated skin and soft tissue infections due to methicillin-resistant Staphylococcus aureus after more than 10 years of experience with linezolid.Clin Microbiol Infect 2014; Suppl 4:3-18. doi: 10.1111/1469-0691.12463.
6. Bazan JA, Martin SI, Kaye KM. Newer beta-lactam antibiotics: doripenem, ceftobiprole, ceftaroline, and cefepime, Med Clin North Am 2011; 95(4): 743-60.

7. Breedt J, Teras J, Gardovskis J, Maritz FJ, Vaasna T, Ross DP, et al. Tigecycline 305 cSSSI Study Group Safety and efficacy of tigecycline in treatment of skin and skin structure infections: results of a double-blind phase 3 comparison study with vancomycin-aztreonam. *Antimicrob Agents Chemother* 2005; 49 (11): 465.
8. Burkhardt O, Kumar V, Katterwe D, Majcher-Peszynska J, Drewelow B, Derendorf H, et al. Ertapenem in critically ill patients with early-onset ventilator-associated pneumonia: pharmacokinetics with special consideration of free-drug concentration. *J Antimicrobiol Chemother* 2007; 59(2): 277-84.
9. Chastre J, Blasi F, Masterton RG, Rello J, Torres A, Welte T. European perspective and update on the management of nosocomial pneumonia due to methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* after more than 10 years of experience with linezolid. *Clin Microbiol Infect* 2014. Suppl 4:19-36.
10. Clemett D, Markham A. Linezolid. *Drugs* 2000; 59(4): 815-27.
11. Corey GR, Wilcox MH, Talbot GH, Thye D, Friedland T, Baculik T; on behalf of the CANVAS 1 investigators. CANVAS 1: the first Phase III, randomized, double-blind study evaluating ceftaroline fosamil for the treatment of patients with complicated skin and skin structure infections, *J Antimicrob Chemother* 2010;65 (Suppl 4): 41-51.
12. Das B, Sarkar C, Schachter J. Oritavancin - a new semisynthetic lipoglycopeptide agent to tackle the challenge of resistant gram positive pathogens. *Pak J Pharm Sci* 2013; 26 (5): 1045-55.
13. Dala Pena AS1, Asperger W, Köckerling F, Raz R, Kafka R, Warren B, et al. Optimizing Intra-Abdominal Surgery with Invanz (OASIS)-I Study Group. Efficacy and safety of ertapenem versus piperacillin-tazobactam for the treatment of intra-abdominal infections requiring surgical intervention. *J Gastrointestinal Surg* 2006; 10(4): 567-74.
14. Dickema DJ, Jones RN. Oxazolidinone antibiotics. *Lancet* 2001; 358(9297):1975-82.
15. Frampton JE, Curran MP. Tigecycline. *Drugs* 2005;65(18):2623-35.
16. Flamm RK, Farrell DJ, Sader HS, Jones RN. Antimicrobial activity of ceftaroline combined with avibactam tested against bacterial organisms isolated from acute bacterial skin and skin structure infections in United States medical centers (2010-2012). *Diagn Microbiol Infect Dis* 2014; 78 (4): 449-56.
17. File TM Jr, Low DE, Eckburg PB, Talbot GH, Friedland HD, Lee J, et al. On behalf of the FOCUS 1 investigators. FOCUS 1: a randomized, double-blinded, multicentre, Phase III trial of the efficacy and safety of ceftaroline fosamil versus ceftriaxone in community-acquired pneumonia, *J Antimicrob Chemother* 2011; 66 (Suppl 3): iii19-32.
18. Fowler VG Jr, Boucher HW, Corey GR, Abrutyn E, Karchmer AW, Rupp ME, et al. S. aureus Endocarditis and Bacteremia Study Group. Daptomycin versus standard therapy for bacteremia and endocarditis caused by *Staphylococcus aureus*. *N Engl J Med.* 2006; 355 (7): 653-65.
19. Gales AC, Jones RN, Andrade SS, Pereira AS, Sader HS. In vitro activity of tigecycline, a new glycolcycline, tested against 1,326 clinical bacterial strains isolated from Latin America. *Braz J Infect Dis* 2005; 9(5): 348-56.
20. Granizo JJ, Aguilar L, Gimenez MJ, Coronel P, Gimeno M, Prieto J. Safety profile of cefditoren. A pooled analysis of data from clinical trials in community-acquired respiratory tract infections. *Rev Esp Quimioter* 2009; 22(2): 57-61.
21. Granizo JJ, Giménez MJ, Barberán J, Coronel P, Gimeno M, Aguilar L. The efficacy of cefditoren pivoxil in the treatment of lower respiratory tract infections, with a focus on the per-pathogen bacteriologic response in infections caused by *Streptococcus pneumoniae* and *Haemophilus influenzae*: a pooled analysis of seven clinical trials. *Clin Ther* 2006; 28 (12): 2061-9.
22. Hachem RY, Hicks K, Huen A, Raad I. Myelosuppression and serotonin syndrome associated with concurrent use of linezolid and selective serotonin reuptake inhibitors in bone marrow transplant recipients. *Clin Infect Dis* 2003; 37(1): e8-11.
23. Hamel JC, Stapert D, Moerman JK, Ford CW. Linezolid, critical characteristics. *Infection* 2000; 28(1): 60-4.
24. Hammond ML. Ertapenem: a Group 1 carbapenem with distinct antibacterial and pharmacological properties. *J Antimicrob Chemother* 2004; 53 Suppl 2:ii7-9.
25. Hegde SS, Reyes N, Wiens T, Vanasse N, Skinner R, McCullough J, et al. Kaniga K, Pace J, Thomas R, Shaw JP, Obedencio G, Judice JK. Pharmacodynamics of telavancin (TD-6424), a novel bactericidal agent, against gram-positive bacteria. *Antimicrob Agents Chemother* 2004; 48(8):3043-50.

26. Hoban DJ, Bouchillon SK, Johnson BM, Johnson JL, Dowzicky MJ. Tigecycline Evaluation and Surveillance Trial (TEST Program) Group. In vitro activity of tigecycline against 6792 Gram-negative and Gram-positive clinical isolates from the global Tigecycline Evaluation and Surveillance Trial (TEST Program, 2004). *Diagn Microbiol Infect Dis* 2005 Jul;52(3):215-27. 2005; 52(3): 215-27.
27. Karpiuk I, Tyski S. Looking for the new preparations for antibacterial therapy III. New antimicrobial agents from the quinolones group in clinical trials. *Przegl Epidemiol* 2013; 67(3): 455-60, 557-61.
28. Keating GM, Perry CM. Ertapenem: a review of its use in the treatment of bacterial infections. *Drugs* 2005;65 (15): 2151-78.
29. Kosinski MA, Lipsky BA. Current medical management of diabetic foot infections. *Expert Rev Anti Infect Ther* 2010; (11): 1293-305.
30. Krause KM, Barriere SL, Kitt MM, Benton BM. *Diagn Microbiol Infect Dis* 2010;68:181-5.
31. Lipsky BA, Stoutenburgh U. Daptomycin for treating infected diabetic foot ulcers: evidence from a randomized, controlled trial comparing daptomycin with vancomycin or semi-synthetic penicillins for complicated skin and skin-structure infections. *J Antimicrob Chemother* 2005;55 (2):240-5.
32. Lipsky BA, Berendt AR, Cornia PB, Pile JC, Peters EJ, Armstrong DG, et al. Infectious Diseases Society of America. 2012 Infectious Diseases Society of America clinical practice guideline for the diagnosis and treatment of diabetic foot infections. *Clin Infect Dis* 2012; 54 (12): e132-73.
33. Livermore DM, Carter MW, Bagel S, Wiedemann B, Baquero F, Loza E, et al. In vitro activities of ertapenem (MK-0826) against recent clinical bacteria collected in Europe and Australia. *Antimicrob Agents Chemother* 2001; 45 (6): 1860-7.
34. Meagher AK, Ambrose PG, Graseola TH, Ellis-Grosse EJ. The pharmacokinetic and pharmacodynamic profile of tigecycline. *Clin Infect Dis* 2005; 41 Suppl 5 :S333-40.
35. Nicholson SC, Welte T, File TM Jr, Strauss RS, Michiels B, Kaul P, et al. A randomised, double-blind trial comparing ceftobiprole medocartil with ceftriaxone with or without linezolid for the treatment of patients with community-acquired pneumonia requiring hospitalisation. *Int J Antimicrob Agents* 2012; 39(3): 240-6.
36. Noel GJ, Bush K, Bagchi P, Janus J, Strauss RS. A randomized, double-blind trial comparing ceftobiprole medocartil with vancomycin plus ceftazidime for the treatment of patients with complicated skin and skin structure infections. *Clin Infect Dis* 2008;46(5):647-55.
37. Oliva ME, Rekha A, Yellin A, Pasternak J, Campos M, Rose GM, et al, 301 Study Group. A multicenter trial of the efficacy and safety of tigecycline versus imipenem/cilastatin in patients with complicated intra-abdominal infections [Study ID Numbers: 3074A1-301-WW; ClinicalTrials.gov Identifier: NCT00081744]. *BMC Infect Dis.* 2005; 5:88.
38. Pace JL, Judice JK. Telavancin (Theravance). *Curr Opin Investig Drugs* 2005 ;6(2):216-25.
39. Patel JB, Jevitt LA, Hageman J, McDonald LC, Tenover FC. An association between reduced susceptibility to daptomycin and reduced susceptibility to vancomycin in *Staphylococcus aureus*. *Clin Infect Dis* 2006; 42(11): 1652-3.
40. Postier RG, Green SL, Klein SR, Ellis-Grosse EJ, Loh E. Tigecycline 200 Study Group. Results of a multicenter, randomized, open-label efficacy and safety study of two doses of tigecycline for complicated skin and skin-structure infections in hospitalized patients. *Clin Ther* 2004; 26 (5): 704-14.
41. Prokocimer P, De Anda C, Fang E, Mehra P, Das A. Tedizolid phosphate vs linezolid for treatment of acute bacterial skin and skin structure infections: the ESTABLISH-1 randomized trial. *JAMA* 2013; 309(6):559-69. doi: 10.1001/jama.2013.241.
42. Raad I, Hanna H, Jiang Y, Dvorak T, Reitzel R, Chaiban G, et al. Comparative activities of daptomycin, linezolid, and tigecycline against catheter-related methicillin-resistant *Staphylococcus bacteremic* isolates embedded in biofilm. *Antimicrob Agents Chemother* 2007; 51(5): 1656-60.
43. Rybak MJ, Bailey EM, Lamp KC, Kaatz GW. Pharmacokinetics and bactericidal rates of daptomycin and vancomycin in intravenous drug abusers being treated for gram-positive endocarditis and bacteremia. *Antimicrob Agents Chemother* 1992; 36(5): 1109-14.
44. Sader HS, Streit JM, Fritsche TR, Jones RN. Antimicrobial activity of daptomycin against multidrug-resistant Gram-positive strains collected worldwide. *Diagn Microbiol Infect Dis* 2004; 50(3): 201-4.
45. Safdar N, Andes D, Craig WA. In vivo pharmacodynamic activity of daptomycin. *Antimicrob Agents Chemother* 2004; 48 (1): 63-8.

46. Saueremann R, Rothenburger M, Graninger W, Joukhadar C. Daptomycin: a review 4 years after first approval. *Pharmacology* 2008;81(2):79-91.
47. Segreti JA, Crank CW, Finney MS. Daptomycin for the treatment of gram-positive bacteremia and infective endocarditis: a retrospective case series of 31 patients. *Pharmacotherapy* 2006;26(3): 347-52.
48. Seltzer E, Dorr MB, Goldstein BP, Perry M, Dowell JA, Henkel T. Dalbavancin Skin and Soft-Tissue Infection Study Group. Once-weekly dalbavancin versus standard-of-care antimicrobial regimens for treatment of skin and soft-tissue infections. *Clin Infect Dis* 2003; 37(10): 1298-303.
49. Silverman JA, Perlmutter NG, Shapiro HM. Correlation of daptomycin bactericidal activity and membrane depolarization in *Staphylococcus aureus*. *Antimicrob Agents Chemother* 2003; 47(8): 2538-44.
50. Shah PM. Parenteral carbapenems. *Clin Microbiol Infect* 2008;14 Suppl 1:175-80.
51. Streit JM, Fritsche TR, Sader HS, Jones RN. Worldwide assessment of dalbavancin activity and spectrum against over 6,000 clinical isolates. *Diagn Microbiol Infect Dis* 2004; 48(2):137-43.
52. Stryjewski ME, Graham DR, Wilson SE, et al. Telavancin versus vancomycin for the treatment of complicated skin and skin-structure infections caused by gram-positive organisms. *Clin Infect Dis* 2008; 46:1683-93.
53. Tally FP, Zeckel M, Wasilewski MM, Carini C, Berman CL, Drusano GL, Oleson FB Jr. Daptomycin: a novel agent for Gram-positive infections. *Expert Opin Investig Drugs*. 1999; 8(8):1223-38.
54. Tomera KM, Burdman EA, Reyna OG, Jiang Q, Wimmer WM, Woods GL, et al. Protocol 014 Study Group. Ertapenem versus ceftriaxone followed by appropriate oral therapy for treatment of complicated urinary tract infections in adults: results of a prospective, randomized, double-blind multicenter study. *Antimicrob Agents Chemother*. 2002; 46(9): 2895-90.
55. Tyrrell KL, Citron DM, Warren YA, Fernandez HT, Merriam CV, Goldstein EJ. In vitro activities of daptomycin, vancomycin, and penicillin against *Clostridium difficile*, *C. perfringens*, *Fingoldia magna*, and *Propionibacterium acnes*. *Antimicrob Agents Chemother* 2006; 50(8): 2728-31.
56. Vetter N, Cambronero-Hernandez E, Rohlf J, Simon S, Carides A, Oliveria T, et al. Protocol 020 Study Group. A prospective, randomized, double-blind multicenter comparison of parenteral ertapenem and ceftriaxone for the treatment of hospitalized adults with community-acquired pneumonia. *Clin Ther* 2002;24(11):1770-85.
57. VIBATIV (telavancin)-Highlights of prescribing information. [http://www.vibativ.com/docs/VIBATIV\\_PI\\_Final.pdf](http://www.vibativ.com/docs/VIBATIV_PI_Final.pdf) (Accessed on October 09, 2013).
58. Zhanel GG, Schweizer F, Karlowsky JA. Oritavancin: mechanism of action. *Clin Infect Dis* 2012;54 Suppl 3: S214-9.

# YENİ ANTİMİKROBİYALLER İÇİN YENİ HEDEFLER

Tanıl KOCAGÖZ

Acıbadem Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, İstanbul

**A**lexander Fleming'in 1929 yılında yaptığı gözlem ile başlayan antibiyotik ve diğer antimikrobiyalleri geliştirme süreci, mikroorganizmaların bunlara karşı hızla direnç kazanması ile günümüzde amansız bir yarışa dönüşmüş durumdadır. Direnç gelişmesi olanaksız bir antimikrobiyal geliştirilebilir mi? İnsan hücrelerine zarar vermeden mikroorganizmaları öldürmek için yeni hedefler, yeni yaklaşımlar bulunabilir mi?

## RNA'yı Hedef Alan Yaklaşımlar

### *mRNA'yı Hedef Alan Moleküller*

Son yılların en büyük bilimsel sürprizlerinden birisi belki de insan hücresindeki gen sayısının bir tırtılınki ile yaklaşık aynı sayıda olması idi. İnsan genom projesi ilerledikçe hem bu çarpıcı durum ortaya çıktı hem de insanda proteine dönüşmeyen birçok DNA bölgesinin bulunduğu anlaşıldı. Önce gereksiz, anlamsız diye düşünülen bu DNA'nın önemli bir kısmının RNA'ya çevrildiği ancak bu RNA'lardan protein yapılmadığı anlaşıldı. Bu RNA moleküllerinin büyük çoğunluğu çok küçük RNA molekülleri olduğundan bunlara mikro RNA (miRNA) adı verildi. Craig Mello ve Andrew Fire 1998 yılında yayınladıkları makalede, araştırmalarda sıkça kullanılan bir nematot olan *Caenorhabditis elegans*'a çift zincirli RNA enjekte edilmesinin kas proteininin yapımını önemli ölçüde azalttığını bildirdiler. Buna RNA engellemesi (RNA interference –RNAi–) adını verdiler. Bu alanda yaptıkları çalışmalar 2006 yılında kendilerine Nobel ödülü kazandırdı. RNA engellemesinin memeli hücreleri dahil çok sayıda canlıda yaygın olarak işleyen bir mekanizma olduğu anlaşıldı (1, 2).

RNA engellemesinde iki çeşit küçük RNA moleküllü anahtar rol oynamaktadır. Hücre dışından kaynaklanan çift zincirli RNA'lardan oluşan küçük baskılayıcı RNA'lara siRNA (small inhibitory RNA) adı verilmektedir. Bu mekanizma doğada en fazla bitkiler tarafından, bitki çift zincirli RNA virüslerinden korunma amacı ile kullanılmaktadır. Birçok hücrenin kendisi de genlerin çalışmasını ayarlamak için küçük çift zincirli RNA'lar, miRNA, üretmektedir. Bunlara ait DNA dizileri hücre kromozomunda yer alır. Buradan üretilen tek zincirli RNA'lar kendi içlerindeki uygun diziler dolayısı ile kendi üzerlerine katlanarak çift zincirli RNA'ları oluştururlar (1, 3).

İster çift zincirli RNA'dan siRNA yapılacak olsun, isterse kromozomal kökenli RNA'dan miRNA yapılacak olsun, bu moleküllerin oluşmasını ve bunlar aracılığı ile RNA susturulmasını

başaran bazı proteinlerden oluşan bir bileşkedir. Buna “RNA ile uyarılan susturucu kompleks” (“RNA induced silencing complex –RISC–” adı verilmiştir.) Bu komplekse bağlanan çift zincirli RNA 21-28 nükleotit olacak şekilde iki ucunda 2-3 nükleotit çıkıntılar bırakacak şekilde “argonot” (eskiden gemilerin iki ucunda savaşan kılıçlı denizciler) proteinleri tarafından kesilir. Daha sonra bu kompleks iki zinciri birbirinden ayırır. Zincirlerden bir tanesi hedef mRNA’ya bağlanır. Bağlantı bölgesinden mRNA RISC tarafından kesilerek işlevsiz hale getirilir. Kesilme bağlantı bölgesinin ortasında gerçekleşir ve hedef RNA kesilirken RISC’teki küçük siRNA korunur. Bileşik, çok sayıda, dizisini tanıdığı RNA’yı keserek inaktive edebilir. RNA susturmak için miRNA kullanıldığında hedef RNA kesilmeyebilir ancak yine de RISC bağlanması ile mRNA’dan protein yapımı durur (1).

Küçük RNA’lar ile genlerin susturulabilmesi, günümüzde kesin tedavisi olmayan birçok hastalığın bu yolla tedavi edilebileceği düşüncesini gündeme getirmiştir. Bu hastalıklar arasında en başta kanserler, HIV, hepatit enfeksiyonları gibi enfeksiyonlar, çeşitli metabolizma bozuklukları ve otoimmün hastalıklar yer almaktadır (3).

Küçük RNA’larla gen susturma stratejisi viral hastalıkların tedavisinde çok umut vericidir. Bugüne dek çok sayıda hem DNA, hem de RNA virüsleri hedef alınmıştır. Bunlar arasında Epstein–Barr virus (EBV), Ayak ve Ağız Hastalığı Virüsü (foot and- mouth disease virus –FMDV–), Hepatit B virüsü (HBV), Hepatit C virüsü (HCV), İnsan Bağışıklık Yetmezliği Virüsü tip 1 (human immunodeficiency virus type 1 -HIV-1-), İnsan Papilloma Virüsü (human papilloma virus –HPV-), İnfluenza Virüs A (influenza virus A), Marburg virüsü, İnsan Parainfluenza Virüsü (human parainfluenza virus –PIV-), Poliovirus, Rotavirus, RSV, SARS-CoV (severe acute respiratory syndrome – associated coronavirus), veziküler stomatit virüsü (VSV), ve Batı Nil Virüsü (West Nile virus –WNV-) yer almaktadır. siRNA ile antiviral tedavinin diğer tedavilere göre önemli avantajları vardır. Öncelikle viral hedef konak hücre genlerinden özgül olarak ayırt edilebilmektedir. Günümüzdeki antiviral ilaçlar tersine transkriptaz ya da proteaz gibi az sayıda hedefin aktif bölgelerine karşı hazırlanmaktadır. siRNA ise kısa viral nükleik asit dizilerine karşıda hazırlandığında çok sayıda hedef bölge bulunabilmektedir. Aktif bölgeye karşı ilaç tasarımı ve geliştirilmesi yıllar süren bir süreçtir. Oysa viral nükleik asit dizileri saptanır saptanmaz siRNA molekülleri hazırlanıp denemelere başlanabilmektedir. Bitkilerde önemli bir antiviral mekanizma olan RNA susturulması, memeli hücreleri için de önemli bir doğala ödzeş koruma mekanizması haline gelebilir (4, 5). Hepatit B ile enfekte hücre kültürleri ve farelerde yapılan bir çalışmada siRNA ile HBs antijeninde %85, HBc antijeninde %99 azalma sağlanmıştır (6). Fareler üzerinde yapılan bir başka çalışmada RSV (Respiratory Syncytial Virus) ve Parainfluenza virüs enfeksiyonları, burun içerisine püskürtülen siRNA’lar ile engellenebilmiştir (7).

Tüm bu avantajlarına karşın antiviral amaçlı RNA susturulmasının aşılması gereken sorunları vardır. Virüsler çok hızlı çoğalırlar ve genlerinde mutasyonlar, küçük delesyonlar oluşturarak siRNA moleküllerine dirençli hale gelebilirler. Birçok virüsün RNA’den korunmak için bu mekanizmayı etkisiz kılan proteinler ürettiği de anlaşılmıştır. Vaccinia virüsünün E3L, influenza virüsünün NS1, HIV virüsünün TAT genininin RNA’yi engellediği anlaşılmıştır. TAT’ın doğrudan RNA’yı kesen enzimin (“Dicer” –dilimleyici-) işlevini engellediği belirlenmiştir (5).

Yakın zamanda yapılan çalışmalar ile siRNA'ların antibakteriyel olarak da kullanılabileceği gösterilmiştir. Bakterilerde viral nükleik asitleri ortadan kaldırmak kullanılan CRISPR-Cas sistemi kendi genlerinin dizisini taşıyan çift zincirli RNA'lar ile karşılaştığında, kendi DNA larını parçalayarak kendi kendilerini öldürürler (8).

Şu anda RNAi tedavisi hala emekleme çağındadır. Çeşitli yan etkileri ortaya çıkartabilecek mekanizmalar şimdiden düşünülebilmektedir. Örneğin kullanılan RNA molekülleri çok kısa diziler olduğu için hedef dışı birçok gen dizisi ile etkileşebilme olasılığı vardır. Biyoinformatik incelemeler ile bu etkileşimler öngörülmeye çalışılsa da in vitro ve in vivo ortamda denenmeden hiçbir siRNA molekülünün etkisini kestirmek olanaklı değildir. Şu anda deneylerde siRNA etkileri daha çok mRNA düzeylerine bakarak izlenmektedir. Ancak mRNA düzeyi her zaman protein miktarını yansıtmayabilmektedir. Bu nedenle mRNA düzeyi ile etki gösterildikten sonra protein düzeylerinin saptanması da çok önemlidir. siRNA için farmakokinetik çalışmalar henüz yapılmamıştır; siRNA moleküllerinin farmakokinetik özellikleri bilinmemektedir. Bir başka çözüm bekleyen konu halen büyük miktarlarda siRNA üretiminin kısıtlı olması ve bu molekülleri tam saf olarak elde etmekte sorun yaşanmasıdır. Şu andaki en önemli teknik sorun siRNA moleküllerini hücre içerisine gönderebilmektir. Bunu başarabilmek için nanoteknolojiden yararlanılmaktadır (9).

### ***tRNA Yapımını Bozan İlaçlar***

Bakterilerde ve insan hücrelerinde tRNA yapımında görev alan enzimler önemli farklılıklar gösterebilmektedir. Bakterilerdeki bu farklı enzimler yeni ilaçlar için hedef olabilir. Üzerinde çalışılan önemli bir grup molekül aminoasit tRNA sentetaz inhibitörleridir. tRNA sentezini başka aşamada bozan ilaç geliştirme çalışmaları da devam etmektedir (10).

### ***Olası Yeni Protein İlaç Hedefleri***

Günümüzde biyoinformatik çalışmalar ile bakterilerde ilaç hedefi olabilecek proteinler kolayca saptanabilmekte, insan hücrelerindeki benzerlikleri ile karşılaştırılabilmektedir. E. coli üzerinde yapılan çalışmalarda proteinlerinin 319 tanesinin (%7'sinin) ilaç hedefi olabileceği belirlenmiş, bunlardan 63 tanesinin insan proteinlerine belirgin oranda benzerlik gösterdiği saptanmıştır. Geriye kalan 256 proteinin insan hücrelerinde bulunmadığı ve ilaç hedefi olabileceği sonucuna varılmıştır. Bu tür yaklaşımlar çok sayıda yeni antibakteriyel ilacın akılcı bir şekilde geliştirilmesini sağlayabilir (11).

### ***İlaç Direncini Ortadan Kaldıran İlaç Modifikasyonları***

Hedefi bir protein olan ilaçlara karşı bakteriler kolayca direnç kazanabilmektedir. İlaç hedefi proteinlerin genlerindeki kendiliğinden mutasyonlar, proteinin ilaca afinitesini azaltarak dirence neden olmaktadır. Bu tür direncin oluşabilmesi için iki özelliğin birlikte yerine getirilmesi gerekir. Birincisi oluşan değişikliğin ilaca affiniteyi azaltması, ikincisi ise proteinin (enzimin) işlevini devam ettirmesi. Bu iki kuralı birlikte yerine getirebilen mutasyonlar çok kısıtlı çeşittir. Genelde bu değişiklikler hep aynı noktada, bir veya birkaç benzer amino asit değişikliği



şeklinde olur. Bu nedenle direnç gelişen ilacın modifiye edilerek proteinin yeni şekline bağlanacak hale getirilmesi, dirençli bakterilere karşı ilaç geliştirmede önemli yeni bir strateji olabilir.

### **Yarışın Bir Kazananı Var mı?**

Şu anda mikroorganizmalar antimikrobiyallere karşı, yeni antimikrobiyal geliştirme hızından daha hızlı direnç kazanmaktadırlar. Mikroorganizmalar “direnç-ilaç geliştirme” yarışında şu anda öne geçmiş görünmekle birlikte biyoinformatik ve yeni araştırma teknolojileri sayesinde bu yarışta önümüzdeki yıllarda araştırmacılar için yeniden öne geçmek olanaklı görünmektedir.

### **Kaynaklar**

1. Zachte E. RNA interference. [http://en.wikipedia.org/wiki/RNA\\_interference](http://en.wikipedia.org/wiki/RNA_interference)
2. Fire A, Xu S, Montgomery M, Kostas S, Driver S, Mello C. “Potent and specific genetic interference by double-stranded RNA in *Caenorhabditis elegans*”. *Nature*. 1998; 391:806–811.
3. Rayburn ER, Zhang R. Antisense, RNAi, and Gene Silencing Strategies for Therapy: Mission Possible or Impossible. *Drug Discov. Today*. 2008; 13:513–521.
4. Pantaleo V, Szittyá G, Burgyán J. Molecular bases of viral RNA targeting by viral siRNA programmed RISC. *J. Virol.* doi:10.1128/JVI.02383-06; 2007.
5. Leonard JN, Schaffer DV. Antiviral RNAi therapy: emerging approaches for hitting a moving target. *Gene Therapy*. 2006; 13:532–540.
6. McCaffrey, A. P. et al. Inhibition of hepatitis B virus in mice by RNA interference - *Nature Biotech.* 2003; 21:639-644.
7. Bitko, V. et al. Inhibition of respiratory viruses by nasally administered siRNA. *Nature Med.* 2005; 11:50-55.
8. A. A. Gooma, H. E. Klumpe, M. L. Luo, K. Selle, R. Barrangou, C. L. Beisel. Programmable Removal of Bacterial Strains by Use of Genome-Targeting CRISPR-Cas Systems. *mBio*, 2014; 5 (1): e00928-13 DOI: 10.1128/mBio.00928-13.
9. Li SD, Chen YC, Hackett MJ, Huang L. Tumor-targeted Delivery of siRNA by Self-assembled Nanoparticles. *Molecular Therapy* vol. 2008; 16:163–169.
10. Schimmel P, Tao J, Hill J. Aminoacyl tRNA synthetases as targets for new anti-infectives. *The FASEB Journal*. 1998. 12:1599-1609.
11. Bakheet TM, Doig AJ. Properties and identification of antibiotic drug targets. *BMC Bioinformatics*. 2010, 11:195.

# KARBAPENEMAZLARIN BAŞARISI: PLAZMİDLER VE KLONLAR

Zeynep GÜLAY

Dokuz Eylül Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, İzmir

**S**on yıllarda sıklığı giderek artan karbapenemaz üreten Enterobacteriaceae; çoklu dirençli *Acinetobacter baumannii* ve karbapenemlere dirençli *Pseudomonas aeruginosa* tüm dünyada olduğu gibi ülkemizde de sorun oluşturmaktadır. Bu bakterilerin ortak özellikleri, hastalar ve çevrede uzun süre kalabilmeleri, direnç özelliklerini gerek klonal yayılımla gerekse plazmidler aracılığıyla yayabilmeleridir. Özellikle *Acinetobacter baumannii*, kuruluğa dirençli olması, cansız yüzeylere tutunma ve biyofilm oluşturma özelliği, insan solunum yolu epiteline tutunma ve invazyon özelliği ve tüm bunlarla kompleks bir ilişkisi de olan çok ilaca direnç özelliği ile hastane ortamlarında sorun oluşturmaktadır.

Gram negatif bakteriler, büyük ve hidrofobik molekülleri geçirmeyen dış zarları nedeniyle zaten glikopeptidler, daptomisin, rifampisin gibi çeşitli antibiyotiklere doğal olarak dirençlidir. Dış zar ayrıca diğer antibiyotiklerin de geçişini yavaşlatarak, daha sonraki direnç mekanizmalarına (beta-laktamazlar ve aktif pompa sistemleri gibi) daha duyarlı hale getirmektedir.

## **Enterobacteriaceae Üyelerinde Karbapenem Direnci**

*Enterobacteriaceae* üyelerinde karbapenem direnci en sık karbapenemleri hidrolize eden beta-laktamazlara (karbapenemazlar) bağlıdır.

Karbapenemazlar; penisilinleri, çoğu zaman sefalosporinleri ve değişen derecelerde olmak üzere karbapenemleri ve monobaktamları hidrolize eden beta-laktamazlardır. Monobaktamlar, metallo-beta-laktamazlar tarafından parçalanmazlar.

GSBL'lerin tüm dünyada, bu arada ülkemiz hastanelerinde de >%50 prevalans değerlerine ulaşması karbapenem kullanımını arttırmış ve karbapenem direnci gelişimine zemin hazırlamıştır. Enterobacteriaceae üyelerinde karbapenem direnci, yüksek düzey AmpC veya GSBL yapımı ve porin kaybı gibi birleşik mekanizmalarla görülebileceği gibi, günümüzdeki esas sorun karbapenemaz yapımıdır. *Enterobacteriaceae* üyelerinde A,B,D sınıfı karbapenemazlar görülebilmektedir. Bunlar arasında en ünlüleri A sınıfından KPC, B sınıfından metalloenzim NDM ve ülkemiz için de -hiç kuşkusuz- D grubundan OXA-48'tir. OXA-48 özellikle hastane kökenli *K.pneumoniae* izolatlarında giderek yayılmaktadır. Örneğin, DEÜ hastanesinde 2013 yılı için kan kültüründen üretilen *K.pneumoniae* izolatlarının %44'ü karbapenemlere dirençlidir ve bunların %90'nı OXA-48 üretmektedir.

## 1. Klinik ve/veya Epidemiyolojik Önemi

Avrupa'da karbapenemazların yayılma problemi, birçok Akdeniz ülkesinde 1990'ların ikinci yarısında başlamış ve temel olarak *Pseudomonas aeruginosa*'da gözlenmiştir. Daha sonraları, Yunanistan'da *Klebsiella pneumoniae* izolatlarında bir Verona integron aracılı metallo- $\beta$ -laktamazı (VIM) salgını ortaya çıkmış (2), bunu bir *K.pneumoniae* Karbapenemazı (KPC) salgını izlemiştir. Günümüzde KPC, Avrupa ülkelerinde Enterobacteriaceae üyelerinde en sık bulunan karbapenemazdır. İnvazif *K.pneumoniae* izolatlarının Yunanistan için yaklaşık %60'ı, İtalya için yaklaşık %15'i, karbapenemlere dirençlidir.

Ulusal verilerimize bakıldığında EARSS 2009 yılında invazif *Klebsiella pneumoniae* izolatlarının %2.7'sinde karbapenem direnci saptanmışken, 2011 Ulusal Antimikrobiyal Direnç Sürveyans Sistemi verilerine göre karbapenem direnci >%20 dir (imipenem için %27; meropenem için %21). Diğer Avrupa ülkelerinde de salgınlar gözlenmesine rağmen, invazif izolatlardaki problem bu denli yaygın değildir.

Problem yaratan en önemli karbapenemazlar, 1996'da ABD'den ilk kez bildirilen KPC, özellikle Hindistan ve Ortadoğu ülkelerinde prevalansı yüksek olan ve Avrupa ülkelerine taşınan Yeni Delhi metallo beta-laktamazı (New Delhi metallo- $\beta$ -lactamase; NDM) ve Türkiye'den köken almış olan OXA-48- benzeri  $\beta$ -laktamazlardır. OXA-48- benzeri enzimler, çeşitli Avrupa ülkelerinde salgınlar yapmıştır, şimdi de tüm dünyada hızla yayılmaktadır.

Yukarıda da belirtildiği gibi ülkemizdeki en yaygın karbapenemaz OXA-48 olmakla birlikte farklı karbapenemazlar da bildirilmektedir. Bunlar arasında VIM-5, IMP-1, NDM-1 ve en son olarak da KPC-2 sayılabilir. Özellikle NDM-1'in en sonucusu bir özel üniversite hastanesinde yeni doğan ile ilişkili bir salgınla ilişkili olarak farklı şehir ve türlerden giderek artan oranlarda bildirilmesi; yine 2014 yılında iki farklı hastaneden (biri yukarıdaki ile aynı) Yunanistan'da salgın oluşturmuş ve karbapenem direncinin %60'lara çıkmasına neden olmuş olan KPC-2'nin de bildirilmesi, Enterobacteriaceae üyelerinde karbapenemaz sorununun boyutlarının artacağını düşündürmektedir.

Karbapenemazlar, tüm beta-laktamlara dirence yol açmaları nedeniyle bir endişe kaynağı oluşturmaktadır, çünkü karbapenemaz üreten suşlar genellikle diğer direnç mekanizmalarını da taşıdıkları için çoklu dirençlidirler ve karbapenemaz üreten Enterobacteriaceae enfeksiyonları yüksek mortalite hızları ile ilişkilidir.

## 2. Direnç Mekanizması

Karbapenemazların çoğu, plazmidler üzerindeki transpoze olabilen elemanlarca kodlanan, kazanılmış enzimlerdir. Karbapenemazlar çeşitli düzeylerde eksprese edilebilir. Ayrıca gerek biyokimyasal özellikleri gerekse etkiledikleri beta-laktam spektrumu açısından birbirlerinden farklıdırlar. Ekspresyon düzeyi,  $\beta$ -laktamazın özellikleri, diğer direnç mekanizmalarının varlığı (diğer  $\beta$ -laktamazlar, aktif pompa, geçirgenlik değişimleri), karbapenemaz-üreten izolatlarda gözlenen farklı direnç fenotiplerine yol açmaktadır. Enterobacteriaceae üyelerinde karbapenem duyarlılığında azalma, GSBL veya AmpC enzim üretimi ve porin değişimleri veya kaybı ile birlikteyse de görülebilmektedir.

Karbapenemaz üreten izolatların çoğu genişlemiş spektrumlu (oksimino) sefalosporinlere de dirençlidir. Bazı enzimlerin varlığında (ör OXA-48 benzeri enzimler), bakteri

sefalosporinlere duyarlı da olabilir. Ancak, bu izolatların çoğu aynı zamanda CTX-Mler gibi bir sefalosporin-hidrolze eden bir enzim de ürettiğinden, sıklıkla sefalosporin direnci izlenir. Karbapenemazların, özellikle de karbapenemlerden (imipenem, meropenem, ertapenem, doripenem) birine duyarlılıkta azalmaya neden olmuşsa, epidemiyolojik açıdan yüksek önem taşıdığı kabul edilir.

### 3. Yayılımı

Enterobacteriaceae üyelerindeki karbapenemazların çoğu plazmidlerle yayılmaktadır. Bunun yanı sıra MLST (multilocus sequence typing) analizi ile bazı "yüksek riskli klonlar" da belirlenmiştir. MLST analizi yedi metabolik gene ait kısa dizilerin analizinin yapıldığı bir yöntemdir. Sonuçta izolat için Sekans Tipleri (ST) belirlenmektedir. ST'ler Klonal Kompleksler (CC) içerisinde toplanır. MLST analizi özellikle uzun süreli ilişkilerin, ortak kökenlerin evrimsel süreçlerinin izlenmesinde en iyi yöntemdir. MLST ile elde edilen Yüksek riskli klonlar arasında; CTX-M yayılımı (özellikle CTX-M15) ile ilgili *E.coli* ST131 O25bH4; NDM-1 ile ilgili olarak *E.coli* ST101; KPC'lerin yayılımı ile ilgili olarak *Klebsiella pneumoniae* ST258 sayılabilir. Son yıllarda KPC-2 ve NDM-1 Fransa ve İrlanda 'da, *E.coli* ST 131 klonunda da gösterilmiştir. NDM-1'in bu klonda CTX-Mlerin tüm dünyada yayılımından sorumlu IncFu tipi bir plazmid üzerinde bulunması ayrıca düşündürücüdür.

OXA-48 ise neredeyse her zaman benzer yaklaşık 70 kb.lik IncL/M plazmidlerle yayılmaktadır. *E.coli* izolatlarında kromozomal yerleşim de bildirilmiştir. OXA-48 ülkemizde ilk kez 2001 yılında izole edilmiştir. Bu izolattan pOXA48a adlı plazmid elde edilmiştir. Bu plazmidin yıllar içerisinde İstanbul ve tüm ülkeye yayıldığı ve OXA-48'i de yaydığı görülmektedir. *bla*<sub>OXA-48</sub> geni plazmid içerisinde Tn1999 transpozonu (ve değişik varyantları) ile ilişkili olarak bulunmaktadır. Tn 1999 plazmidde transferi inhbe eden *tir* geni içerisine yerleştiğinden bu genin aktivasyonu plazmidin kolayca yayılmasını sağlamaktadır. Yine plazmidde bulunan *repB* geni bu plazmid için bir belirteç olarak kabul edilmektedir. OXA-48 varyantlarından OXA181, IS Ecp1 (CTX-M yayılımını sağlamıştır) OXA164 ise IS4 elemanları ile ilişkilidir.

KPC karbapenemazları ise özellikle Tn4401 ile ilişkili plazmidlerle yayılmaktadır.

### 2. Tedavi Sorunu

Karbapenemaz üretimi, tedavi seçeneklerini kolistin gibi eski ve toksik olabilen antibiyotikle- re indirgemıştır. Şu anki seçenekler kolistin, tigesiklin, fosfomisinidir. Yeni metallo-betalaktamaz inhibitörleri (ör. Avibactam NXL104) geliştirilme aşamasındadır. Kolistine dirençli izolatlar da bildirilmeye başlamıştır. Tedavide mutlaka kombinasyon uygulanması gereklidir.

### Nonfermentatif Bakteriler

1. *Acinetobacter baumannii*: Sağlık hizmeti sektörü üzerinde büyük bir yük oluşturan bu mikroorganizmayı diğerlerinden ayıran özellik, birçok antibakteriye direnç gösterme kapasitesidir. Bu nedenle enfeksiyonlarında sıklıkla son çare antibiyotiklere (kolistin, tigesiklin) başvurulmaktadır. *A.baumannii* farklı toplumlarda farklı enfeksiyonlara yol açabilmekle birlikte, özellikle ülkemiz ABD ve Avrupa ülkelerinde Yoğun Bakım

Ünitelerinde ventilatör ile ilişkili pnömoni ve katater ile ilişkili KDİ etkeni olarak karşımıza çıkmaktadır. 2009 yılında yayınlanmış çok merkezli bir çalışma, bu bakterinin YBÜ enfeksiyonlarının %9'undan sorumlu olduğunu göstermiştir. Hastalarda *A.baumannii* enfeksiyonu gelişmesi hastanede yatış süresini ve mortaliteyi arttırmaktadır. Son zamanlarda, *A.baumannii*'nin uzun süreli bakım veren kurumlarda da sık görülen bir enfeksiyon ve kolonizasyon etkeni olduğu belirtilmektedir. *A.baumannii*, ayrıca Çöl Fırtınası Harekatı'nda başlayıp Irak'ın işgaline kadar uzanan süreçte, ABD'li askeri personelde ağır, nekrotizan yara yeri enfeksiyonu ve bununla ilişkili bakteriyemi etkeni olarak karşımıza çıkmaktadır. Buradan da anlaşılacağı gibi bu bakteri, kuruluğa, dış ortam şartlarına, yüksek tuz konsantrasyonlarına ve çöl koşullarına dayanıklı bir bakteri olarak hastane ortamına tamamen adapte olmuş durumdadır. İlaç direnci ile ilgili 10 direnç adası (Aba-R) bulunmuştur. Bu bakteriler, IS elemanları, AbaRleri, plazmidleri aracılığıyla farklı direnç özellikleri kazanma yeteneğindedirler.

*A.baumannii*'de karbapenem direnci, OXA karbapenemazlarından kaynaklanmaktadır. OXA karbapenemazlarından OXA-51 bu türde intrinsik bulunan bir karbapenemazdır. Genin önüne IS *Aba1* dizisinin gelmesi ile ekspresyonun artması karbapenem direncine yol açmaktadır. Daha önemli olan kazanılmış OXA karbapenemazlarıdır. Bunlar arasında OXA-58 ve OXA-23 ülkemizde de bildirilmiştir. Ayrıca, DEÜ'de 2012 -2013 yıllarında OXA-24/40 ailesinden OXA-72 üreten bir suş ile salgın yaşanmıştır.

*A.baumannii*'de metallo-karbapenemazlar da bulunabilir. NDM ve IMP türevi enzimler bildirilmiştir. Bunlar dışında KPC enzimi de bu türde bulunabilmektedir. Yine kromozomal AmpC enzimlerin aşırı yapımı ve porin değişimleri de dirence katkıda bulunmaktadır.

Bu türde ayrıca LPS değişimi ile kolistin direnci ve AdeB pompa sistemlerinin ekspresyonunun artması ile de tigesiklin direnci görülebilmektedir.

*A.baumannii* için iki MLST yaklaşımı önerilmiştir. Klinik izolatlar genellikle Avrupa klonu I, II, III olarak adlandırılan 3 majör klonun birine aittir. Bu klonlar diğer şemaya göre CC1, CC2 ve CC3 olarak adlandırılmaktadır. En yaygın klon CC22 (ST22) olan Avrupa klonu Iidir. Hastanemizdeki karbapenemlere dirençli *A.baumannii* izolatları içerisindeki majör pulsotipleriyeni bir uluslararası klon olarak adlandırılan ST15 (ST133), Avrupa klonu II içinde yer alan ST223 ve ST365 içerisinde bulunmuştur. Yine İzmirden izolatların da yer aldığı bir yayında da ST133 gösterilmiştir.

- Pseudomonas aeruginosa*: *P.aeruginosa*'daki karbapenem direnci en sık porin mutasyonu (OprD), AmpC derepresyonu, pompa aktivitesinin artmasından kaynaklanmaktadır. Bu türde en sık metallokarbapenemazlar bildirilmiştir (VIM, IMP, ayrıca NDM-1 ve SPM). Bu türde serotip O12 ve serotip O11 çoklu dirençli izolatlar arasında en sıkıdır. ST235, klonu direnç genlerini başarıyla biriktirip yayma kapasitesindedir.

## Kaynaklar

1. Canton R, Akova M, Carmeli Y ve ark. Rapid evolution and spread of carbapenemases among Enterobacteriaceae in Europe. CMI 2012; 18:413
2. Potron A, Poirel L, Rondinaud P, Nordmann P. Intercontinental spread of OXA-48 betalactamase producing Enterobacteriaceae over a 11 year period (2001-2011). Eurosurveillance 2013;18(31):1-13
3. Lascols C, Peirano G, Hackel M et al. Surveillance and Molecular epidemiology of Klebsiella pneumoniae that produce carbapenemases: first report of OXA-48 like enzymes. Antimicrob Agents Chemother 2013 57(1): 130
4. Woodford N, Turton JF, Livermore DM. Multiresistant Gram negative bacteria: the role of high risk clones in the dissemination of antibiotic resistance FEMS Microbiol Rev 2011; 35: 736
5. Poirel L, Potron A, Nordmann P. OXA-48 like carbapenemases: the phantom menace J Antimicrobial Chemother 2012; 67: 1597-1606
6. Poirel L, Heritier C, Tolun V. Emergence of oxacillinase mediated resistance to imipenem in Klebsiella pneumoniae. Antimicrob Agents Chemother 2004; 48:15-22
7. Poirel L, Yılmaz M, İstanbullu A et al. Spread of NDM-1 producing Enterobacteriaceae in a neonatal intensive care unit İstanbul Turkey. Antimicrob Agents Chemother Feb 2014 e-pub
8. Alp E, Perçin D, Colakoğlu S et al. Molecular characterization of carbapenem-resistant Klebsiella pneumoniae in a tertiary university hospital in Turkey. J Hosp Infect 2013 84: 178
9. Poirel L, Özdamar M, Ocampo-Sosa AA, Türkoğlu S et al. NDM-1-producing Klebsiella pneumoniae now in Turkey. AAC 2012 56: 2784
10. Carrër A, Poirel L, Yılmaz M, Akan OA, Feriha C, Cuzon G, Matar G, Honderlick P, Nordmann P. Spread of OXA-48-encoding plasmid in Turkey and beyond. Antimicrob Agents Chemother. 2010 Mar;54(3):1369-73
11. Jones RN, Gurler N, Cepparula M et al. Resistance surveillance program report for selected European isolates. Diagn Microbiol Infect Dis 2014; 78: 429-36

# POLİMİKSİN DİRENÇİ: NEREDEYİZ?

**Şöhret AYDEMİR**

*Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, İzmir*

**P**olimiksiner 1947 yılında keşfedilmiş ve 1962 yılından itibaren gram-negatif bakterilerin etken olduğu enfeksiyonların tedavisinde parenteral olarak kullanılmaya başlanmıştır. 1980'li yıllarda ciddi nefrotoksisiteleri nedeniyle parenteral kullanımı terk edilen polimiksiner, sadece topikal ve oral yoldan kullanımda kalmıştır. Bu dönemlerde keşfedilen, daha az toksik etkileri olan yeni grup antibiyotikler polimiksinerin yerini almıştır. Polimiksinerin kullanım alanı, uzun bir süre sadece kistik fibrozisli hastalarda görülen, çoklu ilaç direnci bulunan *Pseudomonas aeruginosa* ile oluşan akciğer enfeksiyonuyla sınırlandırılmıştır. Ancak karbapenem dirençli *Enterobacteriaceae*, *Acinetobacter*, veya *Pseudomonas aeruginosa* gibi çoklu ilaç direnci bulunan bakteriler ile oluşan enfeksiyonların sıklığında artış ve tedavilerinde yaşanan sorunlar polimiksineri tekrar gündeme getirmiştir.

Polimiksiner, *Bacillus polymyxa* subspecies *colistinus* tarafından ribozom dışı sentez edilen siklik yapılu kationik polipeptid antibiyotiklerdir. Kimyasal olarak beş farklı bileşikten (polimiksin A-E) oluşur. Klinikte sadece polimiksin B ve polimiksin E (kolistin) kullanılmaktadır. Kolistin iki ticari formülasyonundan birisi olan kolistin sülfatın (polimiksin B) oral formları, barsak dekontaminasyonu amacıyla kullanılır ve emilimi yoktur. Ayrıca topikal formları bakteriyel deri enfeksiyonlarında, damla formları da göz ve kulak enfeksiyonlarında kullanılır. Kolistimetat sodyumun (polimiksin E) da gastrointestinal yoldan emilimi olmayıp başlıca intravenöz ve intramuskuler yolla verilir. İntramuskuler yolla verilmesi ağırlı olduğundan tercih edilmemektedir. Ülkemizde polimiksin E'nin 2010 tarihinde ruhsat almış preparatı mevcuttur.

Kolistin hedefi bakteri hücre membranıdır. Kationik bir polipeptid olan kolistin, gram-negatif bakterilerin dış membranında bulunan ve anyonik yapıda olan lipopolisakkaridlere bağlanır. Lipopolisakkarid moleküllerini birarada stabil halde tutan divalan kationların ( $Ca^{+2}$ ,  $Mg^{+2}$ ) yerini değiştirerek, dış membranda bozulma ve permeabilite artışı sonucu hücre içeriğinin boşalmasına ve bakterinin ölümüne neden olur. Antibakteriyel etkisine ek olarak kolistin, lipopolisakkaridin lipid A kısmına bağlanarak anti-endotoksin aktivitesi gösterir. Bakterilerin kolistine duyarlılığı, hücre membranının içerdiği fosfolipid miktarı ve ortamda bulunan divalan kationların düzeyi ile ilişkilidir.

Direnç gelişimi, kolistin hücreye bağlanma alanlarında ve dış membran polaritesinde azalmayla ilişkilidir. Direnç gelişiminde PmrA-PmrB ve PhoQ-PhoP regülatuar sistemleri rol oynar. Ayrıca, polimiksiner arasında da çapraz direnç görülür.

Kolistin, kliniklerde özellikle ventilatörle ilişkili pnömonilerde, bakteremilerde, üriner sistem enfeksiyonlarında, kateter enfeksiyonlarında, menenjitlerde ve cerrahi alan enfeksiyonlarında kullanılmıştır. Yaklaşık elli yıldır kullanılan kolistinin dozu hakkında çeşitli öneriler bulunmakta olup halen tam bir uzlaşma sağlanamamıştır. Uygun olmayan dozda yapılabilecek tedaviler sadece klinik başarısızlığa neden olması açısından değil ayrıca aktif kolistin konsantrasyonunu düşünlüğünden daha alt seviyede tutarak hızla direnç gelişimine neden olabilmesi açısından da önem taşımaktadır.

Günümüzde çoklu ilaç direnci olan Gram negatif mikroorganizmalarda özellikle *Acinetobacter* spp enfeksiyonlarında kullanılmaktadır. *Acinetobacter* suşlarında kolistin direnci ilk kez 1999 yılında Çek Cumhuriyeti'nden bildirilmiş ve o tarihten bu yana birçok ülkede görülmüştür. Li ve arkadaşları 2006 yılında *A.baumannii* suşunda kolistin heterodirencini tanımlamışlardır. Bu durum, duyarlı olan popülasyonun (MİK  $\leq 2$  mg/L) içerisinde kolistine dirençli grubun olmasıdır ancak birçok laboratuvarıda saptanamamaktadır. Duyarlı toplumlarda bile heterodirenç  $10^{-7}$  ile  $10^{-8}$  sıklığında bildirilmiş olup bu durum ancak popülasyon analiz profilleri ile belirlenir ve genellikle kolistin kullanan hastalardan elde edilen örneklerde karşılaşılmaktadır. Son yıllarda Avrupa ve Asya'da kolistin heterodirencinin, saptanan dirençten daha da fazla olduğu bildirilmektedir. Ülkemizde az sayıda çalışma vardır. Özellikle *Acinetobacter* spp ile yapılan çalışmalarda kolistine karşı direnç oranları %4 ile %27.5 gibi geniş bir yelpazede bulunmaktadır.

Yunanistan'da 2007 yılında yapılan bir çalışmada, çoklu ilaç direnci bulunan patojenlerle enfeksiyon nedeniyle kolistin kullanılan yoğun bakım hastalarında kolistine dirençli *K. pneumoniae* ile bağırsak kolonizasyon oranı %37 olarak saptanmıştır. Yunanistan ve İtalya'da klinik örneklerden izole edilmiş karbapenem dirençli *K. pneumoniae* suşlarında %35'e varan kolistin direnci bildirilmektedir. İngiltere gibi antibiyotik direnç oranlarının düşük olduğu ülkelerde de yavaş yavaş sorun olmaya başlamıştır "European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing", kolistin duyarlılığını saptamak amacıyla disk difüzyon yönteminin kullanımını önermemektedir ve sadece minimal inhibitör konsantrasyon (MİK) değerlerine göre sınır değerler verilmektedir. E test veya polistren mikrotitre plaklarıyla sıvı dilüsyon testlerinin çalışılmasının MİK sonuçlarını yanlış etkileyebileceğini bildiren çalışmalar bulunmaktadır.

## Kaynaklar

- ESCMID guidelines, www.escmid.org
- Eser ÖK, Ergin A, Hascelik G. Erişkin Hastalardan İzole Edilen *Acinetobacter* türlerinde antimikrobiyal direnç ve metallo-beta-laktamaz varlığı. Mikrobiyol Bul 2009; 43: 383-390
- European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing, www.eucast.org
- Falagas ME, Kasiakou SK. Colistin: the revival of polymyxins for the management of multidrug-resistant gram-negative bacterial infections. Clin Infect Dis 2005;40:1333-41.
- Li J, Nation RL, Turnidge JD, Milne RW, Coulthard K, Rayner CR, et al. Colistin: the re-emerging antibiotic for multidrug-resistant gram-negative bacterial infections. Lancet Infect Dis 2006;6:589-601.
- Vaara M. Polymyxins and their novel derivatives. Curr Opin Microbiol 2010;13:574-81.
- Yahav D, Farbman L, Leibovici L, Paul M. Colistin: new lessons on an old antibiotic. Clin Microbiol Infect. 2012;18:18-29.



# AKTİF POMPA VE PORİN KAYBI: TEHDİT Mİ?

M. Ufuk HASDEMİR

Marmara Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, İstanbul

**E**nfeksiyon hastalıkları ile mücadelede günümüzde karşı karşıya olduğumuz başlıca sorun, bakterilerdeki antimikrobiyal ilaç direncinin neden olduğu tedavi başarısızlıklarıdır. Özellikle çoklu antimikrobiyal ilaç direncinin genetik transfer mekanizmaları aracılığı ile bakteriler arasında hızla yayılması, yeni direnç mutasyonlarının ortaya çıkışı, kromozomal direnç genlerinin ekspresyonunu düzenleyen genlerdeki mutasyonlar, antimikrobiyal ilaç direncindeki hızlı artışın başlıca nedenleri olup yeni antimikrobiyal keşfi ya da geliştirilmesindeki duraksama sorunu çok daha ciddi bir tehdit haline getirmektedir. İlacın hedefinde ortaya çıkan değişiklik (ör.: penisilin bağlayan proteinlerdeki değişim), ilacın enzimatik yolla inaktivasyonu (ör.: karbapenemazlar) ya da modifikasyonu (ör.: aminoglikozid modifikasyon enzimleri), mikroorganizmalarda antimikrobiyal direncinin iyi bilinen mekanizmalarıdır. Ancak özellikle son 15 yıldan bu yana önemli bir bilgi birikiminin oluşmasına yol açan çalışmalar, aktif pompa ve bakteri permeabilitiesinin de kazanılmış dirençteki önemini ortaya koymaktadır.

## İlaç Permeabilitesinde Azalma: Lipopolisakarit Yapı ve Porinler

Bir mikroorganizmada belirli bir ilaca karşı direnç, ilacın sitoplazmaya girişinin engellenmesiyle ortaya çıkabilir. Gram negatif bakteri hücre duvarı lipopolisakaritlerinin kimyasal kompozisyonu bunda çok önemli rol oynar.<sup>1</sup> Örneğin *Pseudomonas aeruginosa*, *Vibrio cholera* ve *Salmonella enterica*, azitromisin, klaritromisin, eritromisin ve roksitromisine bu yolla doğal direnç gösterir. Dış membran geçirgenliğindeki azalma sadece doğal dirençte değil kazanılmış dirençte de etkilidir. Hastane enfeksiyonlarının önde gelen etkenlerinden biri olan ve çoklu ilaç direnci nedeniyle büyük sorun yaratan *Acinetobacter baumannii*'nin dış membranının geçirgenliği, *P. aeruginosa* ve diğer Gram negatif bakterilere kıyasla çok az olup bunda *A. baumannii* LPS'sinin kimyasal kompozisyonu, porinlerinin azlığı ve küçüklüğü önemli rol oynamaktadır. İlacın sitoplazmaya girişinin engellenmesinde, dış membranda yer alan porinlerin (dış membran kanal proteinleri) ekspresyonunu düzenleyen genlerdeki mutasyonlar ya da porin yapısında ortaya çıkan fonksiyon engelleyici mutasyonlar rol oynar. Bunun tipik örneklerden biri *P. aeruginosa*'da OprD porin kaybına bağlı olarak ortaya çıkan imipenem direncidir. *Acinetobacter baumannii*'de, CarO porininin imipenem ve karbapenem direnci ile ilişkili olduğu ayrıca 43 kDA'luk bir porinin de *P. aeruginosa*'nın OprD'si ile

yakın homoloji gösterdiği bilinmektedir. Karbepenem dirençli *A. baumannii* izolatlarında dış membran proteinlerindeki azalmanın sınıf C sefalosporinaz ve Oxa-24 üretiminin artışı ile ilişkili olduğu da gösterilmiştir. *Enterobacter aerogenes*, *E. cloacae*, *Klebsiella pneumoniae*, *S. enterica*, *Serratia marcescens* gibi *Enterobacteriaceae* üyelerinde de porin kaybı ya da mutasyonu ile ilişkili olarak aminoglikozidlere, beta-laktamlara, kloramfenikole, florokinolonlara karşı direnç geliştirebildiği gösterilmiştir.

## Antimikrobiyal İlaçların Aktif Eflusu

Antimikrobiyal ilaçlar ve şeker alkollerin, bakteri hücrelerine girişi fosfotransferaz (translokasyon) sistemlerinin kontrolündedir. Bu sistemler enerji bağımlı integral membran proteinleri olup antimikrobiyal ilaçları membrandan dışarıya transport ederler ve böylece ilacın intraselüler konsantrasyonunu azaltarak ilaç direncinin ortaya çıkmasına neden olurlar. İlaç eflusu sistemleri bir çok patojenik bakteride yaygın olarak bulunur ve esas olarak primer ve seconder olmak üzere iki tipi vardır. Primer aktif transport sistemleri, ABC transport sistemleri (ATP-binding cassette) olarak adlandırılmakta olup ilaç transportunda enerji kaynağı olarak ATP hidrolizini kullanırlar. Sekonder aktif transport sistemleri ise ilaç transportunda katyon gradiyent olarak depo edilmiş enerjiyi kullanırlar. İlaçların membrandan transportuyla eş zamanlı olarak katyonların (ör.:  $H^+$  veya  $Na^+$ ) konsantrasyon bağımlı translokasyonunu (antiport) katalizlemek üzere respirasyonla oluşturulan katyon gradiyent enerjiyi kullanırlar. Böylelikle ilaç dışarı atılırken, katyonlar aksi yönde hareket ederek hücreye girerler.<sup>1-3</sup>

Sekonder aktif transport sistemleri, 'Major facilitator' süper ailesi (MFS), 'Small multidrug resistance' süper ailesi (SMR), 'Multidrug and toxic compound extrusion' (MATE) süper ailesi ve Resistance-nodulation-cell division (RND) süper ailesi olmak üzere 4 protein süper ailesinin üyesidirler. Bakterilerde çoklu ilaç direncine yol açan aktif eflus proteinlerinin büyük çoğunluğu Gram negatiflerde yaygın olarak bulunan RND süper ailesinin üyeleri olmakla birlikte farklı protein süper ailelerine üye çoklu ilaç eflus proteinleri de bulunmaktadır. Tablo 1., bakterilerde bulunan ve değişik protein süper ailelerine üye eflus sistemlerinden bazılarını ve bu sistemlerin substratlarını göstermektedir.<sup>1-3</sup>

## Gram Pozitif Bakterilerde İlaç Eflus Sistemleri

Gram pozitif bakterilerde ABC, MFS, SMR ve MATE ailelerine üye birçok eflus sistemi tanımlanmıştır. Bunlardan bir bölümünün klinik önemi olan bakterilerin antimikrobiyal ilaç ve dezenfektan direncinde önemli rol oynadıkları gösterilmiştir. Örneğin *Staphylococcus aureus*'taki NorA, MsrA, QacA; pnömokoklardaki PmrA, EmeE, mefA/E eflus sistemleri, florokinolonlar ve makrolidler gibi antibiyotiklere ve dörtlü amonyum bileşikleri gibi toksik maddelere karşı dirençte etkin rol oynayarak klinikte sorun oluşturmaktadır. EmeA da, NorA ile yakın homoloji gösteren bir eflus protein olup *Enterococcus faecalis*'de gösterilmiştir. EmeA eflus proteini, florokinolonlar ve makrolidlere ek olarak kloramfenikol, novobiyosin, amikasin direncine de yol açmaktadır. Gram pozitif bakterilerdeki bu eflus sistemlerinin önemli bir bölümü kromozomal olmakla birlikte QacA, QacB ve Tet(K) gibi bazıları plazmidler tarafından kodlanmaktadır. Bu sistemlerin substratları arasında kinolonlar, tetrasiklinler, monovalan ve divalen antimikrobiyal katyonlar (boyalar, dörtlü amonyum bileşikleri, diamidinler,

biguanidinler) ve bitki sekonder metabolitleri yer almaktadır. MFS ailesi üyesi QacA'nin, *S. aureus*'ta amikasin, kloramfenikol gibi antimikrobiyal ilaçlara dirençte de önemli rol oynadığı gösterilmiştir.<sup>1,3-4</sup>

## Gram Negatif Bakterilerde İlaç Efluks Sistemleri

Efluks sistemleri, Gram negatif bakterilerin antimikrobiyal ilaç direncinde de önemli rol oynamakta olup özellikle RND ailesine üye olanların, çoklu ilaç direncindeki etkinlikleri son yıllarda daha iyi anlaşılmasına başlamıştır.<sup>1-8</sup> RND efluks proteinleri genellikle bir dış membran kanal proteini ve bir membran füzyon proteini ile üçlü kompleks oluşturarak ilaç pompalama fonksiyonunu yerine getirmektedirler. Substrat profilleri oldukça geniştir. *Escherichia coli*'deki AcrAB-TolC ve *P. aeruginosa*'daki MexAB-OprM, bu üç komponentli aktif efluks sistemlerinin tipik örnekleridir. Doğal dirençte etkin olan bu efluks sistemlerinin ekspresyonlarının artması, tek bir adımda klinikte tedavi başarısızlığına yol açan kazanılmış çoklu ilaç (florokinolonlar, beta-laktamlar, tetrasiklinler, kloramfenikol, trimetoprim, aminoglikozidler gibi) direncinin ortaya çıkmasına neden olabilmektedir. *Francisella tularensis*, *Yersinia pestis*, ve *Brucella spp.* ve bir çok Gram negatif bakterinin, *E.coli*'nin AcrAB-TolC'si ile yüksek homoloji gösteren efluks sistemlerine sahip oldukları gösterilmiştir. AcrAB-TolC'ye ek olarak *E.coli* ve diğer Gram negatif bakterilerde, bir çok çoklu ilaç efluks sisteminin varlığı gösterilmiştir. MFS ailesi üyesi EmrAB-TolC (*E.coli*), SMR ailesi üyesi EmrE (*E.coli*), MATE ailesi üyesi NorM (*V. parahaemolyticus*) bunlara örnek olarak verilebilir. *Pseudomonas aeruginosa*'da MexAB-OprM dışında çoklu ilaç direnci ile ilişkili diğer RND efluks sistemleri arasında MexCD-OprJ ve MexXY-OprM sayılabilir. Yapılan çalışmalar bunların özellikle beta-laktam ve florokinolonlara (MexEF-oprN ile birlikte) karşı dirençte etkin rol aldıklarını göstermektedir. *Pseudomonas aeruginosa*'daki mex-lokuslarının, *Burkholderia spp.*, *Bacteroides spp.* ve *Acinetobacter spp.*'deki homolog efluks sistemleri ile filogenetik olarak ilişkili oldukları gösterilmiştir. *Burkholderia pseudomallei* ve *B. mallei*'de bulunan Bpe, *Burkholderia cenocepacia*'daki Bcc kompleks, *Bacteroides fragilis*'teki bmeABC ve *A. baumannii*'deki AdeABC, AdeIJK, AdeFGH bunlar arasındadır. *Burkholderia pseudomallei*'nin Bpe-OprC efluks sistemi, melioidoz tedavisinde kullanılan antibiyotiklere; *A. baumannii*'nin AdeABC'si aminoglikozid, beta-laktam, florokinolonlar, tigesiklin gibi antibiyotiklere; *B. fragilis*'in bmeB'si, metranidazol, kinolon, karbapenem ve diğer bir çok antibiyotiğe dirence yol RND ailesi efluks sistemleridir. Gram negatif bakterilerde RND dışındaki diğer ailelere üye daha bir çok efluks sistemi tanımlanmıştır.

Tablo 1’de hem RND, hem de diğer ailelere üye efluks sistemleri ve bunların substratlarına örnekler yer almaktadır.

<b>Tablo 1. Mikroorganizmalarda klinik dirençle ilişkili efluks sistemlerine ve substratlarına örnekler</b>		
<b>Mikroorganizma</b>	<b>Efluks sistemi</b>	<b>Efluks sisteminin dirence yol açtığı ilaçlar, boyalar, dezenfektanlara örnekler</b>
<b>Gram negatif bakteriler</b>		
<i>Escherichia coli</i>	AcrAB-ToIC	Kloramfenikol, tetrasiklin, minosiklin, eritromisin, nalidiksik asit, norfloksasin, doksorubisin, novobiyosin, rifampin, trimetoprim, akriflavin, kristal viyole, etidyum bromid, rodamin 6G, tetrafenilfosfonyum bromid, benzalkonyum, Triton X-100, sodyum dodesil sülfat, deoksikolat, taurokolat, v.b.
	AcrAD-ToIC	Aminoglikozid, novobiyosin, sodyum dodesil sülfat, deoksikolat
	MdtAC-ToIC	Nalidiksik asit, norfloksasin, fosfomisin, novobiyosin, sodium dodesil sülfat, deoksikolat
	MacAB-ToIC	Makrolid
	EmrAB-ToIC	Nalidiksik asit, etidyum bromid
	MdfA/Cmr/CmlA	Kloramfenikol, rifampisin, tetrasiklin, etidyum bromid, tetrafenilfosfonyum bromid
	Tet	Tetrasiklin
YdhE	Florokinolon, amikasin	
<i>Salmonella spp.</i>	AcrAB-ToIC	Kloramfenikol, norfloksasin, nalidiksik asit, minosiklin, tetrasiklin, eritromisin, benzalkonyum klorid, kristal viyole, doksorubisin, etidyum bromid, metilen mavisi, sodium dodesil sülfat, sodium deoksikolat, tetrafenilfosfonyum bromid, rodamin 6G, akriflavin
	AcrEF-ToIC	Tigesiklin, kloramfenikol, doksorubisin, eritromisin, nalidiksik asit, norfloksasin, novobiyosin, tetrasiklin, rodamin 6G, tetrafenilfosfonyum bromid, akriflavin, benzalkonyum klorid, kristal viyole, etidyum bromid, metilen mavisi
	EmrAB-ToIC	Nalidiksik asit, novobiyosin, rodamin 6G, sodium dodesil sülfat
	MacAB-ToIC	Aztiromisin, eritromisin
	MdfA	Kloramfenikol, doksorubisin, norfloksasin, tetrasiklin
<i>Campylobacter spp.</i>	CmeABC	Siprofloksasin, enrofloksasin, tetrasiklin, eritromisin, antimikrobiyal peptidler, bakteriyosinler
	CmeDEF	Ampisilin, etidyum bromid, akridin oranj, sodium dodesil sülfat, sodium deoksikolat, safra, trikozan
	CmeG	Siprofloksasin, eritromisin, tetrasiklin, gentamisin, etidyum bromid, kolik asit
<i>Neisseria gonorrhoeae</i>	MtrCDE	Penisilin, makrolid, beta-laktam, rifampin, Triton X-100, biyosid (spermisid nonoksinol-9), antimikrobiyal peptidler, progesterone, safra tuzları
<i>Vibrio cholerae</i>	VceCAB	Nalidiksik asit, dibekasin
	VcmA	Florokinolon, klormafenikol, etidyum bromid, doksorubisin
<i>Vibrio parahaemolyticus</i>	NorM	Florokinolon, klormafenikol, etidyum bromid
<i>Burkholderia cepacia</i>	BcrA	Tetrasiklin, nalidiksik asit

<i>Bacteroides fragilis</i>	NorA	Norfloksasin, etidyum bromid
<i>Bacteroides thetaiotomicron</i>	BexA	Florokinolon, etidyum bromid
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	MexAB-OprM	Florokinolon, makrolid, beta-laktam, tetrasiklin, klormafenikol, triklozan, novobiyoşin, klorheksidin, trimetoprim
	MexCD-OprJ	Florokinolon, makrolid, beta-laktam, tetrasiklin, klormafenikol, triklozan, novobiyoşin, klorheksidin, 2,2'-diyridyl
	MexXY-OprM	Florokinolonlar, makrolidler, beta-laktamlar, aminoglikozidler, tetrasiklin
	MexVW-OprM	Florokinolon, tetrasiklin, klormafenikol, eritromisin, sefpirom
	EmrE	Aminoglikozid, etidyum bromid
	QacE	Dörtlü amonyum bileşikleri
	QacF	Dörtlü amonyum bileşikleri
	PmpM	Florokinolon, benzalkonyum klorid
<i>Acinetobacter baumannii</i>	AdeABC	Siprofloksasin, kloramfenikol, sefotaksim, eritromisin, gentamisin, norfloksasin, tetrasiklin, tigesiklin,
	AbeM	Siprofloksasin, klorheksidin, daunorubisin, doksorubisin, etidyum, norfloksasin, trimetoprim, akriflavin
<b>Gram pozitif bakteriler</b>		
<i>Staphylococcus aureus</i>	NorA	Siprofloksasin, setrimid, gemifloksasilin, enoksasin, etidyum, kloramfenikol, lomefloksasin, nalidiksik asit, norfloksasin, ofloksasin, perfloksasin, pipemidik asit, puromisin, rodamin 6G, sparfloksasin, tetrafenilfosfonyum, akridin oranj
	QacA	Akriflavin, benzalkonyum, kloramfenikol, cetyltrimethylammonium, kristal viyole, diaminodifenilamin, etidyum, heksamidin, proflavin, pironin Y, rodamin 6G, safranin O, tetrafenilarsonyum, tetrafenilamonyum, tetrafenilfosfonyum
	TetA(K)	Tetrasiklin, doksisiklin
	MepA	Akriflavin, benzalkonyum, kloramfenikol, siprofloksasin, setrimid, kristal viyole, etidyum, heksamidin, norfloksasin, pentamidin, pironin Y, rodamin, tigesiklin, tetrafenilfosfonyum
<i>Streptococcus pneumoniae</i>	PmrA	Florokinolon
	mefE	Makrolid
<i>Streptococcus pyogenes</i>	mefA	Makrolid
<i>Enterokoklar</i>	emeA	Florokinolon, makrolid, kloramfenikol, novobiyoşin, amikasin
<b>Mikobakteriler</b>		
<i>M. tuberculosis</i>	Tap	Aminoglikozid, tetrasiklin
	Rv1634	Florokinolon
	JefA	İzoniazid, etambutol
	mmpL7	İzoniazid
<b>Mantarlar</b>		
<i>Candida albicans</i>	CaCdr1p	Flukanazol

## Mikobakterilerde İlaç Efluks Sistemleri

Mikobakterilerde özellikle MFS ve ABC efluks sistemleri yaygın olarak bulunmakla birlikte SMR ve son yıllarda RND efluks sistemlerinin de varlığı gösterilmiştir.<sup>3,9,10</sup> *Mycobacterium tuberculosis*'de MFS üyesi olanlar arasında Rv1634, florokinolon; Tap ve P55, aminoglikozid ve tetrasiklin; EfpA, siprofloksasin, norfloksasin ve gentamisin; JefA, isoniazid ve etambutol direnciyle ilişkilidir.<sup>8</sup> *Mycobacterium tuberculosis*'in rifampisin, ofloksasin, izoniiazid ve minomisine direnç gösteren bir klinik izolatında bulunan Rv1258c efluks proteinin de bu dirençle ilişkili olduğu gösterilmiştir.<sup>9</sup> ABC üyeleri arasında tetrasiklin, eritromisin, etambutol, norfloksasin, streptomisin, klormafenikol ve antrasiklin daunorubisin, doksirubisin direnci ile ilişkili DrrAB; florokinolon direnci ile ilişkili Rv2686c-2687c-2688-c; streptomisin, vankomisin, novobiyosin, eritromisin, kloramfenikol ve ampisilin direnci ile ilişkili Rv0194 yer almaktadır. *Mycobacterium tuberculosis*'de saptanan ilk RND tipi efluks proteini, MmpL7 olup izoniiazid direncine yol açan bir transport proteinidir. MmpL7'yi takiben 2009'da *M. tuberculosis*'de azol direnci ile ilişkisi gösterilen bir diğer RND efluks proteini, MmpL5, bulunmuştur. *Mycobacterium tuberculosis*'de bugüne kadar SMR ailesi üyesi olarak tanımlanan tek efluks sistemi Mmr'dir. Mmr'nin substrat profili, etidyum bromid, eritromisin, akriflavin, tetrafenil fosfonyum, safranin O ve pironin Y'yi kapsamaktadır.

Diğer mikobakterilerde bulunan efluks sistemleri arasında *M. bovis*'te, aminoglikozid ve tetrasiklin direnciyle ilişkili bulunan P55, *M. smegmatis*'te florokinolon direnci ile ilişkili bulunan LfrA efluks sistemleri sayılabilir.

## Mantarlarda İlaç Efluks Sistemleri

Mantarlarda efluks sistemlerinin en çok çalışıldığı tür, *Saccharomyces cerevisiae*'dir. Bu türün, patojenik diğer mantarlardaki ilaç direncinin kaynağı olduğu ileri sürülmektedir. *Candida albicans*'ta ABC ve MFS ailesi üyesi bir çok efluks sisteminin varlığı gösterilmiştir. Bunlardan CaCdr1p, CaCdr2p (ABC üyesi) ve CaMdr1p'nin (MFS üyesi), klinikte önemli azol direnci ile ilişkili oldukları gösterilmiştir.<sup>11</sup>

## Biyofilm ve Efluks Sistemleri

Biyofilmlerin en önemli özelliklerinden biri, planktonik hücelere kıyasla antimikrobiyal ilaçlara daha dirençli olmalarıdır. Efluks sistemlerinin, biyofilm yapıların antimikrobiyal direncinde önemli rolleri olduğu ileri sürülmekte olup *P. aeruginosa*, *C. albicans* ve bir çok mikroorganizmada bu konuda yoğun çalışmalar yapılmaktadır.<sup>12</sup> *Pseudomonas aeruginosa*'nın MexAB-OprM efluks sisteminin, biyofilm ilişkili aztreonam, gentamisin, tetrasiklin, ve tobramisin direncinde rolü olduğu ve biyofilm popülasyonunda bulunan hücelerde MexAB-OprM ekspresyonunun maksimum seviyelerde olduğu gösterilmiştir. *Pseudomonas aeruginosa*'da bulunan yeni bir efluks sisteminin, PA1874-1877, planktonik hücelere kıyasla biyofilm içindeki hücelerde daha fazla eksprese edildiği bildirilmiştir.

## Sonuç

Mikroorganizmalarda efluks sistemlerinin yaygınlığını ve klinikte sorun oluşturacak ilaç direncine yol açma özelliklerinin olduğunu gösteren çalışmaların sayısı her geçen gün artmaktadır. İyi bilinen direnç mekanizmaları ile başa çıkmakta zorlanırken henüz in vivo etkili inhibitörlerinin bile bilinmediği efluks sistemleri, gelecekte üzerinde çok tartışacağımız başlıca direnç mekanizmaları arasında yer alacak gözükmektedir.

## Kaynaklar

1. JT Floyd, S Kumar, MM Mukherjee, G He, MF Varela. A review of the molecular mechanisms of drug efflux in pathogenic bacteria: a structure-function perspective. *Recent Res. Devel. Membrane Biol*, 3, 2013: 15-66 ISBN: 978-81-308-0529-0. Research Signpost, Kerala, India.
2. D Du, H, Venter, KM Pos, BF Luisi. The machinery and mechanism of multi-drug efflux in Gram-negative bacteria. Eds; EW Yu, Q Zhang, MH Brown, In: *Microbial efflux Pumps*, 2013; p, 35-50. ISBN: 978-1-908230-21-8. Caister Academic Press, Norflok, UK.
3. C Kourtesi, AR Ball, YY Huang, SM Jachak, et al. Microbial efflux systems and inhibitors: approaches to drug discovery and the challenge of clinical implementation. *The Open Microbiology Journal*, 2013; 7 (Suppl 1-M3): 34-52.
4. BA Eijkelkamp, KA Hassan, IT Paulsen, MH Brown. The role of efflux pumps in the nosocomial pathogens *Staphylococcus aureus* and *Acinetobacter baumannii*. Eds; EW Yu, Q Zhang, MH Brown, In: *Microbial efflux Pumps*, 2013; p, 123-142. ISBN: 978-1-908230-21-8. Caister Academic Press, Norflok, UK.
5. T Dal, B Aksu, JM Pages and U Over-Hasdemir. Expression of the adeB gene and responsiveness to 1-(1-naphthylmethyl)-piperazine and phenylalanyl-arginyl-beta-naphthylamide in clinical isolates of *Acinetobacter baumannii*. *J Antimicrob Chemother*, 2013; 68(5): 1200-1202.
6. S Baugh, LJV Piddock. *Salmonella* efflux pumps. Eds; EW Yu, Q Zhang, MH Brown, In: *Microbial efflux Pumps*, 2013; p, 163-174. ISBN: 978-1-908230-21-8. Caister Academic Press, Norflok, UK.
7. K Poole. *Pseudomonas aeruginosa* efflux pumps. Eds; EW Yu, Q Zhang, MH Brown, In: *Microbial efflux Pumps*, 2013; p, 175-206. ISBN: 978-1-908230-21-8. Caister Academic Press, Norflok, UK.
8. Z shen, C-C Su, EW Yu, Q Zhang. Multidrug efflux transporters in *Campylobacter*. Eds; EW Yu, Q Zhang, MH Brown, In: *Microbial efflux Pumps*, 2013; p, 223-236. ISBN: 978-1-908230-21-8. Caister Academic Press, Norflok, UK.
9. MR Pasca, S. Buroni, G Riccardi. *Mycobacterium tuberculosis* drug efflux pumps: An Update. Eds; EW Yu, Q Zhang, MH Brown, In: *Microbial efflux Pumps*, 2013; p, 35-50. ISBN: 978-1-908230-21-8. Caister Academic Press, Norflok, UK.
10. AD Roosi, JA Ainsı, G. Riccardi. Role of mycobacterial efflux transporters in drug resistance: an unresolved question. *FEMS Microbial Rev*, 2006; 30: 36-52.
11. RD Cannon, E Lamping, AR Holmes, K Niimi, K Tanabe, M Niimi and BC Monk. *Candida albicans* drug resistance-another way to cope with stress. *Microbiology*, 2007; 153: 3211-3217.
12. SM Soto. Role of efflux pumps in the antibiotic resistance of bacteria embedded in a biofilm. *Virulence*, 2013; 4:3, 223-229.

# DİRENÇLİ GRAM POZİTİF KOKLAR: SAKIN KAÇIRMAYIN!

**Burçin ŞENER**

Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Ankara

**G**ram pozitif koklarda giderek artan antibiyotik direnci gerek hastane kökenli gerekse toplum kökenli enfeksiyonların tedavisinde sorunlara ve sonuçta artan morbidite ve mortaliteye neden olmaktadır. Metisilin dirençli *Staphylococcus aureus* (MRSA), vankomisin dirençli enterokoklar (VRE) ve penisilin dirençli pnömokoklar klinikte en çok tedavi probleminde yol açan gram pozitif etkenlerdir. Vankomisine orta düzeyde duyarlılık gösteren *S. aureus* (VISA) izolatlarının bildirimi ileride daha ciddi boyutlarda karşılaşılabilecek olan bir problemin öncüsü olarak görülmektedir.

## **Metisilin Dirençli *Staphylococcus spp.***

Metisiline dirençli *S.aureus* (MRSA) olarak adlandırılan ve tüm beta-laktamlara dirençli olan bu suşlar başlangıçta sadece hastane ortamında tanımlanırken günümüzde toplum kaynaklı enfeksiyonlardan da sıklıkla izole edilmeye başlanmıştır. Sağlık hizmetiyle ilişkili MRSA izolatlarında çoklu direnç en sık görülen fenotiplerden biridir.

Stafilokoklarda metisilin direnci anti-MRSA aktivitesine sahip özel sefalosporinler dışındaki  $\beta$ -laktam ajanların düşük afinite gösterdiği ek bir penisilin-bağlayan protein, PBP2a veya yeni keşfedilen PBP2c üretimi sonucunda gelişmektedir. PBP2a ve PBP2c, sırasıyla, *mecA* geni veya yeni tanımlanan *mecC* (daha önceden *mecA*<sub>LGA251</sub> olarak bilinen) geni tarafından kodlanırlar. *mecA* gen ekspresyonu belirgin ölçüde heterojen olan ve düşük oksasilin MİK'ine sahip olan suşlar duyarlılık testlerinin doğruluğunu etkilerler. Ayrıca oksasiline düşük düzey direnç gösteren bazı *S.aureus* suşları *mecA* ve *mecC* negatif olup, farklı PBPlar üretmezler. Bu tür izolatlar sınır duyarlı "borderline" *S. aureus* (BORSA) olarak tanımlanmaktadır. Bu suşlar nadir görülürler ve direnç mekanizmaları tam tanımlanmamakla birlikte  $\beta$ -laktamazların aşırı üretimi veya var olan PBP'lerde değişiklik gelişmesi ile ilgili olabilir.

MRSA tanısı özellikle kritik olgularda ve yoğun bakım ünitelerinde hem tedavi hem de hastane enfeksiyon kontrolü açısından önem taşımaktadır. Günümüzde MRSA tanısı için fenotipik ve genotipik yöntemler kullanılmaktadır. Fenotipik yöntemler sefoksitin ve/veya oksasilin disk difüzyon testi, MİK belirlenmesi, oksasilin tuz agar tarama testi, MRSA kromojenik agarlar veya otomatize sistemlerle direnç saptanmasını içermektedir. Lateks aglütinasyon testi ile PBP2a saptanması da MRSA hızlı tanısı amacıyla kullanılmaktadır.



Moleküler yöntemlerle *mecA* geni saptanması günümüzde altın standart yöntem olarak kabul edilmektedir. Ancak *mecA* negatif olup MRSA özelliği gösteren suşlarla rutin de karışılabilir. Bu özelliikteki suşlar dikkate alındığında özellikle klinik örnekten hızlı MRSA tanısı için başvurulan konvansiyonel moleküler yöntemlerin yeni *mecA* homoloğlarını tanımlamada yetersiz kalacağı açıktır. Günümüzde *mecC* olarak tanımlanan *mecA*<sub>IGA251</sub> pozitif izolatların kaçırılması hem enfeksiyon kontrol hem tedavi yönünden problemlere neden olabilir. *mecC* geni taşıyan *S.aureus* suşları İngiltere başta olmak üzere Avrupa'da pek çok ülkede saptanmaktadır.

Koagülaz negatif stafilkokoklar (KNS) günümüzde önemli hastane enfeksiyonu etkenleri arasında yer almaktadırlar. Metisiline dirençli *S. epidermidis* (MRSE) suşlarının görülme sıklığı özellikle kateter ilişkili kan dolaşımı enfeksiyonlarında ve ortopedik protez enfeksiyonlarında çok artmıştır. KNS'lerde *mecA* geninin heterojen olarak sentezlenmesi fenotipik testlerle metisilin direncinin gösterilmesini zorlaştırmaktadır. MRSA suşlarının tanımlanmasında başarılı sonuçlar veren MRSA latex aglutinasyon testi KNS için kullanıldığında *Staphylococcus epidermidis* ile başarılı sonuçlar vermekte, ancak *S. wagneri*, *S. simulans*, *S. lugdunensis* ve *S. hominis* suşlarında yanlış pozitif sonuçlar elde edilebilmektedir. Yüksek inokulum kullanılması testin özellikle KNS'ler için özgüllüğünü ve duyarlılığını arttırmaktadır.

## Glikopeptidlere Duyarlılığı Azalmış *Staphylococcus aureus*

Son yıllarda glikopeptid kullanımının belirgin şekilde artmasıyla birlikte ilk kez KNS'larda artmış vankomisin MİK değerleri görülmeye başlamıştır. Vankomisine dirençli *S.aureus* (VRSA) ilk kez 2002 yılında rapor edilmiştir. VRSA şimdiye dek çok az sayıda rapor edilmiştir ancak giderek dikkati çeken vankomisin orta duyarlı veya "intermediate" olarak bilinen VISA suşlarıdır. VISA suşlarının ortaya çıkmasından kısa bir süre sonra 1997 yılında Hiramatsu ve arkadaşları "heterojen VISA (hVISA)" olarak adlandırılan yeni bir vankomisin direnci tipi tanımlamışlardır. Vankomisine duyarlı bulunan (MİK  $\leq 2$   $\mu\text{g/ml}$ ) ancak en az  $10^4$ - $10^3$ 'te bir sıklıkta olmak üzere, MİK değeri  $>2$   $\mu\text{g/ml}$  olan bir subpopülasyon içeren suşlar hVISA olarak tanımlanmaktadır. Avrupa'da MRSA izolatları arasında hGISA prevalansı  $\leq 2\%$  olup GISA %0.1'den düşüktür. GRSA Avrupa'da henüz rapor edilmemiştir ve tüm dünyada da şimdilik çok nadirdir. Yükselmiş MİK'i olan (GISA) veya dirençli alt popülasyonları (hGISA) olan hemen hemen tüm izolatlar MRSA'dır.

Vankomisin MİK değeri 4-8  $\mu\text{g/mL}$  olan *S.aureus* suşları VISA, MİK $>8$   $\mu\text{g/mL}$  olan *S.aureus* suşları ise VRSA olarak kabul edilmektedir. Ağır *S. aureus* enfeksiyonu olan bir hastanın tedavisinde vankomisin kullanmak için MİK değeri mutlaka belirlenmelidir. Bazı olgularda, özellikle tedavi başarısızlığından şüphelenildiğinde hGISA da araştırılmalıdır. Son zamanlarda duyarlılık üst sınırına yakın (MİK $>1$  mg/L) MİK'lere sahip olan izolatların kötü sonuçlara ve daha yüksek mortaliteye yol açtığına dair kanıtlar artmaktadır.

Glikopeptid duyarlılığı azalmış *S.aureus* saptanması için önerilen yöntem buyyon mikrodüzyon ile MİK belirlenmesidir. hGISA için tarama ve doğrulama testleri yapılmalıdır. Tarama amaçlı olarak makrogradyan testi, teikoplanin tarama agar; doğrulama için de izolatın farklı vankomisin konsantrasyonu içeren agar plaklarında popülasyon profil analizinin (PAP-AUC) yapılması önerilmektedir.

## Vankomisin Dirençli Enterokok (VRE)

Son yıllara dek enfeksiyon oluşturma potansiyelleri düşük olarak kabul edilen enterokoklar daha çok endokardit etkeni olarak tanımlanırken, geniş spektrumlu antibiyotik kullanımı ve komplike hasta sayısındaki artışla birlikte günümüzde önemli hastane enfeksiyonu etkenleri arasında yer almaktadırlar. Antibiyotiklere karşı artan dirençleri enterokokların hastalar ve sağlık çalışanlarında kolaylıkla kolonize olmalarını ve hastane içinde yayılımlarını sağlamaktadır. İnsanlarda en sık enfeksiyona neden olan tür *Enterococcus faecalis* olmakla birlikte son yıllarda giderek artan antibiyotik direnci nedeniyle *Enterococcus faecium* suşları ciddi bir sorun haline almıştır. “National Nosocomial Infection Surveillance (NNIS)” verilerine göre enterokoklar ABD’de tüm hastane enfeksiyonları arasında ikinci sıklıkta, nozokomiyal bakteriyemilerde ise üçüncü sıklıktaki etkenlerdir.

Enterokok enfeksiyonlarının tedavisinde tercih edilen ajanlardan vankomisine karşı direnç gelişmesi nedeniyle bu enfeksiyonların tedavisinde ciddi problemler yaşanabilmektedir. Vankomisin MİK  $>4 \mu\text{g/mL}$  olan enterokok suşları VRE olarak tanımlanmaktadır. Klinik olarak anlamlı direnç en sık olarak peptidoglikan zincirinde terminal D-Ala’yı D-Lac ile değiştiren ve plazmid tarafından kodlanan VanA ve VanB ligazlar aracılığıyla gelişir. Bu yer değiştirme glikopeptidlerin hedefe bağlanmasını azaltır. VanA ve VanB *E. faecalis* ve *E. faecium* suşlarında görülürken daha düşük düzey dirence yol açan VanC, VanD ve diğer enzimler *E. raffinosus*, *E. gallinarum* ve *E. casseliflavus* suşlarında görülür.

Vankomisin direnci MİK belirlenmesi, disk difüzyon ve agar sınır değer yöntemleri ile saptanabilir. Bu üç yöntem de vanA tarafından kodlanan direnci kolaylıkla saptarken, vanB direnci saptanmasında sorun yaşanabilir. Özellikle otomatize yöntemlerle vanB direnci saptanması problemlidir. Zon çapı okuma kuralları titizlikle uygulandığında  $5 \mu\text{g}$  vankomisin diski ile yapılan disk difüzyon yöntemi iyi performans göstermektedir. MİK veya disk difüzyon sonuçları yorumlanırken izolatın *E. gallinarum* veya *E. casseliflavus* olmadığından emin olmak gerekir.

## Penisilin Azalmış Duyarlı Pnömokoklar

*S. pneumoniae* sık morbiditeye yol açan otitis media ve sinüzitin yanı sıra ciddi toplum kökenli pnömoni ve menenjit olgularında başta gelen etkenler arasındadır. İlk kez 1977’de Güney Afrika’dan bildirilen çoklu dirençli pnömokok izolatlarının ortaya çıkışı ile birlikte pnömokokal direnç problemi daha belirgin bir özellik kazanmaya başlamıştır. Pnömokok direnç sınırları CLSI (Clinical Laboratory Standards Institute) tarafından 2008 yılında tekrar düzenlenerek menenjit intravenöz penisilin uygulaması için MİK  $\geq 0.12 \mu\text{g/mL}$  dirençli, menenjit dışı intravenöz penisilin uygulaması için  $\geq 8 \mu\text{g/mL}$  dirençli, menenjit dışı oral penisilin uygulaması için ise MİK  $0.12\text{-}1 \mu\text{g/mL}$  azalmış duyarlı, MİK  $\geq 2 \mu\text{g/mL}$  ise dirençli olarak tanımlanmıştır. EUCAST’a göre de menenjitte intravenöz penisilin sınır değeri yine  $>0.06 \mu\text{g/mL}$  iken, menenjit dışında iv penisilin uygulamasında direnç sınır değeri  $>2 \mu\text{g/mL}$  olarak belirlenmiştir.

Penisilin duyarlı olmayan *S. pneumoniae* saptanması için  $1 \mu\text{g}$  oksasilin diski ile yapılan disk difüzyon testi en etkin tarama yöntemidir. Bu yöntem çok duyarlıdır, ancak zon çapı  $\leq 19 \text{ mm}$  olan suşların benzilpenisilin duyarlılığı değişkenlik gösterebileceğinden yeterince yüksek özgüllükte değildir. Bu nedenle tarama yöntemi ile duyarsız bulunan tüm izolatların benzilpenisilin için MİK değerleri belirlenmelidir.

Direnç sınır değerlerinin izlemi ve yeni kriterlere göre bildirimini özellikle pnömokokkal solunum yolu enfeksiyonu tedavisinde penisilin ve diğer beta-laktamların kullanımını desteklemektedir. Bu nedenle duyarlılık sonuçlarının yeni kriterlere göre bildirimini ve yorumlanması önem taşımaktadır.

## Kaynaklar

1. Chambers HF, Deleo FR. Waves of resistance: *Staphylococcus aureus* in the antibiotic era. *Nat Rev Microbiol*. 2009;7(9):629-41.
2. Clinical and Laboratory Standards Institute. Performance standards for antimicrobial susceptibility testing, 18.th. informational supplement. CLSI document M100-S18. Wayne, PA, 2008.
3. Fang H, Ohlsson AK, Ullberg M, Özenci V. Evaluation of species-specific PCR, Bruker MS, VITEK MS and the VITEK2 system for the identification of clinical *Enterococcus* isolates. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis*. 2012; 31: 3073-7
4. García-Álvarez L, Holden MT, Lindsay H, Webb CR, Brown DF, et al. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* with a novel *mecA* homologue in human and bovine populations in the UK and Denmark: a descriptive study. *Lancet Infect Dis*. 2011;11(8):595-603
5. Howden BP, Davies JK, Johnson PDR, Stinear TP, Grayson ML. Reduced vancomycin susceptibility in *Staphylococcus aureus*, including vancomycin-intermediate and heterogeneous vancomycin-intermediate strains: resistance mechanisms, laboratory detection and clinical implications. *Clin Microbiol Rev* 2010;1: 99-139
6. [http://www.eucast.org/clinical\\_breakpoints/](http://www.eucast.org/clinical_breakpoints/)
7. Lin MY, Hayden MK. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* and vancomycin-resistant enterococcus: recognition and prevention in intensive care units, *Crit Care Med* 2010; 38(8 Suppl):335-44.
8. Mazuski JE. Vancomycin-resistant enterococcus: risk factors, surveillance, infections, and treatment. *Surg Infect*. 2008;9(6):567-71.
9. Satola SW, Farley MM, Anderson KF, Patel JB. Comparison of Detection Methods for Heteroresistant Vancomycin-Intermediate *Staphylococcus aureus*, with the Population Analysis Profile Method as the Reference Method. *J Clin Microbiol*. 2011; 49: 177-183.
10. Stegger M, Andersen PS, Kearns A, Pichon B, Holmes MA, Edwards G, Laurent F, Teale C, Skov R, Larsen AR. Rapid detection, differentiation and typing of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* harbouring either *mecA* or the new *mecA* homologue *mecALGA251*. *Clin Microbiol Infect*. 2012; 4:395-400.
11. Van Hal SJ, Lodise TP, Paterson DL. The clinical significance of vancomycin minimum inhibitory concentration in *Staphylococcus aureus* infections: a systematic review and meta-analysis. *Clinical Infectious Diseases* 2012; 54: 755-771.
12. Varon E, Mainardi JL, Gutmann L. Streptococcus pneumoniae: still a major pathogen, *Clin Microbiol Infect* 2010;16(5):401.
13. Weinstein MP, Klugman KP, Jones RN. Rationale for revised penicillin susceptibility breakpoints versus *Streptococcus pneumoniae*: Coping with antimicrobial susceptibility in an era of resistance. *Clin Infect Dis* 2009; 48: 1596 - 1600.
14. Wootton M, MacGowan AP, Walsh TR, Howe RA. A multicenter study evaluating the current strategies for isolating *Staphylococcus aureus* strains with reduced susceptibility to glycopeptides. *J Clin Microbiol*. 2007;45(2):329-32.

# BIYOFİLM OLUŞTURAN BAKTERİ İNFEKSİYONLARI

İftihar KÖKSAL

Karadeniz Teknik Üniversitesi, Tıp Fakültesi, İnfeksiyon Hastalıkları Anabilim Dalı, Trabzon

**B**iyofilmler, bir yüzeye yapışarak kendi ürettikleri polimerik yapıda jelsi bir tabaka içinde yaşayan mikroorganizmaların oluşturduğu topluluk olarak tanımlanabilir. Bu jelsi tabaka, bakteri hücreleri tarafından üretilen ve terminolojide “hücre dışı polimerik yapı”, “ekzopolisakarit” ya da “ekzopolimer (EPS)” adı verilen polisakarit bazlı bir ağ yapısıdır. Bir başka tanımlamaya göre biyofilm, birbirine ya da bir yüzeye yapışık bakterinin organik bir polimer matriks içine gömülmesidir.

Biyofilm canlı ve cansız yüzeylerde meydana gelebilir. Biyofilmler bakterileri nem, ısı ve pH değişiklikleri gibi çevresel koşullardaki değişimlerin ve ultraviyole ışığa maruz kalmanın doğuracağı zararlardan korur. Besinlerin depolanmasının ve atıkların uzaklaştırılmasının kolaylaştırılması da biyofilm oluşumunun getirdiği diğer avantajlardır. Bakterilerin kümeler halinde ve ekzopolisakarit matriks içerisinde bulunmaları sonucu fagosite edilmeleri güçleşir ve hümmoral immün sistem bileşenlerinin bakterilere ulaşmaları engellenmiş olur. İmplant edilmiş yabancı cisimlere veya hasarlı dokulara yaşıyan bakteriler kalıcı infeksiyonlara neden olabilirler.

Biyofilmler antibiyotik direncini artırır. Biyofilm yapan bakterilerde dirençli bakteriler aynı bakterinin biyofilm oluşturmayan formundan 1000 kat daha dirençlidir. Biyofilm içersine antibiyotik geçişi yetersizdir veya inaktive olur. Standart antibiyotik tedavisi genellikle başarısız olup tek yol kontamine implantın çıkarılmasıdır.

Klinikte biyofilm oluşumu ile ilişkili infeksiyonlar arasında periodontit, perikardit, kistik fibrozis gibi kronik akciğer infeksiyonları ve çeşitli yabancı cisim/implant infeksiyonları (kalıcı intravenöz kateterler, prostetik kalp kapakları, üriner kateterler ve ortopedik protezler gibi) sayılabilir. Biyofilmler nosokomiyal infeksiyonların en önemli sebebidir. Tüm mikroorganizmalar biyofilm oluşturulabilir. *Pseudomonas aeruginosa*, *Enterobacter spp.*, *Flavobacterium spp.*, *Alcaligenes spp.*, *Staphylococcus spp.*, *Bacillus spp.* biyofilm oluşturma eğilimi yüksek olan bakterilerdir. Bu mikroorganizmalar besin maddelerinin çok olduğu birçok ekosistemde tüm yüzey tipleri üzerinde biyofilm oluşturabilir ve biyofilm içinde yaşayabilir. Biyofilm oluşumunu etkileyen faktörler, bakterilerin yüzeylere bağlanma düzeyi, ortamın pH'sı ve sıcaklığı, bakteri türü, bakteri hücre duvarının yapısı (Gram pozitif ya da Gram negatif oluşu), bakteri sayısı, bakterinin bağlandığı yüzeyin özellikleri, hücre hareketliliği, ortamdaki besin maddeleri içeriği ve miktarı ile iyon konsantrasyonudur.

Üzerinde biyofilmin oluştuğu doku veya yabancı cisim vücuttan çıkartılmadıkça infeksiyonun tam olarak tedavisi mümkün olmaz. Biyofilm oluşumu, bakterilerin sadece bir araya

gelerek belirli bir yüzeye tutunduktan sonra oraya yapışması ve o yüzeydeki diğer türlerle birlikte yaşamaya devam ettikleri şeklinde gerçekleşen rasgele bir olay değildir. Birçok organizma aktivitelerini koordine etmek için birbirlerine sinyal verirken küçük yayılabilir molekülleri kullanırlar. Biyofilm oluşumunda önemli bir mekanizma olan ve “Quorum Sensing (QS)” olarak adlandırılan bu işlem ile bakteriler ürettikleri sinyal moleküllerinin yoğunluğunu ölçebilmekte, çevrelerindeki diğer mikroorganizmaların miktarını hissedebilmekte ve bu verileri diğerlerine iletmesine imkân sağlamaktadır. Başka bir ifadeyle, QS ile bakteriler çevrelerindeki bakteriyel popülasyonun yoğunluğunu belirler. Bir yüzeye tutunan her bakteri, ortama ‘Ben buradayım’ mesajı veren bir molekül salgılar. Yüzeye tutunan bakterilerin sayısı arttıkça, bu sinyalin lokal konsantrasyonları artar.

Bahsedilen bu mekanizmaların etkisi ile biyofilm içindeki bakteri topluluğu veya mantarlar antibiyotiklere dirençli ve konak immün sistemine karşı son derece dayanıklıdır. Biyofilm-spesifik antimikrobiyal direnç mekanizmalarını anlamak, antibiyofilm ajanlara dayalı yenilikçi tedavi yöntemlerini geliştirmek için önemlidir.

## **Biyofilm Özgü Antibiyotik Direnci**

Biyofilm içindeki bakteriler antibiyotiklere dirençlidir. Bu direnç biyofilm yapısı ve biyofilm içindeki mikroorganizmaların farklı defans mekanizmalarından kaynaklanır;

## **Biyofilmler İçine Gecikmiş Antibiyotik Diffüzyonu**

Biyofilm, antibiyotiklerin biyofilm matris bileşenleri ile kimyasal olarak reaksiyona girmesi veya anyonik polisakaritlere bağlanması nedeni ile biyofilm içine antibiyotiklerin diffüzyonunu geciktirir. Biyofilm içine antibiyotiklerin penetrasyonu çok yavaş olduğundan bu uzun süre içinde antibiyotik direnci gelişebilir. Pozitif yüklü aminoglikozidlerin *P. aeruginosa*'nın negatif yüklü biyofilm matris polimerlerine bağlanması, aminoglikozidlerin penetrasyonu geciktirecektir. Halbuki florokinolonların penetrasyon hızlı ve gecikmeksizin oluşur. *Staphylococcus aureus* biyofilmleri, oksasilin, sefotaksim ( $\beta$ -laktamlar), vankomisin ve teikoplaninin penetrasyonunun önemli ölçüde azalmasına neden olurken, amikasin, rifampisin ve siprofloksasin etkilenmemiştir.

## **Kalıcı Hücrelerin Subpopülasyonu**

Biyofilmler, kalıcı (persister) hücreler olarak adlandırılan, yavaş çoğalan veya çoğalmayan, antibiyotik tedavisi gibi hücre dışı streslere dayanıklı küçük reversibl koloni varyantları içerir. Antibiyotikler çoğalma fazındaki bakterilere etkili olduklarından bu hücelere etkileri zayıf olacaktır. Florokinolonlar ile üreme fazında olmayan hücrelerini öldürmek mümkün iken  $\beta$ -laktamlar, sadece aktif olan ve bölünen hücreleri öldürerek daha etkilidir. Kistik fibrozlu hastalarda *P.aeruginosa* ile tekrarlayan infeksiyonların nedeni bu durumdur.

## **Açlık-Kaynaklı Stres Tepkileri**

Laboratuarda besiyerinde besin sınırlı olduğunda bakteriler antibiyotiklere daha dirençli olur. Biyofilm içinde de yeterince besin ve oksijen olmadığından antibiyotiklere direnç gelişecektir.

## Glukan

Glukan, 12-15  $\beta$ -(1,3)-bağlı glukoz moleküllerinin siklik bir polimeri olup, plazma membran bağlı glukan sentaz kompleksi tarafından sentezlenir. Glukan aynı zamanda biyofilm matriksinin bir komponentidir. En yüksek glukan sentezi *C. albicans* biyofilm hücrelerde meydana gelir ve. antifungal ilaç direncine katkıda bulunur.

## Etanol Oksidasyon

*P. aeruginosa* biyofilm-spesifik antibiyotik direncine etanol oksidasyonun katkısı saptanmasına rağmen etanol oksidasyonun hangi mekanizma ile antibiyotik direncini teşvik ettiği hala belirsizdir.

## Ekstrasellüler DNA

Ekstrasellüler DNA *P. aeruginosa*'da biyofilm matriks bileşiminin <% 1-2'sine katkıda bulunabilir. Bu yapı, biyofilm mimarisini korumak ve yapısal destek için gereklidir. *A. fumigatus*'un antifungal direncinde önemli rol oynar.

## Effluks Pompası

Çoklu ilaç effluks pompasının, planktonik hücrelerde antibiyotik direncine katkıda bulunduğu iyi bilinmektedir.

## Tip VI Sekresyon Sistemi

Tip VI sekresyon sistemi biyofilm formasyonunun oluşumunda önemli role sahiptir.

## Regülatörler

Antibiyotik direnci için sorumlu biyofilm spesifik yollar bir veya daha fazla regülatör tarafından düzenlenmiş olabilir. *P.aeruginosa*'da ve *C. albicans*'daki biyofilm spesifik direnç genleri örnek verilebilir.

## Umut Veren Tedavi Stratejileri

Az sayıda antibiyotik biyofilm içindeki bakterileri ortadan kaldırdığından implant kaynaklı biyofilm ilişkili enfeksiyonlarda çoğu kez implante edilen cihazı çıkarmak gerekir. Biyofilm ilişkili enfeksiyonların başarılı tedavisi biyofilmde çoğalan patojenlerin antibiyotiklere direncinin engellenmesi ile mümkündür. Son yıllarda klasik antibiyotiklere alternatif olarak çeşitli antibiyofilm yaklaşımlar geliştirilmektedir. Antimikrobiyal peptitler, biyofilm matriks-bozucu enzimler, bakteriyofajlar, ultrasonik tedaviler, Quorum sensing inhibitörleri bu yaklaşımlar arasında sayılabilir.

## Kaynaklar

1. Sun F, QoF, Ling Y, Biofilm-Associated Infections. Future Microbiol. 2013;8:877-886.
2. Bilman F. kateter ilişkili hastane enfeksiyonlarında sık karşılaşılan biyofilm oluşturan bakterilerde biyofilm ilişkili antibiyotik direncinin araştırılması. Uzmanlık Tez çalışması 2010.
3. Gul H, Artuk C, Yıldız C. Treatment the diagnosis, treatment and management of prosthetic joint infection. J Clin Anal Med 2013;4: 332-9
4. Pace JL, Rupp ME, Finch RG. Biofilms, Infections and Antimicrobial Therapy. Taylor&Francis, 2006.

# CERRAHİ ENFEKSİYONLAR

A.Özdemir AKTAN

Marmara Üniversitesi Tıp Fakültesi Genel Cerrahi Anabilim Dalı, İstanbul

Cerrahi enfeksiyonlar, cerrahi girişimlerin en önemli morbiditelerinden birisi olmaya devam etmekte, uygun tedavi edilmediğinde mortal seyredebilmektedir. Enfeksiyonlar geliştiğinde tedavi edilmesi hem zor, hem de pahalı olmaktadır.

Cerrahi alan enfeksiyonlarının önlenmesinde cerrahların uyması gereken, bilimsel olarak yararlılığı gösterilmiş bir çok önlem bulunmaktadır. Profilaktik antibiyotik kullanılması, kullanıma uygun şekilde traş edilmesi, vücut ısısının korunması, iyi oksijenizasyon gibi uygulamaların yanında cerrahinin ilk yıllarından beri cerrahların el antisepsisi ve cerrahi alanın antisepsisi cerrahi alan enfeksiyonlarının önlenmesinde önemli faktörler olmuştur.

Cerrahların davranış biçimleri her zaman teorik bilgileri ile örtüşmemektedir. Teorik bilgilerin pratiğe yansımaları her zaman bire bir olmamakta ve bu da uygun uygulamaların gerçekleştirilmesini engellemektedir. Konunun önemine tam olarak inanmama, aceleci cerrah davranışları yanında teorik bilgi eksikliği de uygulamayı bozabilmektedir.

Cerrahi enfeksiyonların engellenmesinde koruyucu önlemler bu nedenle önem kazanmaktadır. Koruyucu önlemler arasında profilaktik antibiyotik kullanımı ve cerrahi asepsi, antisepsi uygulamaları önde gelen uygulamalardır. Yapılan çalışmada cerrahların ameliyat öncesi yıkama alışkanlıkları ve hastanın hazırlanması gözlemlendi. Daha sonra aynı konuda verilen anketle cerrahların bu konulardaki bilgisi sorgulandı. Cerrahların ameliyat öncesi asepsi ve antisepsi konularında bilgi oldukları ancak bunu uygulamaya yansıtmadıkları gözlemlendi. Cerrahi enfeksiyon oranlarının azaltılabilmesi için eğitim ve denetim mekanizmalarının daha etkili bir şekilde kullanılması zorunludur.

Tablo 1. Cerrahi bölümlere göre el yıkama süreleri. (SD: standard deviation)

Cerrahi Bölümler	n (%)	Mean ± SD (saniye)	
Genel Cerrahi	23 (21.5)	83.4 ± 54.9	*(p=0.001)
Kadın-Doğum	17 (15.9)	60.3 ± 43.1	
Üroloji	24 (22.4)	54.3 ± 35.8	
Plastik Cerrahi	20 (18.7)	43.7 ± 29.4	
Göğüs Cerrahisi	23 (21.5)	98.4 ± 58.9	
Toplam	107 (100)	69 ± 49.7	

# FEBRİL NÖTROPENİK HASTAYA BAŞLANGIÇ YAKLAŞIMI

**Volkan KORTEN**

*Marmara Üniversitesi Tıp Fakültesi, Enfeksiyon Hastalıkları Anabilim Dalı, İstanbul*

**H**ematolojik kanserli veya solid tümörlü hastalar kemoterapi sonrasında nötropenik faza girdiklerinde enfeksiyonlara duyarlılıkları belirgin şekilde artmaktadır. Nötropenik hastalarda enfeksiyonun tek belirtisi çoğu kere ateş olmaktadır. Bu hastalarda enfeksiyonun seyri son derece hızlı olabilir ve yüksek mortalite ile seyredebilir. Bu gerekçelerle nötropenik hastalarda ateş saptanması halinde, enfeksiyon kaynağını saptamaya yönelik muayene ve işlemler tamamlandıktan sonra derhal empirik antibiyotik tedavisi başlanmalıdır. Empirik tedavinin seçimi her merkezin kendi verilerine göre, en sık enfeksiyon etkeni bakterilerin antibiyotik duyarlılıkları dikkate alınarak belirlenmelidir.

1970'li yıllarda gram-negatif bakteriler asıl etken olarak saptanırken, 1980'li yılların ortalarından başlayarak grampozitif mikroorganizmaların enfeksiyon etkeni olma sıklığı giderek artmıştır. Son yıllarda gram-negatif bakterilerin enfeksiyon etkeni olma sıklığında birçok ülkede yeniden bir artış gözlenmektedir.

Başlangıç empirik tedaviyi belirlerken hastanın yüksek veya düşük riskli olduğunu belirlemek önem taşımaktadır. Yüksek riskli gruplar yatırılarak parenteral ilaçlarla tedavi edilirler. IDSA kılavuzunda nötropenisi 7 günden fazla sürenler, derin nötropenisi (PNL < 100 hücre/mm<sup>3</sup>) veya önemli ko-morbid hastalıkları bulunanlar yüksek riskli olarak belirlenmiştir. Bu amaçla MASCC skoru da kullanılabilir.

Yapılan birçok çalışma geniş spektrumlu yeni antibiyotiklerin monoterapi olarak verilmesinin kombinasyonlar kadar etkin olduğunu göstermektedir. Birçok kılavuz tek başına antipsödomonal etkili bir beta-laktam (seftazidim, sefepim, imipenem veya meropenem) veya beta-laktam/beta-laktamaz inhibitör kombinasyonu kombinasyonunun (sefoperazon-sulbaktam veya piperasilin-tazobaktam) febril nötropeninin empirik tedavisinde kullanılmasını önermektedir. Geniş spektrumlu beta-laktamaz sentezleyen mikroorganizmaların sıklığında artma seftazidim kullanımını kısıtlamaktadır. Sayılan diğer antibiyotiklerin aksine seftazidimin gram-pozitif bakterilere etkinliği de yoktur. Bir aminoglikozid antibiyotikle (amikasin, tobramisin, netilmisin veya gentamisin) yukarıda sayılan beta-laktam antibiyotiklerden birinin kombine kullanılması diğer tedavi alternatifini oluşturur.

Ağır mukozid ve önceden uygulanmış kinolon profilaksisi olması, klinik olarak şüphelenilen kateter enfeksiyonu ve hipotansiyon veya diğer ciddi sepsis delilleri varsa empirik tedaviye bir glikopeptid antibiyotiğinin (vankomisin veya teikoplanin) eklenmesi önerilmektedir.



Hastaların ateşli atak öncesi metisiline dirençli *S. aureus* (MRSA) veya penisiline dirençli *S. pneumoniae* ile kolonize olduklarının saptanması veya kan kültürlerinde tiplendirilmesi henüz yapılmamış gram-pozitif bakteri üremesi de empirik tedaviye glikopeptid eklenmesi için bir endikasyon sayılmalıdır. VRE kolonizasyonu olan hastalarda bu durumda daptomisin veya linezolid gibi uygun bir antibiyotik kullanılmalıdır.

Başlangıçtaki empirik tedavinin başarısı ilk 48-96 saatin sonunda değerlendirilmelidir. Bu sürede eğer infeksiyon etkeni mikroorganizma izole edilirse, tedavi uygun şekilde modifiye edilebilir.

Genel durumunda bozulma saptanan hastalarda üçüncü-beşinci günde başlangıç empirik tedavide değişiklik yapılması planlanmalıdır. Hastanın yeniden radyolojik ve mikrobiyolojik değerlendirilmesi yapılmalıdır. Bu değişiklik aminoglikozid almayan hastalarda tedaviye bu antibiyotik eklenmesi, eğer başlangıçta bir sefalosporin kullanıldıysa bunun yerine bir karbapenem türevi verilmesi şeklinde de olabilir.

Son yıllarda febril nötropenik hasta popülasyonunda da çoklu dirençli patojenlerle (MDR) gelişen enfeksiyonların sıklığında artış gözlenmektedir. Bu da ECIL önerilerinde olduğu gibi MDR patojenlerle daha önceden enfeksiyon geçirmiş veya kolonize olduğu bilinen hastalarda başlangıçta bu patojenleri kapsayan, eğer tespit edilemez ise takiben tedavinin daraltıldığı de-eskalasyon stratejilerini de gündeme getirmiştir.

Febril nötropenik hastalarda ilk hafta boyunca ateş nedeni sıklıkla bakteriyel olup araştırmaların odağını oluşturmaktadır. Antibiyotik altında inatçı veya tekrarlayan ateşlerde ise dirençli gram negatifler, gram pozitif mikroorganizmalar ve fungal patojenler önem kazanmaktadır. Özellikle uzamış nötropenisi olan hasta grubunda başta *Candida* ve *Aspergillus* olmak üzere fungal patojenlerin önemi yıllardır bilinmektedir. Febril nötropenik hastalarda invazif fungal enfeksiyonların (İFİ) sık görülmesi, tanısında yaşanan zorluklar ve yüksek mortalite düzeyleri sebebi ile uygun empirik antibakteriyel tedaviye rağmen ateşi devam eden hastalarda empirik antifungal kullanımına günümüzde sıklıkla başvurulmaktadır. Son dönemlerde empirik antifungal tedavi dışında yeni tedavi yaklaşımları da gündeme gelmiştir. Değişik şekillerde yönlendirilen pre-emptif (yüksek olasılıklı enfeksiyona yönelik erken) tedavi yaklaşımları güncel araştırma konusu olarak karşımıza çıkmaktadır. Empirik antifungal tedavi ön planda ateşe göre yönlendirilmektedir.

Bu yaklaşımda vakaların ciddi bir kısmında gereksiz antifungal kullanımı söz konusudur. Pre-emptif tedavide ise ateş dışında, klinik veya laboratuvar olarak herhangi destekleyici bir bulgu tespit edildiğinde tedaviye başlanmakta, diğer vakalarda ise yakın gözlemlerle yetinilmektedir. İnvazif fungal enfeksiyonların başarılı tedavisinde en önemli kriterlerden birisi erken tedavi başlanmasıdır. Klinik bulgular dışında yüksek rezolüsyonlu tomografi, galaktomannan, PCR ve beta gluklan testleri erken tanı konusunda ileriye yönelik ümit vadeden yöntemlerdir.

## Kaynaklar

1. Freifeld AG, Bow EJ, Sepkowitz KA, Boeckh MJ, Ito JI, Mullen CA, Raad II, Rolston KV, Young JA, Wingard JR, Infectious Diseases Society of America. Clinical practice guideline for the use of antimicrobial agents in neutropenic patients with cancer: 2010 update by the infectious diseases society of america. *Clin Infect Dis*. 2011;52(4):e56-93
2. Averbuch D, Cordonnier C, Livermore DM, Mikulska M, Orasch C, Viscoli C, Gysens IC, Kern WV, Klyasova G, Marchetti O, Engelhard D, Akova M; ECIL4, a joint venture of EBMT, EORTC, ICHS, ESGICH/ESCMID and ELN. Targeted therapy against multi-resistant bacteria in leukemic and hematopoietic stem cell transplant recipients: guidelines of the 4th European Conference on Infections in Leukemia (ECIL-4, 2011). *Haematologica*. 2013;98(12):1836-47.
3. Maertens J, Theunissen K, Verhoef G, et al. Galactomannan and computed tomography-based preemptive antifungal therapy in neutropenic patients at high risk for invasive fungal infection: a prospective feasibility study. *Clin Infect Dis* 2005;41:1242-50.

# CLINICAL RELEVANCE OF MOLECULAR DETECTION OF CARBAPENEMASES

**Pierre BOGAERTS Ir PhD**

*Head of Molecular Biology – Laboratory of Clinical Biology  
CHU Dinant Godinne | UCL Namur asbl, Belgium*

**R**ecently, the emergence of carbapenem resistance has increasingly been reported among *Enterobacteriaceae* and represents a major public health concern. The most common mechanism of carbapenem resistance or decreased susceptibility in Gram negative bacteria involves the presence of a  $\beta$ -lactamase (a cephalosporinase or an ESBL) with low carbapenem-hydrolyzing activity together with decreased permeability due to porin loss. However, carbapenem resistance also results more and more frequently from the production of carbapenemases belonging to Ambler Class A (mostly KPC but occasionally also GES variants), B (metallo- $\beta$ -lactamases, mostly VIM, IMP, NDM), or D (mostly OXA-48 in *Enterobacteriaceae* and OXA-23, OXA-24 and OXA-58 in *Acinetobacter baumannii*). Global epidemiological data has revealed a constant increase of carbapenemase-producing *Enterobacteriaceae* worldwide with KPC being mostly identified in the American continent and in Southern Europe, while Class B are spreading worldwide with a major reservoir of NDM-producing bacteria identified in the Indian subcontinent. OXA-48 which was initially detected in Turkey is now spreading extensively at least in Europe. Initially specifically detected in hospital environment, population exchange and travel help installing it in the community. Early detection of carbapenemase-producing bacteria seems of major importance in order to adapt the infection control measures in the hospital and possibly the treatment of patients.

In this presentation we will perform a short survey of some of the molecular techniques for detection of carbapenemase producers, with an emphasis on OXA-48, and their use in outbreak management. Rapid molecular detection of carbapenemases: why now?

The spread of extremely resistant Gram-negative bacteria, such as carbapenemase-producing *Enterobacteriaceae* (CPE), is increasing at an alarming rate in healthcare settings (1). This increase poses a serious public health threat especially for patient safety in hospitals. Infections with CPE are associated with increased morbidity and mortality and length of stay (11). Such infections are not sensitive to  $\beta$ -lactam antibiotics, not even to the last-line antibiotics meropenem and imipenem. Novel effective treatment options to avoid this looming crisis are not to be expected within the next years. The impact of CPE in healthcare settings will therefore be substantial if action is not taken.

The time to intervene is now, to prevent the CPE issue from growing even bigger than MRSA. Early identification of patients who are either colonized or infected with CPE is regarded as key in bringing the CPE issue under control (2).

Unfortunately, currently used phenotypic methods are time-consuming, lack sensitivity and require confirmation by a reference laboratory (4,5,6,7,8,9,10). This makes these methods insufficient in meeting the urgent need for carbapenemase detection.

Check-Direct CPE is a novel molecular assay that offers carbapenemase detection directly from rectal swabs, perianal swabs or culture in just 2.5 hours. A quick turnaround time helps enable early initiation of infection control measures which may limit the further spread of CPE. In case patients are pre-emptively isolated, the duration of unnecessary isolation of non-carriers may be reduced.

Based on multiplex-PCR technology, the assay is able to differentiate between OXA-48, KPC and VIM/NDM. This additional information allows a prompt epidemiological response to potential outbreaks. In addition, the Check-Direct CPE assay has been adapted to several platforms which allow for highthroughput testing if required. Check-Direct CPE is a rapid and sensitive method for carbapenemase screening and confirmation for routine use in clinical laboratories.

## About Check-Points

Check-Points offers a range of molecular assays that support you in identifying and controlling the spread of carbapenemases. Developed in close collaboration with world-leading experts, our assays include multiplex real-time PCR assays for carbapenemases and ESBLs performed directly from rectal swabs, perianal swabs or culture as well as microarrays for pinpointing carbapenemase, AmpC and ESBL genes.

## References

1. Cantón, R., Akóva, M., Carmeli, Y., Giske, C. G., Glupczynski, Y., Gniadkowski, M., Livermore, D. M., Miriagou, V., Naas, T., Rossolini, G. M., Samuelsen, Ø., Seifert, H., Woodford, N., Nordmann, P., and the European Network on Carbapenemases (2012), Rapid evolution and spread of carbapenemases among Enterobacteriaceae in Europe. *Clinical Microbiology and Infection*, 18: 413–431.
2. Akova M, Daikos GL, Tzouvelekis L, Carmeli Y. Interventional strategies and current clinical experience with carbapenemase-producing Gram-negative bacteria. *Clinical Microbiology and Infection*. 2012 May;18(5):439-48.
3. Cohen Stuart, J., Voets, G., Scharringa, J., Fluit, A.C., and Leverstein-Van Hall, M.A. (2012), Detection of carbapenemases-producing Enterobacteriaceae with a commercial DNA microarray. *J. Med. Microbiol.*, 61: 000-000 (published online ahead of print)
4. Doyle, D., Peirano, G., Lascols, C., Lloyd, T., Church, D.L., and Pitout, J.D.D. (2012), The Laboratory Diagnosis of Enterobacteriaceae that produce Carbapenemases. *J. Clin. Microbiol.* (published online ahead of print)
5. Girlich, D., Poirel, L., and Nordmann P. (2012) Value of the Modified Hodge Test for Detection of Emerging Carbapenemases in Enterobacteriaceae. *J.Clin. Microbiol.*, 50(2) 477-479
6. Endimiani, A., Perez, F., Bajaksouzian, S., Windau, A.R., Good, C.E., Choudhary, Y., Hujer, A.M., Bethel, C.R., Bonomo, R.A., and Jacobs, M.R. (2010), Evaluation of Updated Interpretative Criteria for Categorizing *Klebsiella pneumoniae* with Reduced Carbapenem Susceptibility. *J. Clin. Microbiol.*, 48:4417-4425
7. Woodford, N., Eastaway, A.T., Ford, M. Leanord, A., Keane, C., Quayle, R.M., Steer, J.A., Zhang, J., and Livermore, D.M. (2010), Comparison of BD Phoenix, Vitek 2, and Microscan Automated Systems for Detection and Inference of Mechanisms Responsible for Carbapenem Resistance in Enterobacteriaceae. *J. Clin. Microbiol.*, 48: 2999-3002

8. Nordmann, P., Cuzon, G., and Naas T., (2009), The real threat of *Klebsiella pneumoniae* carbapenemase-producing bacteria. *L. Infect. Dis.*, 9: 228-236
9. Carvalhaes, C.G., Picão, R.C., Nicoletti, A.G., Xavier, D.E., and Gales, A.C. (2010), Cloverleaf test (modified Hodge test) for detecting carbapenemase production in *Klebsiella pneumoniae*: be aware of false positive results. *J. Antimicrob. Chemother.*, 65: 249-251
10. Poirel, L., Potron, A., and Nordmann, P. (2012), OXA-48-like carbapenemases: the phantom menace. *J. Antimicrob. Chemother.*, 67: 1547-1606
11. Tzouveleki LS, Markogiannakis A, Psychogiou M, Tassios PT, Daikos GL. Carbapenemases in *Klebsiella pneumoniae* and other Enterobacteriaceae: an evolving crisis of global dimensions. *Clin Microbiol Rev.* 2012

# TÜRKİYE'DE CLSI'DAN EUCAST'A GEÇİŞ

Deniz GÜR

Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Ankara

**S**andartlara uygun olarak yapılan antibiyotik duyarlılık testleri, antibiyotik yönetiminde (antimicrobial stewardship) önemli bir yer tutmaktadır. Uygun antibiyotiklerin gerekli endikasyonlarda, uygun doz ve sürede uygulanmaları antibiyotiklere direnci azaltacak önlemlerin başında gelmektedir.

Türk Mikrobiyoloji Cemiyeti Antibiyotik Duyarlılık Testlerinin Standardizasyonu (ADTS) çalışma grubu 1994 yılından beri ülkemizde antibiyotik duyarlılık testlerinde standardizasyonun sağlanması için çalışmaktadır. Bu grup, toplantı, panel ve eğitim çalışmaları ile ülkemizde antibiyotik duyarlılık testlerinde en sık temel alınan CLSI standartlarının yaygın kullanımını için uğraş vermiştir.

Son yıllara değin CLSI Standartları, Amerika Birleşik Devletleri'nin yanında ülkemiz de dahil, Avrupa'nın bir çok ülkesinde tercih edilen standart olmuştur. Bununla birlikte 1997 yılında kurulmuş ve 2002 yılında bugünkü şekline kavuşmuş olan "European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing (EUCAST)" standartları, Avrupa'da yaygın olarak kullanılmaya başlanmıştır. İki standardın bir çok benzerliği olmasına karşın bazı farklılıkları da bulunmaktadır.

EUCAST dokümanlarının bedava oluşu, web sayfasında halka açık olması, sınır değerlerin belirlenmesinde bağımsız olunması, Avrupa'da EUCAST'ın tercih edilen standart olması, ülkemizde de EUCAST standartlarına geçişi gerekli kılmıştır.

Ülkemizde bir yıl içinde tüm laboratuvarların EUCAST standartlarını kullanmaya başlaması hedeflenmektedir. Otomatize sistem üreticileri EUCAST sınır değerlerini verecek şekilde hazırlıklarını yapmaktadır. Dilüsyon ve difüzyon yöntemleri EUCAST ve CLSI'da çok küçük değişiklikler dışında hemen hemen aynıdır. Güç üreyen bakterilerde CLSI 'da iki ayrı besiyeri gerekirken, EUCAST ise streptokok, pnömokok ve *Haemophilus influenzae* için %5 at kanı ve 20mg NAD eklenmiş tek bir besiyeri önermektedir.

CLSI'dan EUCAST'a geçişte disk difüzyon testlerinde yaşanabilecek en büyük sorun iki standart arasında bazı disklerin antibiyotik içeriklerinin ve zon çaplarının farklı oluşudur; bazılarınin ise sınır değerleri farklıdır. EUCAST'a geçildikten sonra özellikle solunum yolu izolatlarında bazı direnç oranlarının artması beklenmektedir; EUCAST sınır değerleri bazı antibiyotikler için daha düşüktür, ancak klinik sonuçlarla daha uyumlu olduğu belirtilmektedir.

ADTS alışma grubu EUCAST'ın ulusal temsilcisidir (NAC). EUCAST dokümanlarının Türkçe evirilerine Türk Mikrobiyoloji Cemiyeti'nin web sayfasından (<http://www.tmc-online.org/>) ulaşılabilir. Burada EUCAST antibiyotik duyarlılık testi yöntemleri ve sınır değer tabloları ile birlikte "Antimikrobik duyarlılık testlerinin EUCAST sınır değerleri ile uygulanmasına geçişi kolaylaştıracak kontrol listesi" de bulunmaktadır. Bu süreçte ADTS grubu tüm üyelerin yardımına hazırdır.

# DİRENÇ MEKANİZMALARININ SAPTANMASINDA EUCAST ÖNERİLERİ

Onur KARATUNA

Acıbadem Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, İstanbul

**B**azı özel direnç mekanizmalarının rutin laboratuvarlar tarafından saptanmasının antimikrobik duyarlılık test sonuçlarının bildirilmesinde (duyarlılık sınıfının belirlenmesi), enfeksiyon kontrolünde ve halk sağlığı açısından önemi bulunmaktadır. EUCAST (Avrupa Antimikrobik Duyarlılık Testleri Komitesi) yayınladığı “Klinik ve/veya epidemiyolojik önemi olan özel antimikrobik direnç mekanizmalarının saptanması” dokümanı ile bu özel direnç mekanizmalarının rutin laboratuvarlarda kolaylıkla saptanabilmesi için gerekli yöntemleri tanımlamaktadır (1). Dokümanda önemli yedi direnç mekanizması yer alsa da (Tablo 1), diğer bazı direnç mekanizmaları için (indüklenebilir klindamisin direnci, Salmonella spp.’de düşük-düzye siprofloksasin direnci gibi) EUCAST’ın her sene güncellediği “MİK ve zon çapı değerlendirmek için sınır değer tabloları” dokümanından yararlanılmaktadır (2).

Direnç mekanizmalarının saptanmasına ilişkin dokümanda direnç mekanizmasının veya özgül direncin tanımı yapılmakta, mekanizmanın veya özgül direncin saptanması için klinik ve/veya halk sağlığı ihtiyacı açıklanmakta, tavsiye edilen saptama yöntemlerinin özet tanımı yapılmakta ve yöntemlerin detaylı tanımları için kaynak gösterilmektedir.

Bazı direnç mekanizmalarının her zaman klinik dirence yol açmadığı vurgulanmalıdır. Bu sebeple, direnç mekanizmalarının saptanması enfeksiyon kontrolü ve halk sağlığı açısından anlamlı olsa da, klinik amaçlar için gerekli olmayabilir. Buna bağlı olarak Gram negatif basillerdeki genişlemiş spektrumlu beta-laktamazlar ve karbapenemazlar gibi bazı mekanizmalar için mekanizmanın belirlenmesi tek başına kökeni dirençli olarak sınıflamaya sebep olmaz.

**Tablo 1.** Klinik ve/veya epidemiyolojik önemi olan antimikrobik direnç mekanizmaları

Özel direnç mekanizması	Direnç mekanizmasının saptanmasının önemi		
	Antimikrobik duyarlılık sınıflaması için gereklidir	Enfeksiyon kontrolü	Halk sağlığı
Karbapenemaz üreten <i>Enterobacteriaceae</i>	Hayır	Evet	Evet
Genişlemiş-spektrumlu $\beta$ -laktamaz üreten <i>Enterobacteriaceae</i>	Hayır	Evet	Evet
Kazanılmış AmpC $\beta$ -laktamaz üreten <i>Enterobacteriaceae</i>	Hayır	Evet	Evet
Metisiline dirençli <i>Staphylococcus aureus</i> (MRSA)	Evet	Evet	Evet
Glikopeptide duyarlı olmayan <i>Staphylococcus aureus</i>	Evet	Evet	Evet
Vankomisine dirençli <i>Enterococcus faecium</i> ve <i>Enterococcus faecalis</i>	Evet	Evet	Evet
Penisiline duyarlı olmayan <i>Streptococcus pneumoniae</i>	Evet	Hayır	Evet



## 1. Karbapenemaz üreten *Enterobacteriaceae*

**Tanım:** Karbapenemazlar penisilinleri ve çoğu olguda sefalosporinleri, çeşitli derecelerde karbapenemleri ve monobaktamları hidrolize eden  $\beta$ -laktamazlardır (monobaktamlar, metallo- $\beta$ -laktamazlar tarafından hidrolize edilmezler).

### *Enterobacteriaceae*'de Karbapenemazların Saptanması İçin Önerilen Yöntemler

**Karbapenemaz üretiminin taranması:** Karbapenemaz üreten *Enterobacteriaceae* kökenlerinde karbapenem MİK değerleri klinik sınır değerlerin altında olabilir. Ancak EUCAST tarafından tanımlanan ECOFF (epidemiyolojik eşik değer) değerleri karbapenemaz üreten kökenleri saptamak için kullanılabilir, bu amaçla meropenem duyarlılık ve özgüllük açısından en iyi dengeyi sunmaktadır. Ertapenem GSBL enzimlerine ve AmpC  $\beta$ -laktamaz + porin kaybı birlikteliğine dayanıksız olduğu için mükemmel duyarlılık göstermesine rağmen özgüllüğü zayıftır.

**Tablo 2.** (EUCAST yöntemine göre) karbapenemaz üreten *Enterobacteriaceae* için klinik sınır değerler ve tarama eşik değerleri

<i>Karbapenem</i>	<i>MİK (mg/L)</i>		<i>Disk difüzyon zon çapları (mm) (10 <math>\mu</math>g disklerle)</i>	
	<i>S/I sınır değeri</i>	<i>Tarama eşik değeri</i>	<i>S/I sınır değeri</i>	<i>Tarama eşik değeri</i>
Meropenem <sup>1</sup>	$\leq 2$	$> 0.12$	$\geq 22$	$< 25^2$
İmipenem <sup>3</sup>	$\leq 2$	$> 1$	$\geq 22$	$< 23$
Ertapenem <sup>4</sup>	$\leq 0.5$	$> 0.12$	$\geq 25$	$< 25$

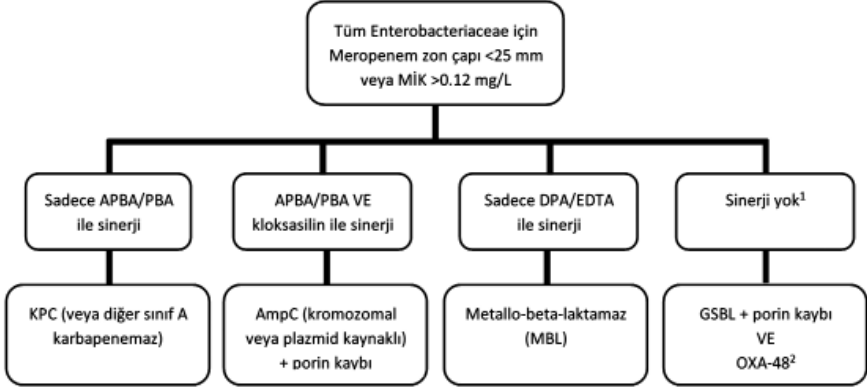
<sup>1</sup> Duyarlılık ve özgüllük açısından en iyi denge.

<sup>2</sup> Bazı OXA-48 üreten kökenlerde zon çapı 26 mm'ye kadar ulaşabilmektedir. Bu sebeple, OXA-48 üreten *Enterobacteriaceae* kökenlerinin endemik olduğu ülkelerde, özgüllükten taviz verilerek,  $< 27$  mm tarama eşik değeri olarak kullanılabilir.

<sup>3</sup> İmipenemin sokak tipi kökenler ile karbapenemaz üreten kökenleri ayırma gücü görece zayıftır. Bu sebeple tarama testi bileşeni olarak imipenemin tek başına kullanımı önerilmemektedir.

<sup>4</sup> Yüksek duyarlılık ama düşük özgüllük, bu sebeple rutin kullanım için önerilmemektedir.

**Karbapenemaz üretiminin doğrulanması için yöntemler:** Rutin duyarlılık testlerinde karbapenemlere azalmış duyarlılık saptandığında, karbapenemazların saptanması için fenotipik yöntemler kullanılmalıdır. Bu amaçla geçerliliği belirlenmiş kombinasyon disk testleri kullanılabilir (MAST, Birleşik Krallık; Rosco, Danimarka). Meropenem  $\pm$  çeşitli inhibitör maddeleri içeren disk veya tabletler aşağıda ayrıntılı olarak açıklanmaktadır. Özetle, boronik asit sınıf A karbapenemaz inhibitörü, dipikolinik asit sınıf B karbapenemaz inhibitörüdür. AmpC aşırı üretimi + porin kaybı ve karbapenemaz üretimi arasında ayırım yapılabilmesi için teste, AmpC  $\beta$ -laktamaz enziminin inhibitörü olan kloksasilin eklenmiştir. Test sonuçlarının değerlendirilmesi için akış şeması Şekil 1'de verilmektedir.



**Şekil 1.** Karbapenemaz saptanması için akış şeması

**Kısaltmalar:** APBA=aminofenil boronik asit, PBA=fenil boronik asit, DPA=dipikolinik asit, EDTA=etilendiaminetetraasetik asit (tümü kombinasyon disk testi deneylerinde meropenem içeren disk veya tabletlere eklenen  $\beta$ -laktamaz inhibitördür)

<sup>1</sup> KPC ve MBL biriktiliği sinerji göstermeyebilir ama kökenler normalde karbapenemlere yüksek düzey dirençlidir. Bu kökenler en kolay olarak moleküler yöntemlerle saptanabilir.

<sup>2</sup> Yüksek düzey temosilin direnci (MİK >32 mg/L, 30  $\mu$ g temosilin diski ile deneme niteliğindeki zon çapı <11 mm) sınıf A ve B karbapenemaz inhibitörleri ile sinerji eksikliğinde, OXA-48 üretiminin fenotipik göstergesi olarak değerlendirilmelidir.

**Fenotipik saptama yöntemlerinin değerlendirilmesi:** Metallo- $\beta$ -laktamazlar, sınıf A karbapenemazlar, sınıf D karbapenemazlar ve non-karbapenemazlar (GSBL ve/veya AmpC artı porin kaybı) arasında ayırım yapılması için akış şeması Tablo 3'te verilmektedir. Bu testler kolay üreyen bakteriler için EUCAST disk difüzyon yöntemi kullanılarak yapılabilir.

Günümüzde OXA-48-benzeri enzimler için tanımlanmış bir inhibitör bulunmamaktadır. Yüksek düzey temosilin direnci (MİK >32 mg/L) OXA-48-benzeri karbapenemaz üretimi için bir fenotipik belirteç olarak önerilse de, diğer direnç mekanizmaları da bu fenotipe yol açabildiğinden OXA-48 tipi karbapenemazlar için özgül değildir. Bu sebeplerle OXA-48-benzeri enzimlerin varlığı genotipik yöntemlerle doğrulanmalıdır.

Modifiye yonca yaprağı (Hodge) testi sonuçlarının değerlendirilmesindeki zorluk, özgüllüğün zayıf oluşu, duyarlılığın bazı durumlarda yeterli olmaması gibi sebeplere bağlı olarak önerilmemektedir.

**Tablo 3.** Disk veya tabletlere kullanıldığı difüzyon yöntemlerinde fenotipik testlerin değerlendirilmesi (karbapenemazlar koyu renk ile belirtilmektedir)

<i>β</i> -laktamaz	10 µg meropenem diski/tableti ile zon çapında (mm) artışa bağlı olarak gözlenen sinerji				Temosilin MİK >32 mg/L veya zon çapı <11 mm
	DPA/EDTA	APBA/PBA	DPA+APBA	CLX	
<b>MBL</b>	+	-	-	-	Değişken <sup>1</sup>
<b>KPC</b>	-	+	-	-	Değişken <sup>1</sup>
<b>MBL + KPC<sup>2</sup></b>	Değişken	Değişken	+	-	Değişken <sup>1</sup>
<b>OXA-48-benzeri</b>	-	-	-	-	Evet
AmpC + porin kaybı	-	+	-	+	Değişken <sup>1</sup>
GSBL + porin kaybı	-	-	-	-	Hayır

**Kısaltmalar:** MBL = metallo-β-laktamaz, KPC = *Klebsiella pneumoniae* karbapenemaz, DPA = dipikolinik asit, EDTA = etilendiamintetraasetik asit, APBA = aminofenil boronik asit, PBA = fenil boronik asit, CLX = kloksasilin  
<sup>1</sup>Temosilin duyarlılık testi sadece sinerji sağlanmadığı durumlarda, GSBL + porin kaybı ile OXA-48-benzeri enzimlerin ayrımlarının yapılabilmesi için önerilmektedir. Diğer enzimlerin de varlığında duyarlılık değişikdir ve varolan β-laktamaz için herhangi ileri bir bulgu sunmaz.  
<sup>2</sup>İkili inhibitör (DPA veya EDTA artı APBA veya PBA) içeren ticari tabletlere kullanımını destekleyen bir çalışma mevcuttur ama çok merkezli çalışmalar veya çok sayıda tek merkez çalışması eksiktir. Bu kombinasyon yüksek düzey karbapenem direncine neden olur ve Yunanistan dışında nadirdir.

## 2. Genişlemiş-Spektrumlu β-laktamaz (GSBL) Üreten *Enterobacteriaceae*

**Tanım:** GSBL'ler oksiiimino-β-laktamlar (sefuroksim, 3. ve 4. kuşak sefalosporinler ve aztreonam) da dahil olmak üzere, penisilinler ve sefalosporinlerin çoğunu hidrolize eden, ancak sefamisinler ve karbapenemleri etkilemeyen enzimlerdir. GSBL'lerin çoğu Ambler sınıf A'da yer alır ve β-laktamaz inhibitörleri (klavulanik asit, sulbaktam ve tazobaktam) ile inhibe olur.

### *Enterobacteriaceae*'de GSBL Saptanması İçin Önerilen Yöntemler

Birçok bölgede, GSBL saptanması ve enzimlerin tanımlanması özellikle enfeksiyon kontrolü açısından önerilmektedir veya mecburidir. *Enterobacteriaceae* üyelerinde GSBL saptanması açısından önerilen strateji, öncelikle oksiiimino-sefalosporinlere "duyarlı olmama" özelliğinin saptanması ile başlamakta, bunu takiben fenotipik (bazen genotipik) doğrulama testleri uygulanmaktadır (Tablo 4, Şekil 2).

Sefotaksim, seftriksim ve seftazidim için EUCAST ve CLSI rehberleriyle uyumlu olarak, tarama sınır değerinin MİK >1mg/L olması önerilmektedir (Tablo 4). *Enterobacteriaceae* için EUCAST'ın önerdiği klinik sınır değeri de S ≤1mg/L'dir (2). Sefpodoksım GSBL üretimin saptanması için en duyarlı indikatör sefalosporindir ve bu nedenle taramada kullanılabilir. Ancak, bu β-laktam madde ile alınan sonuçların özgüllüğü, sefotaksim (veya seftriksim) ile seftazidim kombinasyonu ile alınan sonuçlara kıyasla daha düşüktür. İndikatör sefalosporinler için inhibisyon zonu çapları Tablo 4'te yer almaktadır.

**Tablo 4.** Enterobacteriaceae için GSBL tarama yöntemleri

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

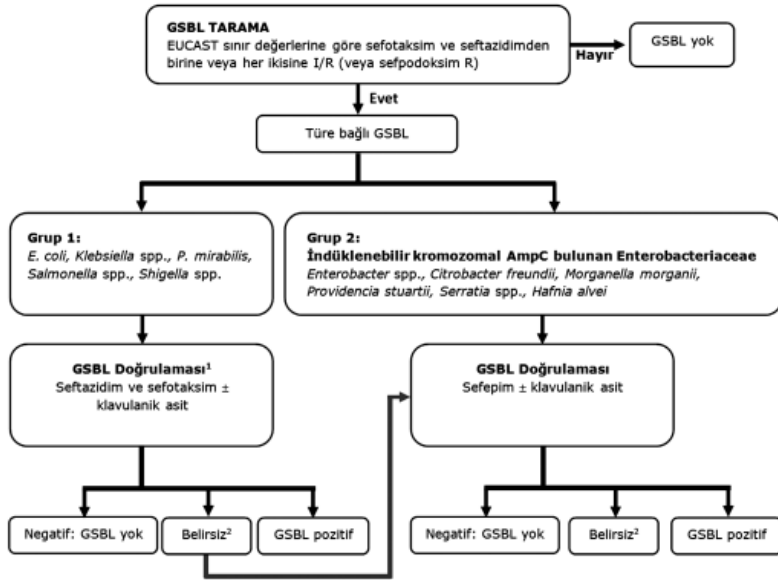
<sup>1</sup> Tüm yöntemlerle sefotaksim veya seftriakson VE seftazidim; VEYA tek ajan olarak sefpodoksim test edilebilir.

### Enterobacteriaceae Üyelerinde GSBL'nin Taranması

A- Grup 1 Enterobacteriaceae (*E. coli*, *Klebsiella* spp., *P. mirabilis*, *Salmonella* spp., *Shigella* spp.)'de Tarama: Tarama testlerinde pozitif bulunan Grup 1 Enterobacteriaceae için fenotipik GSBL doğrulama yöntemleri ve ilgili akış şeması Tablo 5 ve Şekil 2'de yer almaktadır.

B- Grup 2 Enterobacteriaceae'de (*Enterobacter* spp., *Serratia* spp., *Citrobacter freundii*, *Morganella morganii*, *Providencia* spp., *Hafnia alvei*) Tarama: Grup 2 Enterobacteriaceae için Grup 1 için belirtilen şekilde (Tablo 6 ve Şekil 2) tarama testleri yapılır. Ancak bu türlerde sıklıkla sefalosporin direncine yol açan mekanizma dereprese kromozomal AmpC β-laktamaz üretimidir. Sefepim AmpC beta-laktamazın hidrolizine dirençli olduğundan fenotipik testlerde klavulanik asit ile birlikte kullanılabilir.

**Fenotipik doğrulama yöntemleri:** GSBL aktivitesinin in vitro şartlarda klavulanik asit ile inhibisyonu temeline dayanan fenotipik yöntemlerden dördü GSBL doğrulaması için önerilmektedir. Bunlar; kombinasyon disk testi (KDT), çift disk sinerji testi (ÇDST), GSBL gradient testi ve sıvı mikrodilüsyon testidir (Tablo 5 ve 6). Otomatize sistem üreticileri, duyarlılık test panellerine, GSBL'lerin klavulanik asit ile inhibisyonunu gösterecek şekilde, saptama testleri eklemişlerdir. Sonuçlar, suş koleksiyonuna ve kullanılan sisteme göre değişmektedir.



**Şekil 2.** GSBL'lerin fenotipik yöntemlerle saptanması için akış şeması

<sup>1</sup>Eğer sefoksitin MIC > 8 mg/L, sefepim ± klavulanik asit doğrulama testi yapılmalıdır

<sup>2</sup>Pozitif veya negatif olarak değerlendirilmeyen grup (ör. içerdiği MİK düzeylerinin üzerinde üreme olması nedeniyle gradiyent şeritlerinin okunamaması veya kombinasyon disk testi ve çift disk sinerji testinde kesin sinerji gözlenmemesi)

**Tablo 5.** GSBL tarama testinde pozitif olan Enterobacteriaceae (Tablo 4'e bakınız) için GSBL doğrulama yöntemleri. Grup 1 Enterobacteriaceae (Şekil 2'ye bakınız)

Yöntem	Antimikrobik madde (disk içeriği)	GSBL doğrulama ölçütü
GSBL gradiyent testi	Sefotaksim ± klavulanik asit	MİK oranı $\geq 8$ veya elips şeklinde bozulma varsa
	Seftazidim ± klavulanik asit	MİK oranı $\geq 8$ veya elips şeklinde bozulma varsa
Kombinasyon disk testi (KDT)	Sefotaksim (30 µg) ± klavulanik asit (10 µg)	İnhibisyon zonunda $\geq 5$ mm artış
	Seftazidim (30 µg) ± klavulanik asit (10 µg)	İnhibisyon zonunda $\geq 5$ mm artış
Sıvı mikrodilüsyon	Sefotaksim ± klavulanik asit (4 mg/L)	MİK oranı $\geq 8$
	Seftazidim ± klavulanik asit (4 mg/L)	MİK oranı $\geq 8$
	Sefepim ± klavulanik asit (4 mg/L)	MİK oranı $\geq 8$
Çift disk sinerji testi (ÇDST)	Sefotaksim, seftazidim ve sefepim	İndikatör sefalosporin inhibisyon zonunun amoksisilin-klavulanik asit diskine doğru genişlemesi

**Tablo 6.** GSBL tarama testinde pozitif olan Enterobacteriaceae (Tablo 3'e bakınız) için GSBL doğrulama yöntemleri. Grup 2 Enterobacteriaceae (Şekil 2'ye bakınız)

<b>Yöntem</b>	<b>Antibiyotik</b>	<b>GSBL doğrulama kriteri</b>
GSBL gradiyent testi	Sefepim +/- klavulanik asit	MİK oranı $\geq 8$ veya elips şeklinde bozulma varsa
Kombinasyon disk testi (KDT)	Sefepim (30 $\mu$ g) +/- klavulanik asit (10 $\mu$ g)	İnhibisyon zonunda $\geq 5$ mm artış
Sıvı mikrodilüsyon	Sefepim +/-klavulanik asit (4mg/L)	MİK oranı $\geq 8$
Çift disk sinerji testi (ÇDST)	Sefotaksim, seftazidim, sefepim	İndikatör sefalosporin inhibisyon zonu amoksisilin-klavulanik asit diskine doğru genişlemesi

**Sinerjiyi maskeleyen diğer  $\beta$ -laktamazlar varlığında GSBL enzimlerinin fenotipik olarak saptanması:** GSBL varlığını maskeleyen yüksek düzey AmpC üretimi olduğunda belirsiz veya yalancı negatif test sonuçları alınabilir. Yüksek düzey AmpC üreten izolatlar, genellikle 3. kuşak sefalosporinlere dirençlidir. Ayrıca sefamisin direnci (sefoksitin MİK  $>8$  mg/L) de AmpC  $\beta$ -laktamazların yüksek düzey ifadesi için bir göstergedir. Yüksek düzey AmpC varlığında GSBL saptanması için; AmpC tarafından genellikle parçalanmayan sefepimin indikatör sefalosporin olarak kullanıldığı, ek bir doğrulama testi yapılması önerilmektedir. Sefepim, KDT, ÇDST, gradiyent testi ve sıvı dilüsyon testlerinin tümünde kullanılabilir. Diğer yaklaşımlar arasında iyi bir AmpC inhibitörü olan kloksasilin kullanımı yer almaktadır. Bu amaçla, hem kloksasilin, hem de klavulanik asit eklenmiş indikatör sefalosporin (sefotaksim VE seftazidim) diskleri ile KDT uygulanır. GSBL'ler ayrıca MBL veya KPC ve/veya geçirgenlik ile ilgili defektlerin varlığında da maskelenebilir. OXA-48 ise normalde sefalosporinleri etkilemediği için, bu duruma yol açmaz.

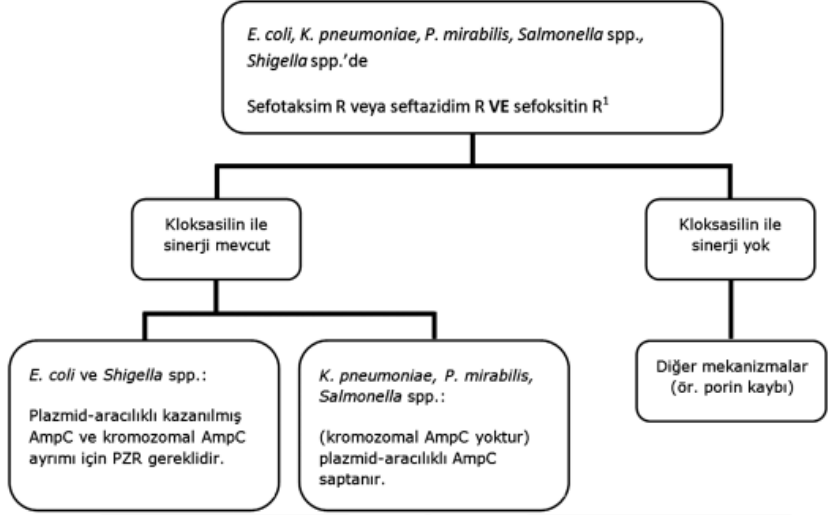
### **3. Kazanılmış AmpC $\beta$ -laktamaz- Üreten Enterobacteriaceae**

**Tanım:** AmpC-tipi sefalosporinazlar, Ambler sınıf C'de yer alan  $\beta$ -laktamazlardır. Penisilinleri, sefalosporinleri ve monobaktamları hidrolize ederler. Bu  $\beta$ -laktamazlar, 3. kuşak sefalosporinleri parçalarken, 4. kuşak sefalosporinleri genellikle etkilemezler. Genel olarak, AmpC-tipi enzimler, klavulanik asit başta olmak üzere, klasik GSBL inhibitörleri ile inhibe olmazlar.

#### **Enterobacteriaceae Türlerinde Kazanılmış AmpC'lerin Saptanması için Önerilen Yöntemler**

Sefoksitin MİK değerinin  $>8$  mg/L olması ve bununla birlikte, seftazidim ve/veya sefotaksim MİK değerinin de  $>1$  mg/L olması, AmpC üretiminin araştırılması için bir fenotipik kriter olarak kullanılabilir. Ancak bu yöntem ile sefoksitini parçalamayan bir plazmid kökenli  $\beta$ -laktamaz olan ACC-1 saptanamaz. Bunun yanı sıra, porin kaybının da sefoksitin direncine yol açabileceği unutulmamalıdır.

Fenotipik AmpC doğrulama testleri, genel olarak AmpC tipi enzimlerin kloksasilin veya boronik asit türevleri ile inhibisyonuna dayanmaktadır. Ancak boronik asit türevleri aynı zamanda sınıf A karbapenemazıları da inhibe etmektedir. Mast AmpC Detection Disc Set (duyarlılık %96-100, özgüllük %98-100) (10,11), AmpC gradiyent strip test (Etest için duyarlılık %84-93, özgüllük %70-100) ve sefotaksim/kloksasilin ile seftazidim/kloksasilin içeren Rosco tabletleri (duyarlılık %96, özgüllük %92) gibi ticari testler de bulunmaktadır.



Şekil 3. AmpC saptanması için akış şeması

<sup>1</sup> Sefoksitin R burada sokak tipi olmayan (MİK >8 mg/L veya zon çapı <19 mm) kökenleri tanımlamaktadır. Sefotaksim ve seftazidime duyarlı olmayan kökenlerin araştırılması daha yüksek duyarlılığı olan bir yaklaşımdır ancak sefoksitin dirençli kökenlere odaklanmaya kıyasla daha düşük özgüllüğe sahiptir. AmpC ayrıca GSBL üreten kökenlerde de bulunabilir (klavulanik asitle sinerji). Bu nedenle GSBL-testinin sonucundan bağımsız olarak test yapılması anlamlı olabilir. Sefoksitini test etmeyen laboratuvarlar için sefepime duyarlı ve sefotaksim ve/veya seftazidime dirençli bir sonuç, düşük özgüllükte olsa da, AmpC'nin diğer bir fenotipik göstergesidir.

#### 4. Metisiline Dirençli *Staphylococcus Aureus* (MRSA)

**Tanım:** Anti-MRSA aktivitesine sahip özel sefalosporinler dışındaki  $\beta$ -laktam ajanların düşük afinite gösterdiği ek bir penisilin-bağlayan proteine (PBP2a veya yeni keşfedilen PBP2c) sahip *S. aureus* izolatları.

*S. aureus*'ta metisilin direncinin saptanması için önerilen yöntemler Metisilin/oksasilin direnci hem fenotipik olarak MİK belirlenmesi, disk difüzyon testi veya PBP2a lateks aglütinasyon testi ile, hem de genotipik olarak PZT ile saptanabilir.

*MİK belirlenmesi veya disk difüzyonla saptama:* Sefoksitin *mecA/mecC* tarafından kodlanan metisilin direncinin çok duyarlı ve özgül bir göstergesidir ve disk difüzyon için tercih edilen seçenektir. Oksasilin disk difüzyon yöntemi artık önerilmemektedir ve yorumlayıcı zon çapları EUCAST sınır değer tablosunda yer almamaktadır.

**Tablo 7.** Oksasilin ve sefoksitin sonuç uyumsuzluğu durumunda yorumlama.

<b>S</b>		<b>Sefoksitin sonucu (MİK veya disk difüzyon)</b>	
		<b>R</b>	
Oksasilin sonucu (MİK)	S	Oksasilin duyarlı olarak raporla	Oksasilin dirençli olarak raporla
	R	Oksasilin dirençli olarak raporla	Oksasilin dirençli olarak raporla

Buyyon mikrodilüsyon: MİK >4 mg/L olan suşlar metisiline dirençli olarak rapor edilmelidir.

Disk difüzyon: Sefoksitin (30 µg) zon çapı <22 mm olan suşlar metisiline dirençli olarak rapor edilmelidir.

## 5. Glikopeptidlere Duyarlı Olmayan *Staphylococcus aureus*

**Tanım:** *S. aureus*'ta vankomisin direnci için EUCAST klinik MİK sınır değeri >2 mg/L'dir. Son yıllarda daha önceden tanımlanan "intermediate" (orta-duyarlı) grup kaldırılarak, vankomisin sınır değerleri düşürülmüştür. Ancak VanA tarafından kodlanan yüksek düzey glikopeptid dirençli *S. aureus* (GRSA) izolatlarında ve VanA dışı kodlanan düşük düzey dirençli izolatlarda görülen direnç mekanizmaları arasında önemli farklar vardır. Bu nedenle glikopeptid "intermediate" *S. aureus* (GISA) ve heterodirençli glikopeptid orta-duyarlı *S. aureus* (hGISA) terimleri VanA dışı kodlanan düşük düzey vankomisin dirençli izolatlar için korunmuştur.

**GRSA:** Glikopeptid dirençli *S. aureus*: Vankomisin MİK >8 mg/L

**GISA:** Glikopeptid "intermediate" *S. aureus*: Vankomisin MİK 4-8 mg/L

**hGISA:** Heterojen glikopeptid "intermediate" *S. aureus*: Vankomisine duyarlı (MİK ≤2 mg/L) ancak popülasyon analizi profili ile çok küçük bir popülasyonda (1/10<sup>6</sup> hücre) vankomisin MİK'i >2 mg/L olan hücrelerin gösterildiği *S. aureus* kökenleri.

### *Glikopeptidlere Duyarlı Olmayan Staphylococcus Aureus'un Saptanması İçin Önerilen Yöntemler*

Disk difüzyon hGISA veya GISA saptanması için kullanılmaz.

**MİK belirlenmesi:** EUCAST (ISO 20776-1) tarafından önerilen buyyon mikrodilüsyon yöntemi altın standarttır, ancak MİKler gradyan şerit yöntemleri, agar dilüsyon veya otomatize sistemlerle de belirlenebilir. Doğrulanmış MİK değeri ≥2 mg/L olan izolatlar bir referans merkeze yollanmalıdır.

**hGISA için özel testler:** hGISA saptanmasının zorluğu bilinmektedir ve bu nedenle saptama, tarama ve doğrulama olarak ikiye ayrılmıştır. Tarama için çeşitli özel yöntemler geliştirilmiştir. Doğrulama ise izolatın farklı vankomisin konsantrasyonu içeren agar plaklarında popülasyon profilinin analizi (PAP-AUC) ile yapılmaktadır. Bu yöntem yeterli deneyim olmadığında teknik olarak zor olup daha çok referans laboratuvarlarda yapılmaktadır.

- Makro gradiyent testi
- Glikopeptid direnci saptanması (GRD) için gradiyent testi
- Teikoplanin tarama agar
- hGISA/GISA için doğrulama testi (PAP-AUC)



## 6. Vankomisine Dirençli *Enterococcus Faecium* ve *Enterococcus Faecalis*

**Tanım:** Vankomisine dirençli (vankomisin MİK >4 mg/L) *Enterococcus faecium* ve *Enterococcus faecalis*.

### E. Faecium ve E. Faecalis'de Glikopeptid Direncinin Saptanması İçin Önerilen Yöntemler

Vankomisine direncin saptanması MİK belirlenmesi, disk difüzyon ve agar sınır değer yöntemleri ile gerçekleştirilebilir. Her üç yöntem için de önemli olan indüklenebilir dirençli izolatların da saptanabilmesi için plakların tam 24 saat inkübe edilmesidir. EUCAST tarafından belirtilen okuma kurallarına titizlikle uyulduğunda 5 µg vankomisin diski ile yapılan disk difüzyon yöntemi iyi performans göstermektedir.

**MİK belirlenmesi:** MİK değerleri agar dilüsyon, buyyon dilüsyon veya gradiyent MİK yöntemleri ile belirlenebilir. Buyyon mikrodilüsyon için EUCAST kuralları, gradiyent testleri için ise üretici firmanın önerileri izlenmelidir.

**Disk difüzyon testi:** Disk difüzyon için EUCAST tarafından belirlenen kurallar titizlikle izlenmelidir. Arkadan gelen ışık yardımıyla belirsiz zon kenarları ve/veya zon içi mikrokoloniler araştırılır. Keskin zon kenarları izolatın duyarlı olduğuna işaret eder ve keskin kenarlı zonu olan ve zon çapı sınır değer üzerinde olan izolatlar vankomisin duyarlı olarak rapor edilebilir. Belirsiz zon kenarları olan veya zon içi mikrokoloniler olan izolatlar dirençli olabilir ve bu izolatlar zon çapları ne olursa olsun, MİK ile doğrulanmadan “duyarlı” olarak rapor edilmemelidir.

**Agar sınır değer testleri:** Agar sınır değer testi 6 mg/L vankomisin içeren beyin kalp infüzyon agar üzerine  $1 \times 10^5$  –  $1 \times 10^6$  kob (0.5 McFarland süspansiyondan 10 µl) aktarılması ile gerçekleştirilir. İndüklenebilir dirençli izolatları saptayabilmek için 24 saat  $35 \pm 1^\circ\text{C}$ 'de normal atmosferde inkübasyon gereklidir. Bir koloniden fazla üreme olması pozitif olarak değerlendirilir. Test ile vanA- ve vanB-pozitif kökenler güvenilir olarak saptanabilir.

## 7. Penisiline Duyarlı Olmayan *Streptococcus pneumoniae*

**Tanım:** β-laktamlara düşük afinitesi olan farklı penisilin bağlayan proteinlerin (PBP) varlığına bağlı olarak penisiline azalmış duyarlılık (sokak tipi kökenlerden daha yüksek MİK değerleri, >0.06 mg/L) gösteren *S. pneumoniae* kökenleri.

### Penisiline duyarlı olmayan *S. pneumoniae*'nin saptanması için önerilen yöntemler

Penisiline duyarlı olmayan *S. pneumoniae* fenotipik olarak MİK veya disk difüzyon yöntemleri ile saptanabilir.

**Disk difüzyon yöntemi:** Penisiline duyarlı olmayan *S. pneumoniae*'nin saptanması için 1 µg oksasilin diski ile yapılan disk difüzyon testi en etkin tarama yöntemidir. Bu yöntem çok duyarlıdır, ancak zon çapı ≤19 mm olan suşların benzilpenisilin duyarlılığı değişkenlik gösterebileceğinden yeterince yüksek özgüllükte değildir. Bu nedenle tarama yöntemi ile duyarlı bulunan tüm izolatların benzilpenisilin MİK değerleri belirlenmelidir. Benzilpenisilin dışındaki β-laktamların duyarlılığını kestirmek için Tablo 8'de verilen oksasilin zon çapları kullanılabilir.

**Tablo 8. S. pneumoniae'de β-laktam direncinin taranması.**

<b>Oksasilin (1 µg) zon çapı (mm)</b>	<b>Antimikrobik madde</b>	<b>İleri test ve/veya yorumlama</b>
≥ 20 mm	Klinik sınır değerleri listelenmiş olan ("Not" uyarısı bulunanlar dahil) tüm β-laktam maddeler	Klinik endikasyona bakmaksızın duyarlı olarak raporla
< 20 mm	Benzilpenisilin (menenjit) ve fenoksimetilpenisilin (tüm endikasyonlar)	Dirençli olarak raporla
	Ampisilin, amoksisilin ve piperasilin (β-laktamaz inhibitörlü veya inhibitörsüz), sefotaksim, seftriakson ve sefepim	Oksasilin zon çapı ≥ 8 mm: Duyarlı olarak raporla Oksasilin zon çapı < 8 mm: Klinik kullanımı düşünülen β-laktam ajanın MİK değerini belirle ancak ampisilin, amoksisilin ve piperasilin (β-laktamaz inhibitörlü veya inhibitörsüz) için duyarlılığı ampisilin MİK değerinden kestir
	Diğer β-laktam maddeler (menenjit dışı enfeksiyonlar için kullanılan benzilpenisilin dahil)	Klinik kullanımı düşünülen maddeyi bir MİK yöntemi ile test et ve sonuçları klinik sınır değerlere göre yorumla

\*Oksasilin 1 µg <20 mm: Her zaman benzilpenisilin MİK değerini belirle, ancak diğer β-laktamların yukarıda önerildiği şekilde raporlanmasını geciktirme.

### Kaynaklar

1. Giske CG, Martinez-Martinez L, Cantón R, et al. EUCAST guidelines for detection of resistance mechanisms and specific resistances of clinical and/or epidemiological importance Version 1.0, 2013. <http://www.eucast.org>.
2. The European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing. Breakpoint tables for interpretation of MICs and zone diameters. Version 4.0, 2014. <http://www.eucast.org>.

# ANTİMİKROBİYAL DUYARLILIK TESTİ SONUÇLARI: EUCAST UZMAN KURALLAR, YORUMLU VE KISITLI BİLDİRİM

Güner SÖYLETİR

*Marmara Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, İstanbul*

**D**oğu Avrupa ülkelerindeki antibiyotik kullanım durumunu irdeleyen ve Mart 2014'te yayımlanan bir çalışma, ülkemizin çalışmaya dahil edilen ülkeler arasında toplam antibiyotik kullanımını açısından maalesef birinci sırada ve günlük tüketimin her bin kişi için 42.3 tanımlanmış günlük doz ('defined daily dose') olduğunu ortaya koymuştur. Doğaldır ki bu aşırı kullanımın sonucu olarak günümüzde hastanede yatan, hatta ayaktan takip edilen hastalarda çoklu dirençli etkenlerle oluşan enfeksiyonlarla karşılaşmak olağan bir duruma dönüşmüştür. Bu tablonun değiştirilmesinde, temel görev başta enfeksiyon hastalıkları uzmanları olmak üzere klinisyenlere düşmekle birlikte, meslektaşlarımızın hasta tedavisinde yararlandıkları antibiyotik duyarlılık test sonuçlarını üreten klinik mikrobiyoloji laboratuvarları tam bu noktada kritik rol oynamaktadır. Çünkü direnci önlemede klinisyenin antibiyotikleri kısıtlı kullanımı kadar mikrobiyoloji uzmanının duyarlılık test sonuçlarını kısıtlı bildirimini de büyük önem taşımaktadır. Diğer bir deyişle antibiyotik kullanımının yönetilmesi ('antimicrobial stewardship'), birincil hedef olan hasta tedavisinde en iyi klinik yanıtın alınmasını sağlarken bu tedaviye bağlı olarak ortaya çıkabilecek yan etkiler ve direnç gelişimi dahil istenmeyen sonuçları en aza indirme ve bütün bunları yaparken sağlık harcamalarının en aza indirme amaçlarına da hizmet etmelidir.

Klinik mikrobiyoloji laboratuvarlarının antimikrobiyal yönetimine anlamlı katkıda bulunabilmesi için öncelikle yapması gereken şey, hasta örneklerinden enfeksiyon etkenini izole edip doğru tanımladıktan sonra standartlara uygun bir antibiyotik duyarlılık test (ADT) sonucu üretebilmesi ve tüm bu işlemleri en kısa sürede yapabilesidir. Klinik mikrobiyoloji uzmanının antimikrobiyal yönetimine katılımı bu aşamadan sonra başlamakta olup sonuç raporunu sadece kısıtlı değil aynı zamanda yorumlayarak bildirmesi ile gerçekleşmektedir. Çünkü kısıtlı bildirim geniş spektrumlu antibiyotiklerin kullanımını en aza indirme amacına hizmet ederken, duyarlılık test sonuçlarını yorumlayarak bildirmek bir yandan gereksiz antibiyotik kullanımının önüne geçecek diğer yandan yanlış antibiyotik kullanımını önleyecektir. Örneğin kateterize bir hastanın idrar örneğinde mikroorganizma 105 kob/ml üretilmiş olsa da, hatta idrarda anlamlı lökositüri olsa da bu her zaman enfeksiyonu işaret etmeyebilir. Böyle bir durumda laboratuvarın yapması gereken izole edilen mikroorganizma için antibiyotik duyarlılık testi yapmak ancak sonuçları bildirmeden önce hastada idrar yolu enfeksiyonu kliniği veya sistemik bir belirti olduğundan emin olmaktır, çünkü kateterize hastalar sıklıkla kolonize olabilmektedir. Böyle bir hastada ADT sonuçlarını laboratuvarında saklı tutmak gereksiz antibiyotik kullanımını önleyecektir.

Mikrobiyoloji uzmanının doğal direnç, kazanılmış direnç mekanizmaları ve bu mekanizmaların etkileyebileceği diğer antibiyotikler hakkında yorum yapması klinisyeni yanlış antibiyotik kullanmaktan alıkoyacaktır. Bu duruma tipik bir örnek vermek gerekirse stafilokok ve streptokok kökenleri ADT’de eritromisine dirençli, klindamisine duyarlı saptandıklarında indüklenbilir MLSB direnci açısından incelenmeli ve böyle bir sonuç alındığında bu kökenlere bağlı enfeksiyonların tedavisinde klindamisin kullanımından kaçınılması gerektiği klinisyene bildirilmelidir. Bu yapılmaksızın in vitro saptanan klindamisin duyarlılığının bildirilmesi klinisyeni yanlış antibiyotik kullanmaya yönlendirecektir.

Mikroorganizmaların doğal olarak dirençli oldukları antibiyotiklerin listesi, kazanılmış direnç mekanizmalarına ilişkin yorumlama kuralları gerek CLSI gerekse EUCAST standartlarında tüm boyutları ile alınmaktadır. EUCAST standartlarının uygulamaya geçilmesi kararı alınmış olan ülkemizde bu standartların Türkçe tercümesi yapılmış olup mikrobiyoloji laboratuvarlarının kullanımına sunulmuştur.

Temel hedefi geniş spektrumlu antibiyotiklerin kullanımını en aza indirmek olan kısıtlı ADT bildiriminde bu hedefe ulaşmak için izlenmesi gereken yol test edilen ve duyarlı bulunan antibiyotiklerden; i) en dar spektrumlu, ii) en az toksik, iii) en ucuz olan antibiyotikleri bildirmek diğerlerini saklı tutmaktır.

Bu konuda uzmanların doğrudan kullanabileceği bir standart ya da rehber mevcut olmamakla birlikte CLSI, örneğin enterik bakteriler için test edilen en az 16 antibiyotiği gruplandırarak birincil seçenek antibiyotiklerin mutlaka bildirilmesini ikincil seçenek antibiyotiklerin ise kısıtlamaya tabi tutulmasını ve belirli koşullarda bildirilmesini önermek suretiyle uzmana bir anlamda yol gösterebilmektedir.

Ancak ülkemizin önümüzdeki süreçte takip edeceği EUCAST standartları benzer bir gruplandırma sunmamakta ve kısıtlı bildirim kurallarını her ülkenin/hastanenin kendi inisiyatifine bırakmaktadır.

Bu çerçevede ülkemiz için geliştireceğimiz kısıtlı bildirim standardı için aşağıdaki ilkeleri gözetmek yerinde olacaktır:

1. Test edilen antibiyotiklerden yukarıda belirtilen niteliklere (dar spektrum, az toksik vb.) sahip antibiyotikleri birincil seçenek olarak belirlenenleri bildirirken bu antibiyotiklerin farklı sınıfları (beta laktam, aminoglikozid vb.) temsil etmelerine özen göstermek
  2. Test edilen antibiyotiklerden dirençli olanların tümünü bildirmek
  3. Test edilen antibiyotiklerden duyarlı olsalar dahi enfeksiyon yeri itibarıyla uygun olmayanlara raporda yer vermemek (örn. pnömoni etkeni için daptomisin sonucu)
  4. Birincil seçenek olarak belirlenenler dışındaki antibiyotikleri bildirmek için;
    - a. Birincil seçenek ilaçlara direnç olması
    - b. Hasta, duyarlı sonuca rağmen birincil seçenek ilaçlara yanıt vermiyorsa ya da herhangi bir yan etki gelişmişse
    - c. Etken özellikli bir vücut bölgesinden izole edilmişse (örn. beyin omurilik sıvısından izole edilen H. influenzae için 3.kuşak sefalosporin bildirimi)
    - d. Polimikrobiyal enfeksiyon varsa
    - e. Birden fazla odakta enfeksiyon varsa
- koşullarına dikkat etmek

5. Bu kuralları uygularken poliklinik hastaları gibi hayatı tehdit edici enfeksiyonu olmayanlarda bu inisiyatif laboratuvar uzmanı sıfatıyla kullanmak ancak ciddi enfeksiyonlarda (örn. yoğun bakım hastaları, bakteremi vb.) başta enfeksiyon hastalıkları olmak üzere ilgili kliniklerle görüş alışverişinde bulunmak.

6. Hastanelerde primer görevi enfeksiyonların olabildiğince önlenmesi ya da kontrol altına alınması olan Enfeksiyon Kontrol Komitelerine kısıtlı bildirim olmaksızın ADT sonuçlarını bildirmek

Sonuç olarak antibiyotik direncinin korkutucu boyutlara ulaştığı ülkemizde özellikle geniş spektrumlu antibiyotiklerin gereksiz kullanımının azaltılmasına katkıda bulunmak üzere tüm mikrobiyoloji laboratuvarlarının bu ilkeler doğrultusunda hazırlanacak bir kısıtlı bildirim rehberine gereksinimi vardır, ülkemizde EUCAST standartlarına geçiş sürecine paralel olarak böyle bir rehber en kısa sürede hazırlanmalıdır.

### **Kaynaklar**

1. Versporten A, Bolokhovets G, Ghazaryan L et al. Antibiotic use in eastern Europe: a cross-national database study in coordination with the WHO Regional Office for Europe. *Lancet Infect Dis* 20 March 2014 doi:10.1016/S1473-3099(14)70071-4.
2. Leclercq R, Cantón R, Brown DF, et al. EUCAST expert rules in antimicrobial susceptibility testing. *Clin Microbiol Infect* 2013; 19: 141–160.
3. CLSI. Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing; Twenty-Third Informational Supplement M100-S23 January 2013.

# ULUSAL VE ULUSLARARASI ANTİMİKROBİYAL DİRENÇ SÜRVEYANS ÇALIŞMALARI

**Hüsniye ŞİMŞEK**

*T.C. Sağlık Bakanlığı Türkiye Halk Sağlığı Kurumu,  
Mikrobiyoloji Referans Laboratuvarları Daire Başkanlığı,  
Ulusal Antimikrobiyal Direnç Sürveyans Birimi*

**T**üm dünyada olduğu gibi ülkemizde de antibiyotiklere direnç gelişimi son zamanlarda giderek artmış ve önemli bir sorun haline almıştır. Artık günümüzde hastanelerde tüm antibiyotiklere dirençli mikroorganizmalar izole edilmekte ve hastalar bu nedenle yaşamlarını kaybedebilmektedir. Antimikrobiyal direncin kontrolü için en önemli basamaklardan birisi antimikrobiyal direnç sürveyans çalışmaları yürütülmesidir. Sürveyans, belirli bakterilerde, çeşitli antibiyotiklere dirence ilişkin verilerin toplanması, analiz edilmesi ve sonuçların paylaşılmasıdır.

**Antimikrobiyal direnç sürveyansının amaçları,** Ülkemizdeki antimikrobiyal direnç sorunu boyutlarını izleyebilmek, Ülkemize özgü direnç profillerini belirlemek ve böylece tedavi ve profilakside antibiyotik kullanım politikalarının oluşturulmasına yön verebilmek, hastane enfeksiyon kontrol çalışmalarını yönlendirmek ve Uluslar arası network ağlarına katılım ile karşılıklı bilgi paylaşımının sağlanmasıdır.

## Ülkemizde Bu Konuda Yürütülen Çalışmalar

**HİTİT-1 Çalışması:** Türkiye’de altı merkezin katılımı ile Haziran 2004-Ocak 2005 tarihleri arasında yapılan çok merkezli, Gram negatif hastane izolatlarında antibiyotik direnç sürveyans çalışması

**HİTİT-2 Çalışması:** Türkiye’de 13 merkezin katılımı ile 2007 yılında yapılan çok merkezli, Gram negatif hastane izolatlarında geniş kapsamlı bir antibiyotik direnç sürveyans çalışması

**ARMed Projesi (Antibiotic Resistance Surveillance & Control in the Mediterranean Region):** 2003-2008 yılları arasında, ülkemizden 16 Üniversite hastanesinin katılımıyla gerçekleştirilmiş olan proje European Antimicrobial Resistance Surveillance System (EARSS-NET) ile bağlantılı olup, EARSS-NET direnç haritalarında ülkemiz verilerinin yer almasını sağlamıştır. Ancak 2009 yılından itibaren Avrupa Birliği üyesi olmayan ülkelerin verileri dahil edilmemektedir.

## Ulusal Antimikrobiyal Direnç Sürveyans Sistemi (UAMDSS)

30.05.2007 tarih ve 26537 sayılı RG’de “Bulaşıcı Hastalıklar Sürveyans ve Kontrol Esasları Yönetmeliği- Özel sağlık sorunları Madde 13 -(1) Bakanlık bulaşıcı hastalıkların kontrolü

kapsamında nozokomiyal enfeksiyonlar ve antimikrobiyal direnç gibi özel sağlık sorunlarına özgü epidemiyolojik sürveyans ve bildirim sistemi oluşturur” maddesine dayanarak ve Sağlık Bakanlığı Ulusal Stratejik Plan (2008-2013)’da, Hedef 6.4 “Antimikrobiyal direnç sürveyansı için bir sistem kurulmuş ve ülke genelinde 2013 yılı sonuna kadar yürütülmeye başlanmış olması” hedefine dayanılarak, 18 Aralık 2009 tarihinde S.B. Refik Saydam Hıfzıssıhha Merkezi Başkanlığı koordinasyonunda “Ulusal Antimikrobiyal Direnç Sürveyansı Bilimsel Komisyonu” kurularak ilk çalışmalar başlatılmıştır. (Şu anda S.B. Türkiye Halk Sağlığı Kurumu (THSK) koordinasyonunda yürütülmektedir)

Bilimsel komisyon tarafından Ülke çapında değişik bölgelerden, üniversite, eğitim araştırma ve devlet hastanelerini içerecek şekilde 77 katılımcı laboratuvar (35 *Üniversite Hastanesi*, 19 *Eğitim ve Araştırma Hastanesi*, 23 *Devlet Hastanesi*) saptanarak sisteme dahil edilmiştir.



Şekil.1 UAMDS Katılımcı Lab. Dağılımı

Sürveyans kapsamına alınacak klinik örnekler, etkenler, antibiyotikler, laboratuvar yöntemleri, dış kalite değerlendirme prosedürleri belirlenmiş ve bunların uluslararası antimikrobiyal direnç sürveyans ağları ile uyumlu olmasına dikkat edilmiştir.

Sürveyans kapsamındaki klinik örnekler kan ve BOS, etkenler ise *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Streptococcus pneumoniae*, *Staphylococcus aureus*, *Enterococcus faecium* ve *Enterococcus faecalis* tir.

Veriler 2011 yılından itibaren toplanmakta olup, veri analizi için Dünya Sağlık Örgütü (DSÖ)’nün WHONET yazılım programı kullanılmaktadır.

## UAMDSS Dış Kalite Değerlendirme (DKD) Çalışmaları

Katılımcı laboratuvarların UAMDSS'ne gönderdikleri verilerin doğruluğunun artırılması, laboratuvarların bakteri tanımlama, antibiyotik duyarlılık testleri ve olası direnç mekanizmalarını çıkarsamalarına ilişkin yetkinliklerinin değerlendirilmesi, eğitim ve altyapı gereksinimlerinin anlaşılması amaçlarıyla 2011 yılından itibaren katılımcı laboratuvarlara yönelik dış kalite değerlendirme çalışmaları yürütülmektedir. Çalışmalar, UAMDS bilimsel komisyonu bünyesindeki DKD alt komisyonu tarafından hazırlanmış olan DKD standart uygulama prosedürüne göre uygulanmaktadır. 2011, 2012 ve 2013 yıllarında birer çevrim DKD çalışması gerçekleştirilmiş olup 2014 yılından itibaren yılda iki çevrim olması planlanmaktadır.

UAMDSS, Kasım 2013 tarihinden itibaren Dünya Sağlık Örgütü (DSÖ)-Avrupa Ofisi tarafından yürütülen **Central Asian and Eastern European Surveillance of Antimicrobial Resistance- CAESAR** (Orta Asya ve Doğu Avrupa Antimikrobiyal Direnç Sürveyansı) Ağı'na dahil olmuştur. Avrupa Hastalıkları Önleme ve Kontrol Merkezi (ECDC) tarafından koordine edilen "European Antimicrobial Resistance Surveillance System-EARSS-NET" sadece Avrupa Birliği (AB)'ne üye olan devletlerin verilerini toplamakta olup, DSÖ bu proje ile AB'nin EARS-NET üyesi olmayan DSÖ üye devletlerinin antimikrobiyal direnç verilerini toplayarak sisteme dahil etmeyi ve antimikrobiyal direnç konusunda global bir yaklaşımı planlamaktadır. CAESAR ağı; DSÖ Avrupa Bölge Ofisi, Avrupa Klinik Mikrobiyoloji ve Bulaşıcı Hastalıklar Derneği (ESCMID) ve Hollanda Ulusal Halk Sağlığı ve Çevre Kurumu'nun (RIVM) ortak girişimi olup, Avrupa Hastalık Önleme ve Kontrol Merkezi (ECDC) ile yakın işbirliği içerisinde çalışmaktadır.

CAESAR'ın hedefi, Ulusal ağları birbirine bağlayan kapsamlı bir Uluslararası sürveyans sistemi geliştirmek ve bir grup önemli invaziv bakteride antimikrobiyal direnç prevalansı ve eğilimlerin kıyaslanması ve verilerin geçerliliğinin (validasyon) sağlanmasıdır. Aynı zamanda üye ülkelerde Ulusal AMD sürveyans programlarının uygulanması, sürdürülmesi ve iyileştirilmesinin teşvik edilmesini hedeflemektedir.

Metodolojisi EARS-NET ile uyumlu olup, veriler EARS-Net ile karşılaştırmaya tamamen uygundur. Sürveyansı yapılan patojenler; *S. aureus* (MRSA), *S. pneumoniae* (Pen R), *E. coli* (GSBL, Karbapenemazlar), *K. pneumoniae* (GSBL, Karbapenemazlar), *E. faecium* ve *faecalis* (VRE), *P. aeruginosa* (Çoklu dirençli) ve *Acinetobacter* spp. dir.

UAMDS katılımcı laboratuvarları, Kasım 2013'te CAESAR ağı kapsamında, Avrupa Hastalık Önleme ve Kontrol Merkezi (ECDC) ve İngiltere Ulusal Dış Kalite Değerlendirme Hizmetleri (UK-NEQAS) ortak girişimi olarak EARS-NET ile eşzamanlı Dış Kalite Değerlendirme çalışmasına katılmışlardır.

Şu anda CAESAR'a üye ülkeler: Ermenistan, Azerbaycan, Belarus, Bosna Hersek, Gürcistan, Karadağ, Kırgızistan, Rusya Federasyonu, Sırbistan, İsviçre, Makedonya Eski Yugoslavya Cumhuriyeti, Türkiye ve Kosova'dır.



## Kaynaklar

1. Gür D, Gülay Z, Akan Ö A ve ark. Türkiye’de Hastane İzolatı Gram-Negatif Bakterilerde Yeni Beta-Laktam Antibiyotiklere Direnç ve GSBL Tipleri: Çok Merkezli Hitit Sürveyansının Sonuçları, Mikrobiyoloji Bült 2008;42:537-547
2. Gur D, Hascelik G, Aydın N et al, Antimicrobial resistance in gram-negative hospital isolates: results of the Turkish HITIT-2 Surveillance Study of 2007, J Chemother 2009 Aug;21(4):383-9.
3. <http://uamdss.thsk.gov.tr>
4. <http://www.euro.who.int/en/health-topics/disease-prevention/antimicrobial-resistance/antimicrobial-resistance/central-asian-and-eastern-european-surveillance-on-antimicrobial-resistance-caesar>
5. “Ulusal Antimikrobiyal Direnç Sürveys Sistemi Laboratuvar Testleri, Kalite Kontrolü ve Kalite Güvencesi Standart Uygulama Prosedürleri ve WHONET Yazılım Programı” Kitabı, ISBN: 978-975-590-347-7, Şubat 2011

# SÜRVEYANS VERİLERİNİN MİKROBİYOLOJİ LABORATUVAR UYGULAMALARINDAKİ ETKİSİ

Nilay ÇÖPLÜ

T.C. Sağlık Bakanlığı Dışkapı Yıldırım Beyazıt Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Ankara

**S**ürveyans sağlık verilerinin sürekli ve sistematik bir şekilde toplanması, analizi ve değerlendirilmesidir. Halk sağlığı uygulamalarının planlanmasında, uygulanmasında ve değerlendirilmesinde gereklidir. Bunun için bu veriler zamanında ilgililere ulaştırılmalıdır. Ulusal antimikrobiyal direnç surveyans sistemi (UAMDSS) bu alanda veri toplamaktadır. Antimikrobiyal direnç verileri gereklidir çünkü direnç olduğunda hasta açısından **i.** uygun tedavi gecikir, **ii.** çoğu kez daha pahalı ve daha çok yan etkileri olan ilaçlar kullanılır, **iii.** hastanede yatış süresi uzayabilir ve buna bağlı olarak tanı ve tedavi giderleri artabilirken hastanın bulaştırıcı olduğu dönem de uzar. Toplum açısından ise dirençli kökenler yayılıp enfeksiyon yapar, ek olarak dirençten sorumlu genetik yapıların diğer bakterilere geçmesi de söz konusu olup, gelecekte de direnç sorununun artmasına yol açabilir. Antimikrobiyal ilaç gruplarının sayıca kısıtlı olduğu da göz önünde tutulunca tedavide kullanılacak seçenekler azalmakta ve bu durum önemli bir tehdit oluşturmaktadır. Antimikrobiyal direnç gelişimi, bu ilaçlar kullanıldığı sürece engellenemez, ancak akılcı antimikrobiyal kullanımı politikalarının uygulanması yoluyla azaltılabilir. Bu amaçla atılacak adımlardan biri de mevcut durum analizidir. Antimikrobiyal direnç sıklığı, tanımlanmış günlük doz (DDD) esasına göre toplanmış antimikrobiyal kullanım sıklığı ve bunun ne kadarının akılcı olduğu verileri mevcut durum analizinde en önemli adımları oluşturmaktadır. Ülkemizde kurulmuş olan UAMDSS antimikrobiyal direnç sorununun boyutlarını ortaya koyabilmek ve takip edebilmek amaçlarını taşımaktadır. Elde edilen bu sonuçların kullanım alanlarından bazıları şöyledir: **i.** direnci düşürmek için ulusal antimikrobiyal kullanım rehberlerinin yazılması, antimikrobiyal kullanım politikalarının geliştirilmesi gibi önlemlere ışık tutması, **ii.** alınan önlemlerin uzun vadede veriminin ölçülmesi ve **iii.** bilimsel çalışmalara yol göstermesi gibi faydalar beklenmektedir.

Sürveyans verilerini kullanacak gruplardan biri mikrobiyoloji uzmanları olup gerek laboratuvar da gerek laboratuvar dışı görevlerinde bu verilerden yararlanabilirler. Laboratuvar da antibiyotik duyarlılık testlerinin yorumlu ve kısıtlı raporlandırması ve bazı özel hallerde kalite kontrol önlemlerinin alınması aşamalarında veriler faydalı olacaktır. Bilimsel çalışma yaparken de bu verilere göre ihtiyaçları saptayabilirler. Laboratuvar dışı görevler arasında klinisyenlere akılcı antimikrobiyal kullanımı konusunda yol gösterme, vaka özelinde konsültasyon, hastane düzeyinde antibiyotik kullanım politikalarının geliştirilmesi ve antibiyotik kontrol komitesi üyesi olarak üzerine düşen görevlerin gerçekleştirilmesi sayılabilir. Ek olarak surveyans sistemi

sadece veri sağlamla kalınmış, kurulması aşamasında da katılımcı laboratuvarların uygulamalarına katkıları olmuştur.

Sürveyans verilerinin mikrobiyoloji laboratuvar uygulamalarındaki etkilerine bakacak olursak, bilindiği gibi antibiyotik duyarlılık testleri CLSI/EUCAST standartlarına göre yapılmaktadır ve sonuçların raporlandırılması da aynı ilkelerle kısıtlı olarak yapılmaktadır. Bu aşamada CLSI/EUCAST önerilerine ek olarak ülkedeki direnç oranlarının bilinmesi ve ona göre kısıtlama yapılması faydalı olacaktır. Bunu bir örnekle açıklamak gerekirse *S.pneumoniae* için CLSI önerilerine göre Grup A'da penisilin, eritromisin, TMP/SXT; Grup B'de Sefepim, sefotaksim, seftriakson, klindamisin, doksisisiklin, gemifloksasin, levofloksasin, moksifloksasin, ofloksasin, meropenem, telitromisin, tetrasiklin, vankomisin bulunmaktadır. UAMDSS 2012: *S.pneumoniae* izolatlarında (n=116) antibiyotik duyarlılık yüzdelere bakacak olursak menenjit dışı örnekler için penisilin G, seftriakson ve sefotaksim R+I yüzdeleri sırasıyla %5,1; %10,6 ve %9,4 şeklindedir. Menenjit durumunda ise ilacın kan beyin bariyerinden geçişi kısıtlı olduğu için farklı sınır değer uygulamaları sonucunda direnç yüzdeleri değişmektedir. Bu durumda aynı antimikrobialerde direnç yüzdeleri sırasıyla %42,3; %27,3 ve %24,5 olarak bulunmuştur. Ek olarak levofloksasin ve eritromisin için R+I yüzdeleri sırasıyla %6,1 ve %30,3 bulunmuştur. Bu verilerin ışığında BOS dışında bir klinik numune geldiğinde yapılan Gram boyamada Gram pozitif diplokokların görülmesi halinde, ampirik tedavide penisilin, hastaya ait bir handicap olmadığı sürece, hem CLSI'ya göre A grubunda olması hem de UAMDSS verilerine göre direnç %5,1 olması nedeniyle, önerilebilir. Ancak örnek BOS ise %42,3 direnç olması nedeniyle penisilin önerilmez. UAMDSS verilerinin bir diğer uygulama alanı şöyledir; CLSI'ya göre bir mikrobiyolog, kendi yöresinde ülke çapında görülen direnç paterninden farklı bir direnç çıkması halinde i.izolatın tanımlanmasını ve antibiyotik duyarlılık testlerini tekrarlamalıdır, ii.gerekirse izolatu referans laboratuvara gönderilerek tanımlama ve duyarlılık sonuçlarının doğrulanmasını sağlamalıdır ve iii.yine gerekirse kalite kontrol çalışmalarını tekrarlamalıdır. Bu durumda ülke verilerinin bilinmesine gereksinim vardır. Bunu da bir örnekle açıklamak gerekirse CLSI M100S24 Ek A'da *S.pneumoniae* için florokinolon orta dirençli ya da dirençli ise kategori II'ye girmektedir. Kategori II pek çok kurumda sık olmayan durum anlamına gelmekte ve "eğer sizin kurumunuzda nadirse tanı ve duyarlılık testini tekrarlayın, enfeksiyon kontrol ekibi ile ne yapmak gerektiğini tartışın (özel raporlama gibi) ve gerekirse yerel halk sağlığı birimleri ile ne zaman kendilerine veya referans lab.a gönderilmeli hususunu tartışın" şeklinde önerilmektedir. Böyle bir durumda UAMDSS verilerine göre levofloksasin direnci %6,1 olduğu için, laboratuvarıda dirençli suş bulunması halinde CLSI önerilerine uyulması ülkemiz için yerinde olacaktır. Aynı şekilde amoksisilin/penisilin menenjit dışı sınır değerlere göre dirençli ise kategori III'e girmektedir. Bu durum "sık olabilir ama epidemiyolojik önemi var" anlamına gelmektedir ve "eğer sizin kurumunuzda nadirse tanı ve duyarlılık testini tekrarlayın, enfeksiyon kontrol ekibi ile ne yapmak gerektiğini tartışın (özel raporlama gibi)" şeklinde önerilmektedir ve ülkemiz için de bu öneriler geçerli bulunmuştur. Bilimsel çalışma alanında da örneğin dirençten sorumlu genlerin araştırılması istendiğinde direnç yüzdeleri mikrobiyoloji uzmanına odaklanması gereken öncelikli konular hakkında uyarıcı veriler sunmaktadır.

Laboratuvar dışı görevlere bakılacak olursa, mikrobiyologlar, hastane enfeksiyon kontrol komitesi bünyesinde kurulmuş olan antibiyotik kontrol komitesinde yer almaktadır ve antibiyotik

kullanım politikaları geliştirmekten sorumludur. Bu politikaları geliştirirken UAMDSS verileri ile beraber yerel verilere de ihtiyaç duyulmaktadır. Antibiyotik kontrol komitesinin görev tanımına göz atacak olursak: **i.** kısıtlı antibiyotik duyarlılık testi raporlama sistemini uygulayarak antibiyotiklerin doğru kullanımını sağlamak, gereksiz ve öncelikli olmayan antibiyotiklerin kullanımını önlemek; **ii.** laboratuvara dayalı antimikrobiyal direnç oranlarının ve hastanede kullanılmakta olan antimikrobiyallerin takibini yaparak düzenli aralıklarla rapor hazırlamak ve hastanede çalışan tüm hekimleri ve eczacıları bilgilendirmek, **iii.** bu rapora, ulusal antimikrobiyal kullanım rehberlerine, ve bilimsel gelişmelere dayanarak, gerektiğinde ilgili klinik dalın uzmanlarıyla da bir araya gelerek hastanede antibiyotik kullanım kurallarını belirlemek (ampirik antimikrobiyal kullanım, profilaksi gibi), **iv.** belirlenen antimikrobiyal kullanım kurallarını hastanede çalışan hekimleri bilgilendirmek amacıyla ufak rehber, el kitabı, broşür vb. yayınlar hazırlamak ve eğitim toplantıları düzenlemek, **v.** antimikrobiyal kullanım kurallarına uyulması hususunda kontrol ve denetim önerilerinde bulunmak, aksayan yanların düzeltilebilmesi için kalite, performans göstergeleri vb. yaptırımların uygulanmasına önayak olmak, **vi.** hastane eczanesine alınacak olan antimikrobiyalleri belirlerken yine hazırlanmış olan raporlardan yararlanmak, **vii.** hastanede kullanılan antimikrobiyallerin tanımlanmış günlük dozunu (TGD) hesaplamak, hatalı kullanım gözleendiğinde bilimsel verilerle uyumlu olacak şekilde yol gösterici doküman hazırlamak. Bu görevlerde mikrobiyoloji uzmanı ekiple beraber çalışmalıdır. Bu görevleri yerine getirirken UAMDSS verilerini bu amaçlarla kullanmalı, yapabiliyorsa hastaneye ait verileri de eklemelidir. Dördüncü maddede belirtilen eğitim görevini biraz açmak gerekirse, akılcı antimikrobiyal kullanımı konusunda verilecek olan eğitimde, antimikrobiyal kullanımı genel kuralları için CLSI/EUCAST standartları anlatılmalıdır. Bu aşamada, UAMDSS ülke verilerinin eklenmesi kanıta dayalı tıp uygulamaları açısından katkıda bulunacaktır ve klinisyen için yararlı ve anlamlı olacaktır. Mikrobiyolog, genelde ampirik tedavi için surveyans verileri ve mümkünse bölgesel direnç oranlarını da dokümanla ederek öneri getirmeli, özelden ise hastaya özgü mikrobiyoloji konsultasyonu vermelidir. Bu etkinlikler sırasında enfeksiyon hastalıkları ve klinik mikrobiyoloji uzmanı ile işbirliği kurmak gereklidir.

Öte yandan surveyans yalnızca veri sağlamakla kalmamış, kurulması aşamasında da mikrobiyoloji laboratuvar uygulamalarına faydaları olmuştur. Bunlar arasında antibiyotik duyarlılık testlerinin uygulamalı kursu ve bu kurs sırasında CLSI standartlarının Türkçe basımının dağıtılması sayılabilir. Bu eğitimlerde özellikle kısıtlı raporlandırma konusu vurgulanmıştır. Bir diğer fayda kalite çalışmalarında olmuştur. Dış kalite güvencesi kapsamında yeterlilik testi ve yerinde gözlem çalışması yapılmış, ek olarak iç kalite kontrol çalışmaları için de yol gösterici dokümanlar dağıtılmıştır. Bu sayede katılımcı laboratuvarlar performans vb. uygulamalarda da fayda görmüşlerdir. Bir yazılım programı olan WHONET'in uygulamalı eğitimi verilmiş ve Türkçe dokümanları dağıtılmıştır. Bu sayede kendi laboratuvarlarında da bu programla analiz yapma imkanı doğmuştur. Katılımcılar kendi hastanelerine ait direnç surveyansı yapmak yoluyla UAMDSS kapsamındaki etken/ antibiyotiklerin kendi hastane/bölgelerindeki durumunu irdeleyebilirler. Benzer şekilde UAMDSS kapsamında olmayan ör. idrar yolu enfeksiyonlarında kendi bölge/ hastanelerinde direnç sıklığı gibi parametreleri irdeleyebilirler. Bu direnç oranlarına dayanarak antibiyotik kullanım politikaları geliştirebilirler. Buna bir örnek vermek gerekirse: kinolonlara direncin artmakta olduğunu, aminoglikozitlere ise direnç yüzdelерinin daha düşük

seyretmekte olduğunu gözlemesi halinde klinisyenlere ampirik tedavide bir süre aminoglikozidlere öncelik verilmesi ve antibiyogramda her ikisine de duyarlı bulunması halinde, hastanın kliniği uygunsa, aminoglikozidler ile tedaviye devam edilmesi yönünde önerilerde bulunabilir. Kendi analizlerini yapamaması halinde ise UAMDSS'nin kan ve BOS izolatlarından elde etmiş olduğu direnç oranlarını indikatör veri olarak kabul edip benzer politikalar üretmesi mümkündür. Nitekim UAMDSS 2012 verilerine göre *E.coli* suşlarının siprofloksasin R+I yüzdesi %46,5 iken, gentamisin direnci %28,0 bulunmuştur. WHONET yazılım programı ile yapılabilecek diğer çalışmalar arasında iç kalite kontrolü de gelmektedir. Standart suşlarla yapılan iç kalite kontrol testlerinin sonuçları programa girildiğinde beklenenden sapmalar görülebilmekte ve verilerin zaman içerisinde dökümantasyonu yapılabilmektedir. Ek olarak günlük rutin çalışmalarda gözden kaçabilen teknik hatalar yakalanabilmektedir, ör. ampisilin sulbaktam dirençli bulunan bir suş ampisilin duyarlı bulunmuşsa sistem kırmızıya boyayarak uyarıda bulunmaktadır. Hatta hastane epidemileri için de erken uyarı verebilmektedir.

### **Kaynaklar**

1. Clinical and Laboratory Standards Institute January 2014, M100S24 Performance standards for antimicrobial susceptibility testing; twenty-fourth informational supplement.
2. [www.eucast.org/](http://www.eucast.org/)
3. [www.whonet.org](http://www.whonet.org)
4. R. Canto'n. Role of the microbiology laboratory in infectious disease surveillance, alert and response. Clinical Microbiology and Infection, Volume 11 Supplement 1, 2005
5. [www.cdc.org/](http://www.cdc.org/)

# SÜRVEYANS VERİLERİNİN KLİNİSYENİN TEDAVİ YAKLAŞIMINA ETKİSİ

Oral ÖNCÜL

*GATA Haydarpaşa Enfeksiyon Hastalıkları Anabilim Dalı, İstanbul*

**S**ürveyans, belirli bir amacı gerçekleştirmek amacıyla veri toplanması, toplanan verilerin bir araya getirilerek değerlendirilmesi, yorumlanması ve elde edilen sonuçlar doğrultusunda amaca yönelik yöntemlerin belirlenmesi ve bunların ilgililere bildirilmesinden oluşan dinamik bir süreçtir (1). Hastane enfeksiyonlarının tanımlanması, sorunun boyutlarının ortaya çıkarılması, alınacak önlemlerin belirlenmesi ve bunların uygulamaya konması için sürveyans temel yaklaşım sistemini oluşturur. Sürveyans çalışmaları, hastane enfeksiyon kontrol programlarının temel yaklaşım sistemidir. Sürveyans kapsamında toplanan verilerle o hastane ve birimlerinde görülen hastane enfeksiyonu hızları, tedavi, hasta yatış süresi, maliyet ve mortalite üzerine etkileri dinamik bir süreç içinde izlenmiş olur. Sürveyans aynı zamanda belirli bir zaman dilimi içinde o merkezde meydana gelen değişikliklerin boyutlarını göstereceğinden, uygulanan enfeksiyon kontrol politikalarının etkinliğini ve yeni uygulamalara gereksinimi de ortaya koyar. Hastane genelinde uygulanan etkin sürveyans sistemi, mortalite ve morbiditesi son derece yüksek sonuçlara neden olabilecek ciddi hastane enfeksiyon salgınlarının erken dönemde saptanması ve alınacak önlemlerle kısa sürede bu salgınların kontrol altına alınmasına neden olur. Bütün bu nedenler sürveyansın hastane genelinde kesintisiz olarak uygulanmasını zorunlu kılmaktadır.

Dünya Sağlık Örgütü tarafından sürveyans tanımı “Sağlık hizmetlerinde planlama yapabilmek, müdahalede bulunabilmek ve bu hizmetleri değerlendirebilmek amacıyla sağlıkla ilgili verilerin süregelen, sistematik olarak toplanıp değerlendirilmesi, analiz edilmesi, yorumlanması ve ilgili birimlerle paylaşılması” olarak yapılmıştır. Sürveyans enfeksiyon kontrol programlarının son derece önemli ve vazgeçilmez bir unsuru olarak Kabul edilmektedir (1). CDC tarafından 1974 yılında başlatılan ve bu alanda yapılmış en geniş kapsamlı çalışma olan “Study on the Efficacy of Nosocomial Infection Control (SENIC)” projesi ile, etkin enfeksiyon kontrol programları yürütülen hastanelerde hastane enfeksiyonu hızlarında (cerrahi alan enfeksiyonu, pnömoni, üriner sistem enfeksiyonu ve bakteremi) önemli oranda azalma sağlandığı bildirilmiştir. CDC hastane ortamında enfeksiyon kontrolünün sağlanması ve bunların olumlu sonuçları açısından sürveyansın son derece önemli bir yer tuttuğunu belirtmiştir (2).

Sürveyans hastane genelinde şu amaçlarla yapılır (3);

1. Hastanenin bazal enfeksiyon hızını belirlemek, bunlarla ilgili kapsamlı verileri ortaya koymak (enfeksiyon türü, etkenler, antibiyotik duyarlılık paterni vb)

2. Oluşan hastane enfeksiyonlarının yer, zaman ve hasta popülasyonu ile ilişkisini ve değişimini belirlemek,
3. Uygulanan enfeksiyon kontrol politikalarını ve bunların etkinliğini değerlendirmek,
4. Salgınları önceden belirlemek bunlarla ilgili detaylı verileri elde etmek,
5. Hipotez geliştirmek ve çözüm önerileri oluşturmak,
6. Mevcut enfeksiyon kontrol önleme politikalarını gözden geçirmek ve güncellemek,
7. Gelecekte sağlık ihtiyaçları ve eğilimleri belirlemek, yeni politikalar ve hedefler oluşturmak.

Hastane enfeksiyon sürveyansı salgın dışında da kesintisiz olarak uygulanmalıdır. Veriler Enfeksiyon Kontrol Komitesi ekibi tarafından her ay ya da birkaç ayda bir düzenli olarak yapılan toplantılarla değerlendirilir. Bu değerlendirmede mevcut durum gözden geçirilir. Hastane enfeksiyonlarının oluşturduğu sorun ve uygulanan yöntemlerin etkinliği tartışılır. Fiziki hastane ve yoğun bakım şartları, davranış yöntemleri ve uygulama eksiklikleri genel kapsamda değerlendirilir. Sorunun çözümü için fiziki ortamın düzenlenmesi, metodolojik yaklaşımlarda düzenleme ve yeni önlemlerin eklenmesi tartışılır. Veriler bunların dışında sürveyans kapsamında hastaların izlemine gerçekleştiren Enfeksiyon Hastalıkları Uzmanları ile günlük olarak paylaşılmalıdır. Bu paylaşım hastaların olağan dışı her tür bilgilerini içerdiği gibi, normal sürveyans verilerini ve tedavi sürecini de kapsar. Sürveyans verilerinin güncel olarak Enfeksiyon Hastalıkları uzmanları ile paylaşımı, enfeksiyon kontrol politikalarının etkin şekilde uygulanması, hastaların yakından izlemi, tanı ve tedavi yaklaşımlarının sağlıklı gerçekleştirilmesi ve tedavi sürecinin akılcı antibiyotik uygulamaları ile sürdürülebilmesi açısından kritik önem taşır.

Hastane enfeksiyonları için uygulanan sürveyans aktif ve pasif olarak gerçekleştirilebilir. Pasif sürveyansta hastane enfeksiyonu tanısını Enfeksiyon Kontrol Hemşiresi dışındaki bir personel koyar. Hastayı takip eden doktor, hemşire ya da tıbbi personel enfeksiyondan şüphelendiğinde “Hastane Enfeksiyonu Bildirim Formu” düzenleyerek bunu Enfeksiyon Kontrol Ekibine gönderir. Enfeksiyon kontrol ekibi bu form üzerinden hastayı değerlendirir ve sürveyans başlatır. Elde edilen veriler üzerinden yapılan değerlendirmeler ile neden-sonuç ilişkisi belirlenir, tedavi, korunma yöntemleri ve sonraki süreçte alınacak önlemler konusunda görüş birliğine varılır. Bu veriler hastayı izleyen birimlerle paylaşılır ve gereksinim duyulduğunda aktif katılım gerçekleştirilir (4). Bu yöntemde enfeksiyon kontrol ekibi, hastalığın erken dönemde farkedilmesi, tanı ve tedavi sürecinde aktif görev almaz ve çoğu kez hastane enfeksiyon kontrolü daha geç dönemde sağlanır. Ayrıca tanı koyan kişilerin yorum farklılıkları olabilir. Doldurulan formların yetersiz olması, verilerin yeterince ortaya konmasını engelleyebilir. Bu da önemli bir salgının erken dönemde yakalanma şansını ortadan kaldırabilir. Enfeksiyon kontrol ekibinin bu süreçte geri planda kalması pasif sürveyansın en önemli dezavantajını oluşturmaktadır (5). Özellikle yoğun bakım ünitelerinde pasif sürveyans uygulanması, antibiyotiklere dirençli birçok hastane enfeksiyon etkeninin bu birimlerde kolonize olması ve endemik özellik kazanmasına yol açar. Bu nedenle hastane sürveyansı süresince Enfeksiyon Kontrol Komitesininin hasta izlemi ve önlemlerin uygulanma aşamasında doğrudan katılım sağladığı aktif sürveyansın yapılması daha iyi sonuçlar vermektedir.

Aktif sürveyansda Enfeksiyon Kontrol Komitesi bizzat olayların ve hasta tatikibin içindedir. Toplanan veriler güürüp içinde değerlendirilir ve zaman kaybedilmeksizin hastayı takip eden

ekip tarafından da paylaşılır. Bu izlem hastalarda zaman kaybı yaşanmaksızın etkin enfeksiyon önlemlerinin alınmasını ve uygulamaya sokulmasını sağlar.

Hastane sürveyans verileri öncelikli olarak Enfeksiyon Hastalıkları uzmanını yakından ilgilendirir. Enfeksiyon Kontrol Komitesinin aktif bir üyesi olarak, tanı, takip ve tedavi sürecinde bu verileri değerlendirir ve öngöründe bulunur. Bu öngörü, sürveyans verilerinin erken dönemde rasyonel olarak değerlendirilmesi ve etkin önlemlerin uygulanmasını sağlar. Tedavi sürecinde sürveyans verileri Enfeksiyon Hastalıkları uzmanını akılcı antibiyotik kullanımı ve enfeksiyon kontrolünü sağlaması açısından oldukça doğru yönlendirir. Sürveyans verilerinin Enfeksiyon Hastalıkları uzmanını ve klinisyeni yönlendirici etkisi şu şekilde sıralanabilir (6-10):

1. Daha önceden hastanede yatış öyküsü bulunan ve dirençli patojenlerle enfeksiyon ya da kolonizasyon öyküsü bulunan hastalara ait bilgiler, klinisyeni bu hastaların diğer hastalardan izole etmelerini gerektirir. Bu durum erken dönemde ciddi bir hastane enfeksiyon salgınının önlenmesine ve dirençli patojenlerin o birimde endemik özellik kazanmasının engellenmesine katkı sağlar.
2. Hastalarda gelişen enfeksiyon semptom ve bulgularının erken dönemde klinisyenle paylaşımı ampirik ya da pre-emptif tedavi uygulamasını başarılı kılar. Enfeksiyonun erken dönemde kontrolünü sağlayacağı gibi, erken dönemde uygun kültür örneklerinin alımı ve sürveyans verileri üzerinden akılcı antibiyotik kullanımına yardımcı olur.
3. Tedavisi sürdürülen hastalara ait sürveyans verileri uygulanan önlemlerin etkinliğini ve tedavi süreci hakkında klinisyene yol gösterici bilgiler sunmuş olur. Klinisyen tedavi esnasında genel durumu bozulan, enfeksiyon semptom ve bulguları tekrar ortaya çıkan hastalarda tedavinin erken dönemde başarısızlığını saptamış olur. Araya giren yeni bir enfeksiyon, tedaviye direnç ya da tedavi aksaklıkları gibi birçok sorunun erken dönemde fark edilmesi sağlanır.
4. Sürveyans verileri doğrultusunda klinisyen, uygulanan invaziv işlemlerin ve antibiyotiklerin gerekliliğini sorgular, uzun ve gereksiz invaziv uygulamalardan ve antibiyotik kullanımından kaçınır. Enfeksiyon kontrol komitesi ve uzmanı ile daha yakın işbirliği içinde çalışır.
5. Sürveyans verileri akılcı antibiyotik kullanımı ve tedavi politikalarının geliştirilmesi açısından klinisyene laboratuvar verilerinin erken dönemde ulaştırılmasını sağlamaktadır. Bu da klinisyenin laboratuvar ile iletişimini oldukça olumlu etkiler. Klinisyen tedavi yaklaşımları öncesinde laboratuvar ile daha güçlü ilişkiler kurar, gerekli tanı yöntemlerine başvurur ve sonuçların daha erken dönemde kendisini yönlendirmesi nedeniyle bu birlikteliğe önem verir.
6. Olağan dışı enfeksiyon sayısı ve kümeleşme klinisyene olası bir salgın hakkında öncelikli olarak fikir vermelidir. Bu durum erken dönemde salgının farkedilmesi ve kontrol altına alınması açısından oldukça yararlıdır. Salgın durumunda klinisyen, kendisine ulaşan veriler üzerinden Enfeksiyon Kontrol Ekibi ile yakın bir iletişim kurar. Belirlenen politikalar üzerinden hasta izolasyonu, tanı ve tedavisi ile kontrol önlemleri süresince klinisyen görüş alışverişinde bulunduğu bir ekip ile bu süreci daha sağlıklı ve başarılı yönetmiş olur.



7. Sürveyans verileri klinisyenin düzenli tedavi alışkanlıklarını gözden geçirmesine de önemli katkıda bulunur. Örneğin o birim içinde sık uygulanan ampirik antibiyotik tedavi politikalarının sürveyans verileri kapsamında ortaya konan direnç paternleri ile uyum göstermemesi, ampirik tedavi yaklaşımlarını başarısız kılacaktır. Klinisyen bu veriler üzerinden ampirik tedavi yaklaşımını başarılı kılacak olan ampirik tedavi protokollerini belirler. Direnç oranı yüksek antibiyotikleri kendi biriminde kullanımından kaçınır ve daha etkili antibiyotikleri tercih eder.
8. Sürveyans verileri klinisyene birim içinde kümülasyon gösteren enfeksiyon türleri ile enfeksiyon etkenleri hakkında da önemli bilgiler sunar. Bu bilgiler enfeksiyon kontrol politikalarının etkinliği ve yeni gereksinimleri konusunda klinisyeni yönlendirir. Örneğin o birim içinde yatan hastalarda artış gösteren “Vankomisine Dirençli Enterokok (VRE)” enfeksiyonları, hastalar arasında VRE kolonizasyonunun arttığına önemli bir göstergesidir. Mortalite ve morbidite açısından önemli bir risk teşkil eden ve o birim içinde endemik özellik kazanma potansiyeli bulunan bu bakterilerin eradikasyonu açısından klinisyen haberdar edilmiş olur. Enfeksiyon Kontrol Komitesi tarafından yapılan her türlü eradikasyon çabası, klinisyen tarafından da aktif katılımı başarıya ulaştır.
9. Sürveyans verileri hastaların tedavi başarısına ciddi katkı sağlayan yaklaşımlardır. Bu durum, aynı amaç ile hizmet veren klinisyenin çalışmalarını kolaylaştırır. Sürveyans verileri içerisinde yer alan hastaların yatış süresi, tedavi maliyeti, mortalite ve morbidite gibi çeşitli göstergeler, klinisyen ve Enfeksiyon Kontrol Ekibine somut bir gösterge oluşturmaktadır. Bu da uygulanan enfeksiyon kontrol politikalarının etkinliğini hem önceki döneme ait sonuçlar, hem de benzer hastane sürveyans sonuçları ile karşılaştırılabilir olmasını sağlar. Böylece politikaların etkinliği ve güncellenmesi konularına açıklık getirir.
10. Sürveyans kapsamında gerçekleştirilen her türlü yaklaşım aynı zamanda kalite anlayışı ile örtüşmektedir. Bu da klinisyen ve hastane yönetiminin tedavi politikalarında kalite anlayışının sonuçlarını doğrudan ortaya koyar. Sürveyans verileri bu alanda eksik kalan ya da başarısız olarak yürütülen tanı ve tedavi politikalarının güncellenmesi ve uluslararası standartlara kavuşması konusunda önemli bir işlev görür. Hastanede yürütülen tanı ve tedavi yaklaşımlarının uluslararası alanda kabul gören kalite standartlarına kavuşmasına zemin hazırlar.

## Kaynaklar

1. Pottinger JM, Herwaldt LA, Perl T. Basics of surveillance-an overview. In: Herwaldt LA, Decker MD (eds). A Practical Handbook for Hospital Epidemiologists. New Jersey: SLACK Inc, 1998:59-78.
2. Haley RW, Culver DH, White JW, et al. The efficacy of infection surveillance and control programs in preventing nosocomial infections in US Hospitals. *Am J Epidemiol* 1985;121:182-205.
3. World Health Organization. SAVE LIVES: Clean Your Hands: WHO's global annual campaign <http://www.who.int/gpsc/5may/en/> (Accessed on December 06, 2011).
4. Gould DJ, Chudleigh JH, Moralejo D, Drey N. Interventions to improve hand hygiene compliance in patient care. *Cochrane Database Syst Rev* 2007; :CD005186.
5. Pittet D, Mourouga P, Perneger TV. Compliance with handwashing in a teaching hospital. *Infection Control Program. Ann Intern Med* 1999; 130:126.
6. Voss A, Widmer AF. No time for handwashing!? Handwashing versus alcoholic rub: can we afford 100% compliance? *Infect Control Hosp Epidemiol* 1997; 18:205.
7. Quraishi ZA, McGuckin M, Blais FX. Duration of handwashing in intensive care units: a descriptive study. *Am J Infect Control* 1984; 12:83.
8. Eckmanns T, Bessert J, Behnke M, et al. Compliance with antiseptic hand rub use in intensive care units: the Hawthorne effect. *Infect Control Hosp Epidemiol* 2006; 27:931.
9. 2011 National Patient Safety Goals <http://www.jointcommission.org/patientsafety/nationalpatientsafetygoals/> (Accessed on December 06, 2011).
10. Noskin GA, Stosor V, Cooper I, Peterson LR. Recovery of vancomycin-resistant enterococci on fingertips and environmental surfaces. *Infect Control Hosp Epidemiol* 1995; 16:577.

# MASTDISCS™ - EUCAST COMPLIANCE AND MULTIDRUG RESISTANCE DETECTION/ CLASSIFICATION

Susan THOMSON

*Mast Group Ltd., United Kingdom*

**M**ast Group are a U.K. based privately owned group of companies who have been specialising in the manufacture and supply of high quality products for use in the clinical microbiology laboratory for over 50 years. Mast Group have operations in 4 countries – U.K. (Mast Group Ltd.); Germany (Mast Diagnostica GmbH); France (Mast Diagnostic) and South Africa (Davies Diagnostics (Pty) Ltd.). Mast Group have been supplying products internationally through a network of distributors for more than 5 decades.

From the inception of Mast Group Ltd., the company has focused on making innovative products for antimicrobial sensitivity testing – indeed the company name is an acronym for Multichromic Antimicrobial Susceptibility Testing (M.A.S.T.) – the first product range developed by our late company chairman and founder, Mr A. J. Oliver.

Mast Group Ltd. currently manufacture a variety of product ranges for antimicrobial susceptibility testing, including an extensive stock range of susceptibility discs which are manufactured to the specifications of internationally recognised standardisation organisations including EUCAST and CLSI

This presentation will

- Re-introduce Mast Group to the Turkish microbiology community.
- Confirm Mast Group objectives, values and company principles.
- Cover the product ranges and services currently available from Mast Group.
- Confirm that Mast Group are able to supply a full range of materials to allow the clinical microbiology laboratory to perform antimicrobial susceptibility testing by the EUCAST disc diffusion method.
- Show how Mast Group have used the expertise and skills developed over the years to create a range of reliable disc based products for use in the detection / identification / confirmation / classification of emerging resistance mechanisms in Enterobacteriaceae – Extended spectrum  $\beta$  lactamase enzymes (ES $\beta$ Ls), AmpC  $\beta$  lactamase enzymes and Carbapenemase enzymes.
- Explain how these newly developed products comply with the current EUCAST guidelines for the detection of resistance mechanisms.
- Explain how these products are used with examples.

# ANAEROP BAKTERİLERDE ANTİBİYOTİKLERE DİRENÇ SAPTAYALIM MI, NASIL?

F. Ferda TUNÇKANAT

Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Ankara

**A**naerop enfeksiyonların genellikle polimikrobiyal oluşu rutin mikrobiyoloji laboratuvarlarında, klinik örneklerden etken bakterilerin tümünün izole edilerek tür düzeyinde tanımlanmasına olanak vermemektedir. Bunun yanı sıra genellikle ampirik tedavi önerilen anaerop enfeksiyonlar için bu her zaman gerekli de değildir. Genel olarak kan, beyin omurilik sıvısı ve diğer vücut sıvıları gibi steril bölgelerden ve tek etken olarak izole edilen anaerop bakterilerin tür düzeyinde tanımlanması önemlidir. Bu bakterilerin duyarlılık testlerinin uygulanması söz konusu olduğunda ise, aerop bakterilere göre çok daha fazla güçlükle karşılaşılacaktır. Her şeyden önce anaerop bakterilerle çalışmak özel bilgi ve donanım gerektirir. Ayrıca bu bakterilerin özel üreme gereksinimleri nedeniyle geç ve güç üremeleri, üreme hızlarının türden türe değişiklikler göstermesi gibi pek çok teknik güçlükler de söz konusudur. Bu nedenlerle anaerop bakterilerin duyarlılık testlerinin uygulanma endikasyonları "Clinical and Laboratory Standards Institute" (CLSI) tarafından aşağıdaki şekilde belirlenmiştir.

- 1) Ciddi ve yaşamı tehdit eden enfeksiyonu olan hastalarda tedavinin yönlendirilmesi
- 2) Belirli zaman aralıkları ile bir merkezdeki ve/veya bölgedeki direnç paternlerinin saptanması
- 3) Yeni bir antibiyotiğin anti-anaerobik etkinliğinin araştırılması

Bu önerilerin yanı sıra izolat ya da olgu bazında duyarlılık testlerinin uygulanmasını gerektiren durumlar da söz konusudur. Bunlar: izolatların dirençli bir türe ait olduğu durumlar, ampirik tedaviye karar verilemeyen ya da uygun ampirik tedavi seçimine rağmen iyileşmeyen olgular ve uzun süreli tedavi gerektiren durumlardır.

Öte yandan anaerop enfeksiyonların mikrobiyolojik tanısı için örnek alınırken normal flora ile kontaminasyon söz konusu ise izole edilen bakteriler gerçek enfeksiyon etkenlerini yansıtmayabilir. Bu tür izolatlara duyarlılık testlerinin uygulanması tedavinin yanlış yönlendirilmesine neden olur. Bir diğer önemli nokta ise bir örnekten patojen olma potansiyeli taşıyan birden fazla anaerop bakterinin izole edildiği durumlardır. Bu durumlarda duyarlılık testlerinin dirençli olduğu bilinen ve/veya yüksek virülanslı bakterileri kapsamaması şarttır.

## Anaerop Duyarlılık Testleri

Bugün için anaerop bakterilerde antibiyotik duyarlılığının saptanmasında kullanılan yöntemler mikrodilüsyon yöntemi, agar dilüsyon yöntemi, ve E test olarak belirlenmiştir. Aerop

bakteriler için kullanılan disk difüzyon yöntemi anaerop bakteriler için önerilmemektedir. Mikrodilüsyon testinin kullanımı şimdilik *Bacteroides* cinsi bakteriler ile sınırlandırılmıştır. Diğer bakteriler için agar dilüsyon yönteminin kullanılması önerilmektedir. Agar dilüsyon yöntemi, anaerop bakteriler için referans yöntem olarak kabul edilmektedir. E test ile uygulanan konsantrasyon gradiyent yöntemi ile yapılan çalışma sonuçlarının referans test ile uyumlu olması, testin kolay uygulanabilir ve pratik olması nedenleri ile birçok durumda E test, agar dilüsyona tercih edilir hale gelmiştir. Ancak E test yöntemi, kullanılan antibiyotik şeritlerinin ticari olarak üretilmesi nedeni ile CLSI önerileri arasında yer almamaktadır. Bu yöntemlere ek olarak anaerop bakteriler için beta laktamaz testi, tedavide penisilin ya da ampicilin kullanılmasının düşünüldüğü durumlarda tedaviyi yönlendirmek amacıyla uygulanacak, hızlı sonuç veren bir ön test olarak önerilmektedir. Bilindiği gibi klinik örneklerden en sık izole edilen anaerop gram negatif basillerin önemli bir kısmı beta laktamaz oluşturur. *B. fragilis* grubunun tamamen beta laktamaz oluşturduğu için, beta laktamaz testinin artık bu grup bakteriye uygulanması önerilmemektedir.

Antibiyotik duyarlılık testleri ile ilgili ülkemizde de standart alınması önerilen Avrupa (The European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing –EUCAST) standartlarının, anaerop duyarlılık testlerinin uygulanma endikasyonlarına ve uygulanacak testlere ilişkin bir önerisi bulunmamaktadır. Ancak EUCAST, anaerop duyarlılık test sonuçlarının değerlendirilmesinde bazı antibiyotikler için farklı sınır değerler önermektedir. CLSI sınır değerleri yerine EUCAST sınır değerlerinin kullanılması, pratikte önemli sonuçlar doğuracaktır. EUCAST sınır değerleri, CLSI sınır değerlerine göre daha düşük tutulduğu için, Avrupa standartları temel alındığında, örneğin metronidazol gibi bazı önemli anti anaerobik ilaçlara karşı daha yüksek direnç oranları saptanmaktadır. Dirençli bir bakterinin duyarlı kabul edilerek ona göre tedavi planlanması, tedavi başarısızlığına ve belki de bir kısım hastanın kaybedilmesine neden olacaktır. Bu açıdan test sonuçlarının değerlendirilmesinde EUCAST standartlarının temel alınması, hasta ve klinikçiyi daha güvenli bölgede tutacaktır.

## Kaynaklar

1. Clinical and Laboratory Standarts Institute Methods for antibiotic susceptibility testing of anaerobic bacteria; approved standart 2008, 7th ed. CLSI document M11-A7. .Clinical and Laboratory Standarts Institute, Wayne, Pa.
2. European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing. Breakpoint tables for interpretation of MICs and zone diameters. Version 4.0 , 2014. [http:// www.eucast.org](http://www.eucast.org)
3. Japanese Society of Chemotherapy and The Japanese Association for Infectious Disease. Anaerobic infections (general): drug susceptibility. J Infect Chemother 2011, 17 (Suppl 1): 26-30.
4. Nagy E, Urban E, Nord CE. Antimicrobial susceptibility of *Bacteroides fragilis* group isolates in Europe: 20 years of experience. Clin Microbiol Infect 2011, 17: 371-379.

# ANTİFUNGAL DİRENÇ MEKANİZMALARI VE DUYARLILIK TESTLERİ

Nilgün ÇERİKÇİOĞLU

*Marmara Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, İstanbul*

**S**on 20 yılda, invazif mantar enfeksiyonlarındaki artışla birlikte, klinik direnç belirlenmesindeki artış da büyüyen bir problem ile karşı karşıya olduğunun göstergesidir. Örneğin, CDC nin bildirimine göre, kandida izolatlarında flukonazole karşı direnç 1992 de %3 iken, 1998 de sadece %3,7 gibi oldukça düşük oranlardadır. Ancak, bazı hasta popülasyonlarında özellikle *Candida glabrata* türünde flukonazole karşı duyarlılıkta çarpıcı bir azalma gözlenmektedir. Yeni tedavi ajanları olan ekinokandinlerin, kandidemilerde birinci kuşak ampirik tedavi seçeneğine dönüşmesiyle birlikte, bu ilaçlara dirençli invazif enfeksiyonların bildiriminde de artış söz konusudur (1).

AFDT için standart olarak kabul edilen ve buyyon mikrodilüsyon yöntemine (BMD) dayalı uluslararası iki rehber mevcuttur: CLSI ve EUCAST. Bu rehberlerin esası, azoller ve ekinokandinler için MİK verilerini sağlamaktır. Dolayısıyla, antifungal duyarlılık testlerinin (AFDT) tüm dünyada standardize edilmesi, gerek hastalara tedavi yaklaşımı gerek direnç sürveyansı açısından önem kazanmıştır (1, 2).

## CLSI ve 24. Saatlik Sonuçların Geçerliliği

Son yıllarda CLSI; MİK sonuçlarının okunma süresinin kısaltılması, *Candida* türleri ve sistemik aktif antifungal ilaçlar için “epidemiolojik cut off” (ECV) değerlerinin ve önem kazanan yeni türler için flukonazol, vorikonazol ve ekinokandinlerin “klinik sınır değerleri”nin (CBP) belirlenmesi için veriler geliştirmiştir.

*Candida* türlerinin çoğu, CLSI BMD ile, 24 saatte yeterli üreme göstermektedir. Bu sürenin sonunda yapılacak olan değerlendirme, 48 saatlik okumalarda karşılaşılan “trailing end point” sorununu da ortadan kaldıracaktır.

Yapılan çoklu çalışmaların sonuçlarına göre 11 en sık izole edilen klinik *Candida* türünde, 24 saatlik ve 48 saatlik MİK için  $\pm 2\log 2$  dilüsyonlar içinde “esansiyel uyum (agreement)” (EA) ve kategorik uyum (CA) arasında, amfoterisin B, flukonazol, flusitozin, itrakonazol, posakonazol ve vorikonazol açısından paralel sonuçlar elde edilmiştir ve 24 saatlik sonuçların yeterli olduğu kabul edilmiştir.

## Candida Türleri ve Sistemik Etkili İlaçlar için ECV'lerin Geliştirilmesi

CBP değerleri, etkenin, uygulanan ilacın kabul edilen dozlarına yanıt vereceğini gösterir. Bunun tersine olarak, ECV (epidemiyolojik eşik değer) ise, belli bir ilaca karşı duyarlılığı azalmış kökenler için en duyarlı ölçümü temsil eden değer olarak düşünülebilir. ECV, mutasyonal veya kazanılmış direnç mekanizmalarına sahip olmayan “wild type” (WT)(yabani tip) kökenleri, bu mekanizmalara sahip kökenlerden ayıran MİK eşik değerleridir. WT organizmaların tipik MİK değeri, modal MİK değerinin 3-5 kat sulandırılmaları içinde yer alır. ECV, modal MİK'in yaklaşık iki dilüsyon üzerinde belirlenir (MİK  $\leq$  ECV) ve WT MİK dağılımındaki sonuçların %95 ini kapsar.

Mutasyonal ya da kazanılmış dirence sahip organizmalar, MİK değerleri ECV değerlerinden yüksek olanlar içine dahil edilebilir, ve ECV ler, antifungallere karşı azalan duyarlılık gösteren Candida türlerinin izlenmesi için kullanılabilir.

ECV aynı zamanda, kazanılmış direnç mekanizmalarına bağlı olarak antifungal tedaviye yanıt verme olasılığı düşük olan izolatların tanımlanmasında da kullanılabilir. Tablo 1 de 16 farklı laboratuvar tarafından çeşitli Candida türleri için verilen sonuçlar, onbinlerin üstündeki kökenlerle elde edilen sonuçların yaklaşık %100 ünü kapsamaktadır.

**Tablo 1. Candida türlerine sistemik etkili ilaçlar için 24 saatlik CLSI BMD yöntemi ile saptanan ECV ve CBP ler.**

Organism	Antifungal agent	ECV ( g/ml)		CBP ( g/ml)			
		WT	Non-WT	S	SDD	I	R
<i>C. albicans</i>	Amphotericin B	2	2				
	Flucytosine	0.5	0.5				
	Fluconazole	0.5	0.5	2	4		8
	Itraconazole	0.12	0.12	0.12	0.25-0.5		1
	Posaconazole	0.06	0.06				
	Voriconazole	0.03	0.03	0.12		0.25-0.5	1
	Anidulafungin	0.12	0.12	0.25		0.5	1
	Caspofungin	0.12	0.12	0.25		0.5	1
<i>C. glabrata</i>	Micafungin	0.03	0.03	0.25		0.5	1
	Amphotericin B	2	2				
	Flucytosine	0.5	0.5				
	Fluconazole	32	32		32		64
	Itraconazole	2	2				
	Posaconazole	2	2				
	Voriconazole	0.5	0.5				
	Anidulafungin	0.25	0.25	0.12		0.25	0.5
Caspofungin	0.12	0.12	0.12		0.25	0.5	
Micafungin	0.03	0.03	0.06		0.12	0.25	

<i>C. parapsilosis</i>	Amphotericin B	2	2					
	Flucytosine	0.5	0.5					
	Fluconazole	2	2		2	4		8
	Itraconazole	0.5	0.5					
	Posaconazole	0.25	0.25					
	Voriconazole	0.12	0.12		0.12		0.25–0.5	1
	Anidulafungin	4	4		2		4	8
	Caspofungin	1	1		2		4	8
	Micafungin	4	4		2		4	8
<i>C. tropicalis</i>	Amphotericin B	2	2					
	Flucytosine	0.5	0.5					
	Fluconazole	2	2		2	4		8
	Itraconazole	0.5	0.5					
	Posaconazole	0.12	0.12					
	Voriconazole	0.06	0.06		0.12		0.25–0.5	1
	Anidulafungin	0.12	0.12		0.25		0.5	1
	Caspofungin	0.12	0.12		0.25		0.5	1
	Micafungin	0.12	0.12		0.25		0.5	1
<i>C. krusei</i>	Amphotericin B	2	2					
	Flucytosine	32	32					
	Fluconazole	64	64					
	Itraconazole	1	1					
	Posaconazole	0.5	0.5					
	Voriconazole	0.5	0.5		0.5		1	2
	Anidulafungin	0.12	0.12		0.25		0.5	1
	Caspofungin	0.25	0.25		0.25		0.5	1
	Micafungin	0.12	0.12		0.25		0.5	1
<i>C. lusitaniae</i>	Amphotericin B	2	2					
	Flucytosine	0.5	0.5					
	Fluconazole	2	2					
	Itraconazole	0.5	0.5					
	Posaconazole	0.12	0.12					
	Voriconazole	0.03	0.03					
	Anidulafungin	2	2					
	Caspofungin	1	1					
	Micafungin	0.5	0.5					



<i>C. guilliermondii</i>	Amphotericin B	2	2				
	Flucytosine	1	1				
	Fluconazole	8	8				
	Itraconazole	1	1				
	Posaconazole	0.5	0.5				
	Voriconazole	0.25	0.25				
	Anidulafungin	4	4		2	4	8
	Caspofungin	2	2		2	4	8
	Micafungin	2	2		2	4	8
<i>C. dubliniensis</i>	Amphotericin B	2	2				
	Flucytosine	0.5	0.5				
	Fluconazole	0.5	0.5				
	Itraconazole	0.25	0.25				
	Posaconazole	0.12	0.12				
	Voriconazole	0.03	0.03				
	Anidulafungin	0.12	0.12				
	Caspofungin	0.12	0.12				
	Micafungin	0.12	0.12				
<i>C. kefyr</i>	Fluconazole	1	1				
	Posaconazole	0.25	0.25				
	Voriconazole	0.015	0.015				
	Anidulafungin	0.25	0.25				
	Caspofungin	0.03	0.03				
	Micafungin	0.12	0.12				
<i>C. orthopsilosis</i>	Fluconazole	2	2				
	Posaconazole	0.25	0.25				
	Voriconazole	0.06	0.06				
	Anidulafungin	2	2				
	Caspofungin	0.5	0.5				
	Micafungin	1	1				
<i>C. pelliculosa</i>	Fluconazole	4	4				
	Posaconazole	2	2				
	Voriconazole	0.25	0.25				
	Caspofungin	0.12	0.12				

Son yıllarda flukonazol profilaksisi alırken , büyük olasılıkla CDR genlerinin aşırı ekspresyonuna bağlı panazol direnci gösteren *C.glabrata* kökenlerine bağlı sistemik enfeksiyonların ve de mikafungin profilaksisi sürecinde mikafungine karşı MİK değerlerinde artış saptanan *C.parapsilosis*, *C.glabrata*, *C.tropicalis*, *C. albicans*, *C.krusei* türlerine bağlı invazif kandidiyaz bildirimleri dikkat çekicidir.

Bunların bazılarında kaspofungine ve anidulafungine karşı da çapraz direnç belirlenmiştir (2).

## Amfoterisin B

Tablo 1.de yer alan ECV değerleri, belirtilen türlere ait sonuçların %97-100 ünü kapsamakta olup, tümü için 2 µg/ml dir. Literatürde, bu ilaç için “dirençli” ya da “duyarlı değil” sınır değerleri, >0.5 veya >1 olarak kabul edilmektedir. Ancak, BMD ve Etest sonuçları ile klinik sonuç genellikle korele değildir. Bu nedenle 24 saatlik CLSI / BMD ile 2 µg/ml olarak saptanan ECVnin, o kandida kökeninin WT (MİK≤ECV) ya da WTdışı(MİK≥ECV) olduğuna karar vermede kullanılabilir değer olabileceği önerilmiştir. Çeşitli çalışmalara göre MİK aralığının 0.25-2 olduğu durumlarda, WT kandida kökenleri için amfoterisin B ye yanıt oranı yaklaşık %65 olmuştur. Dolayısıyla, Candida türlerinin çoğu için >2 MİK değerleri, tek başına tedavi açısından uygun olmayacağı şeklinde yorumlanabilir (4).

**Flusitozin:** Tablo 1 de yer alan 8 tür için, flusitozine karşı ECV, *C. krusei* dışında (ECV 32µg/ml), 0.5- 1 arasındadır. CLSI nin CBP için önerisi ise, ≤4 “duyarlı”, 8-16 “intermediate”, ve ≥32 “dirençli” şeklindedir. Ancak, izolatların çoğu için ≤0.5 değerinin elde edilmesi, CLSI'nin, azalan duyarlılık ya da direnci belirlemede fazlaca “yüksek” olduğunu düşündürmüştür.

Farklı türlerdeki flusitozine karşı direnç, mutasyonlara bağlı farklı paternlerle açıklanmaktadır. Örneğin >0.5-<8 arası yükselmeler, FCY1 (deaminaz) mutasyonları ile; 8- 12 arası değerler deaminaz ve FUR1 (fosforiboziltransferaz)da, hetero ya da homozigot mutasyonlarla açıklanmaktadır. Mutasyon olmayanlarda ise, genellikle <0.25 sonuç elde edilmektedir.

Sonuç olarak, MİK değeri ≤0.5 olanlar flusitozine karşı dirençlilik mutasyonuna sahip olması olanaksız iken, MİK'i >ECV olanların (WT dışı, MİK>0.5) flusitozine karşı hetero ya da homozigot mutasyonlarla direnç geliştirme olasılığı vardır (4).

**Triazololler:** Bu ilaçlara karşı direnç, hedef enzimde kantitatif ya da kalitatif değişimlerle (ERG 11 mutasyonu), ilacın hücreye girişinde MDR (multidrug resistance) veya CDR (Candida drug resistance) dışı atım pompalarına bağlı azalmaya ya da bunların kombinasyonuna dayanır.

Tablo 1'de bildirilen ECV değerleri, 11 farklı Candida türü için, CLSI / BMD yöntemine dayalı 24 saatlik sonuçlara göre belirlenmiştir. On bir türün 7 sinde, flukonazol için ECV 0.5-2 µg/ml olup, her bir MİK dağılımındaki sonuçların %95-99unu kapsamaktadır. *C. glabrata* ECV 32, *C. krusei* ECV 64 , *C. guilliermondii* ECV 8 ve *C. pelliculosa* ECV 4 µg/ml dir ve bu yüksek ECV ler, flukonazole karşı duyarlılıkta düşüşü göstermektedir.

HİV (+) bir hastanın “Orofarengeyal Kandidiyaz” (OFK) nedeni ile izleminde, 17 izogenik ardışık *C. albicans* izolatında, 0.25 µg/ml (WT) ile başarılı tedavi sergileyen kuşağın, 16. ve 17. izolatlarında tedavi öncesi MİK değerlerinin 64 ve 128µg/ml ye yükseldiği saptanmıştır.

Bu yükselişlerin moleküler irdelenmesinde MDR'ye bağlı olarak 0.25 ten(WT) - 8 e (WT dışı); ERG 11 de allelik varyasyon kaybına ya da ERG 11in aşırı ekspresyonuna bağlı olarak 8 den- 16-32 ye; ve de CDR1 pompalarının aşırı ekspresyonuna bağlı olarak da flukonazole karşı 64 - 128 e ayrıca, itrakonazole karşı da 4 - 8 e ulaştığı gösterilmiştir. Yani, her bir izolatta dirençle ilintili mekanizmaların sayı ve tip olarak artışı söz konusudur. MİK değeri ECV 0.5 ten az olan izolatlarda direnç mekanizmaları saptanamazken, MİK değerleri ECV nin üstünde olan izolatlarda ise, bir ya da daha fazla flukonazole direnç mekanizması saptanmıştır (A) (Tablo 2).

**Tablo 2.** HIV ile enfekte rekürrent orofarengeyal kandidyazlı bir hastanın ardışık *C. albicans* izolasyonlarında MİK ile ilişkili azol direnç mekanizmaları.

<i>C. albicans</i> isolate(s)	MIC ( g/ml)		Molecular change(s)
	FLC	ITR	
1	0.25	0.06	None (WT)
3	8	0.06	Increase in MDR1 mRNA
12-15	16-32	0.12-0.25	Mutation in ERG 11 gene, loss of heterozygosity in ERG 11, increase in ERG11 mRNA
16, 17	64-128	4-8	Increase in CDR mRNA

Tablo 1’de itrakonazol ECV’leri, *C. albicans* için 0.12, *C. dubliniensis* için 0.25 ve diğer dört tür için 0.5 µg/ml ; *C. glabrata* için 2, *C. krusei* ve *C. guilliermondii* için 1 µg/ml dir. Yani, *C. albicans* dışı tüm diğer türlerin ECV’leri CLSI CBP değeri olan ≤0.12 den büyüktür. Bu değerler, itrakonazol ile tedavi edilmiş OFK lı hastaların ağız sürüntülerinden izole edilmiştir. Tablo 2’de görüldüğü gibi, *C. albicans*’da, itrakonazol için 0.12’den (WT MİK fenotipi), 4- 8 MİK’e yükselme (WT dışı fenotip) gösteren *C. albicans* kökenlerinde, CDR pompalarının aşırı ekspresyonunun birincil neden olduğu gösterilmiştir. Tablo 1’deki ECV’lere göre, *C. albicans* dışı türler için CLSI CBP ler uygun değildir. Yani, *C. albicans* için CLSI CBP’ler azalan duyarlılığı saptamada yeterli iken, *C. albicans* dışı türlerde itrakonazole karşı azalan duyarlılığı belirlemede ECV lerin kullanılması doğru olacaktır.

Vorikonazol için en düşük ECV *C. kefyri*’de 0.015 µg/ml olarak bulunmuştur.

Diğer türler için ise ECV, 0.03 - 0.12 µg/ml dir. Ancak, *C. glabrata* ve *C. krusei* için bu değer 0.5, *C. guilliermondii* ve *C. pelliculosa* içinse 0.25 µg/ml dir. Benzer olarak posakonazol için en düşük ECV *C. albicans*’da 0.06; *C. tropicalis*, *C. parapsilosis*, *C. lusitaniae*, *C. kefyri*, *C. dubliniensis*’de ise 0.12-0.25 µg/ml dir. En yüksek ECV’ler ise, vorikonazole benzer olarak, *C. glabrata*’da 2, *C. krusei*’de ve *C. guilliermondii*’de 0.5, *C. pelliculosa*’da 2 µg/ml dir ve de azollere karşı azalan duyarlılığı göstermektedir. Bu ECV’ler, her bir MİK dağılımındaki sonuçların %94-100 ünü kapsamaktadır.

Vorikonazol için atasal kökende 0.007 (WT fenotipi) den 2 µg/ml ye (ki 0.03 olan ECV den büyüktür) yükselme CDR pompalarının ekspresyonunda artış ve ERG11 de mutasyonla birlikte gitmiştir. Posakonazol MİK’i için benzer bir artış 0.03’ten (WT fenotipi) 0.25’e yükselme olarak belirlenmiş olup , bu da 0.06 µg/ml olan ECV nin üstündedir. Vorikonazole ve posakonazole karşı ECV lerinden daha düşük değerler veren *C. albicans* kökenlerinde, bilinen azollere direnç mekanizmalarından hiçbirisi saptanmamıştır(2).

**Ekinokandinler:** *Calbicans*, *C. tropicalis* ve *C. krusei* kökenlerinde ekinokandinlere karşı direnç, glukon sentazı (GS) kodlayan fks1 genindeki nokta mutasyonlarla ilintilidir. *C. glabrata*’daki klinik direnç ise, fks1 ve 2 genlerindeki mutasyonlara bağlıdır. MİK’lerde artışa yol açan mutasyonlar GS’nin ilaçlara olan duyarlılığını azaltır. Bu artışlar kaspofungin için 4-30 kat, anidulafungin ve mikafungin için 90-110 kattır. Duyarlılığı düşük diğer türler olan *C. parapsilosis* ve *C. guilliermondii*, fks1 in “sıcak nokta1” bölgesinde doğal polimorfizmler gösterirler. Bu türlerde diğer WT kökenlere göre ekinokandinlere karşı MİK değerlerinde yükselmeler gözlenir. Tablo 1’de yer alan 11 türün 7’si için ekinokandin ECV’leri ≤0.25 olup, her bir MİK dağılımının %96-100 ünü kapsamaktadır. ECV’lerin *C. lusitaniae*’de ve

*C. ortopsilosis*'de 0,5ten 2 µg/ml'ye, *C. parapsilosis*'de 1 den 4µg / ml'ye, *C. guilliermodii*'de 2 den 4µg/ml'ye yükselmiş olması ekinokandinlere karşı azalan duyarlılığı göstermektedir.

ECVlerin kazanılmış direnci belirlemede kullanıldığı bir çalışmada (anidulafungin için *C. albicans*, *C. tropicalis*, *C. krusei* 0.12, *C. glabrata* 0.25 µg/ml), CLSI BMD metodu WT dışı mutan kökenlerin %90'ını ve WT kökenlerin %98'ini doğru sınıflamıştır. Benzer doğru sınıflama oranları kaspofungin ve mikafungin için de geçerlidir. Bu da, CLSI BMD yönteminin uygulanmasıyla elde edilen ECV lerin, WT kandida kökenlerinin WT dışı kökenlerden ayrımında kullanılabileceğini göstermektedir (2).

## Flukonazol, Vorikonazol ve Ekinokandinler İçin Candida Türlerine Özgül Yeni CLSI Klinik Sınır Değerleri

Yakın zamana kadar CLSI, bu üç ilaç için türe özgül olmayan, genel geçerliliğe sahip sınır değerleri kabul etmekteydi. Örneğin duyarlılık sınırları flukonazol için ≤8, vorikonazol için ≤1 ve ekinokandinler için ≤2 µg/ml idi. Ancak bu değerler yüksek duyarlı kökenlerde gelişen direncin öngörülmesini engelleyecek kadar yüksek kalıyordu.

Bu nedenle CLSI antifungal altkomitesi, her bir tür için MİK dağılımlarını yeniden ele almış ve Tablo 1'de verilen ECV leri geliştirerek, direnç mekanizmaları ile MİK ler ve bunların sonuçları arası ilişkiler hakkında bilgi edinilmesini ve de ilaçların PK/PD değerlerini de göz önüne alarak, türlere özgül CBP lere ulaşmayı sağlamıştır. Belirtilen ilaçlar için revize edilmiş sadece sık karşılaşılan 6 tür için uyarlanabilen ECV ler Tablo 1.de verilmiştir. Ek olarak, CBP leri belirlenemeyen bazı türler ve de amfoterisin B, flusitozin, itraconazol ve posakonazol için potansiyel direncin gelişimini saptamak üzere ECV lerin kullanılmasının uygun olacağı da önerilmiştir (2).

## Antifungal Duyarlılık Testlerinin Klinik Sonuçlarla Uyumu

Candida türleri için azol antifungallerin (Flukonazol, Vorikonazol, İtrakonazol) 90-60 kuralı çerçevesinde prediktif yararları irdelendiğinde, MİK sonuçlarına göre “dirençli” olarak saptanan kökenlerle enfekte hastaların tedaviye yanıtları büyük ölçüde olumsuz sonlanmıştır. Aynı koşullarda “Duyarlı” olarak belirlenen kökenlerle enfekte hastaların tedavisinde ise, tedavi başarısının yüksek olduğu gözlenmiştir (Tablo 3).

**Tablo 3.** Azoller ile tedavide klinik başarının , CLSI MİK kategorik değerleri ile ilişkisi

	MIC breakpoint		
Antifungal agent	interpretive category (g/ml)	No. of events	% success
Fluconazole <sup>a</sup>	Susceptible (2 g/ml)	550	92
	Resistant (8 g/ml)	212	37
Voriconazole <sup>b</sup>	Susceptible (0.12 g/ml)	173	76
	Resistant (1 g/ml)	8	38
Itraconazole <sup>c</sup>	Susceptible (0.12 g/ml)	103	88
	Resistant (1 g/ml)	6	67

Bu veriler ışığında, *Candida* türlerine bağlı enfeksiyonlar için antifungal duyarlılık testleri için koşullar Tablo 4'de belirtilmiştir.

<b>Tablo 4.</b> Klinik laboratuvarında <i>Candida</i> türleri için antifungal duyarlılık testlerine yönelik öneriler.	
<b>Klinik durum</b>	<b>Öneriler</b>
Rutin	Kan, steril vücut sıvıları ve derin doku kandida izolatlarının tür düzeyinde belirlenmesi
	Derin dokulardan izole edilen <i>C. glabrata</i> için flukonazol ve ekinokandinlere yönelik rutin antifungal testi
	Diğer <i>Candida</i> türleri için de flukonazol ve ekinokandinlere yönelik test yararlı olabilir ancak, duyarlılık sıklıkla türlere göre yorumlanır
	Sonuçların doğru yorumlanması için CBP ve ECV lerin kullanılması önerilir (Tablo 1).
	<i>C. glabrata</i> 'da flukonazol ve diğer azoller arasında çapraz direnç akılda tutulmalıdır
	Bir antifungogram hazırlanmalıdır
Mukozal kandidiyaz	Rutin antifungal duyarlılık testi hazırlanması şart değildir
	Tedaviye yantısız hastalar için azollere duyarlılık testleri hazırlanabilir
Başlangıç tedavisinde klinik başarısızlık gösteren invazif hastalık	Flukonazole, vorikonazole ek olarak bir ekinokandin, amfoterisin B ve flusitozin için de test hazırlanabilir
	Mikrobiyoloji uzmanı ile birlikte konsültasyon önerilir
Yüksek oranda intrinsek ya da kazanılmış dirence sahip türler ile enfeksiyon	İntrinsek direnç biliniyorsa duyarlılık testine gerek kalmaz
	<i>C. lusitanae</i> ve amfoterisin B <i>C. krusei</i> ve flukonazol, flusitozin <i>C. guilliermondii</i> ve ekinokandinler
	Yüksek oranda kazanılmış direnç ile, yetmezlik belirtilerinin ortaya çıktığı durumlarda duyarlılık testleri önerilir
	<i>C. glabrata</i> ve flukonazol, , amfoterisin B, ve ekinokandinler
	<i>C. krusei</i> ve amfoterisin B
	<i>C. guilliermondii</i> ve amfoterisin B
	<i>C. rugosa</i> ve amfoterisin B. flukonazol ve ekinokandinler
Yeni tedavi seçenekleri (ekinokandinler, vorikonazol, posakonazol) veya nadir türler	Başlangıçtaki yanıt suboptimal olmadığı sürece, <i>Candida</i> türlerinin ekinokandinlere karşı duyarlı olduğu varsayılabilir Ekinokandinlerle veya flukonazolla önceden karşılaşılmış ise, duyarlılık testi gereklidir Tedavinin seçimi yayınlanmış, kabul görmüş rehberlere dayanır Etkili olması beklenen antifungale yantısızlık durumunda, duyarlılık testi yardımcı olabilir

Sonradan dirençli olarak saptanan bir organizmayla enfekte olmalanna karşın tedaviye yanıt veren hastalar	En doğru yaklaşım açık değildir Take into account severity of infection, patient immune status, consequences of recurrent infection, etc.Enfeksiyonun ciddiyeti, hastanın bağışıklık durumu, rekürrent enfeksiyonların sonuçları hesaba katılmalıdır Başlangıç tedavisine yüksek düzeyde dirençli izolatlarla oluşan enfeksiyonlarda alternatif tedavi düşünülebilir
Duyarlılık testi yönteminin seçimi	Standardize Yöntemler
	CLSI metotları
	Buyyon temelli , M27-A3
	Agar temelli, M44-A2
	EUCAST
	Ticari Yöntemler
	Etest
	Sensititre YeastOne
	Vitek 2

(2, 3).

### **Candida Türleri İçin EUCAST ve CLSI Sınır Değerleri Arası Benzerlikler ve Farklılıklar**

EUCAST, türe özgül sınır değerler belirlemiştir . Başlangıçta iki grup arasında çarpıcı farklar olup, EUCAST'ın sınır değerleri CLSI'a göre, belirgin olarak düşük idi. Günümüzdeki temel farklılıklar ise şunlardır:

EUCAST, daha düşük MİK değerleri üretmektedir. EUCAST, *C.parapsilosis* ve *C.guilliermondii*'yi ekinokandinlere tam duyarlı olarak kabul etmez, "intermediate" duyarlı olarak bildirir; zaman içerisinde, ve merkezler arasında kabul edilemez MİK değişiklikleri görüldüğünden EUCAST, kaspofungin için sınır değerler vermekten kaçınır ve kaspofungin duyarlılığının belirteci olarak anidilafunginin kullanılmasını önerir.

### **Aspergillus Fumigatus'da Azol Direnci**

İngiltere'de 2002-2004 yıllarında itrakonazole karşı direnç %0 dan %5'e ve 2007-2009 arasında %17 den %20 ye yükselmiştir. Aynı yıllarda Hollanda'dan bildirilen direnç oranı %10 dur. Benzer olarak diğer Avrupa ülkelerinden, ABD'den ve Asya ülkelerinden de (Çin, İran, Japonya, Hindistan) triazolere karşı dirençli olgular bildirile gelmektedir. Bu direncin özellikle tarımda kullanılan azol grubu ilaçlara bağlı olarak gelişen mutasyonlardan kaynaklandığı belirlenmiştir. Bunlar, azollerin hedefi olan 14 alfa demetilaz enzimini kodlayan cyp51A geninde ortaya çıkan ve farklı amino asitlerin yer almasıyla sonlanan TR34 /L98H ve son dönemde saptanan TR46/Y121F/T289A mutasyonlarıdır.

Ancak, bu bölgenin dışındaki gen bölgelerine bağlı mutasyonlar ile bağlantılı azol direnci gösteren klinik *A. fumigatus* izolatları da bildirilmiştir(4).

EUCAST, 2014 yılında, *Candida* türlerine ve *Aspergillus*'a özgül sınır değerlerin belirlendiği çalışmaların sonuçlarına göre güncelleme yapmıştır (3).

#### **Kaynaklar**

1. Cleveland AA, Farley MM, Harrison LH, et al. Changes in incidence and antifungal drug resistance in candidemia: Results from population-based laboratory surveillance in Atlanta and Baltimore 2008-2011. Clin Infect Dis Advance Access, 2014. (Published by Oxford University Press on behalf of the Infectious Diseases Society of America).
2. Pfaller MA, Diekema DJ. Progress in antifungal susceptibility testing of *Candida* spp. By use of Clinical and Laboratory Standards Institute Broth Microdilution Methods, 2010 to 2012. J Clin Microbiol. 2846-56, 50 (9); 2012.
3. Arendrup MC, Esterella – Cuenca M, Lass-Flörl C, Hope WW. Breakpoints for antifungal agents: An update from EUCAST focussing on echinocandins against *Candida* spp. And triazoles against *Aspergillus* spp. Drug Resistance Updates. <http://dx.doi.org/10.1016/j.drug.2014.01.001>.
4. Chowdhary A, Kathuria S, Xu Jianping, Meis JF. Plos Pathogens. [www.plospathogens.org](http://www.plospathogens.org) 9 (10); 2013.

# ANTİMİKOBAKTERİYEL DİRENÇ MEKANİZMALARI VE DUYARLILIK TESTLERİ

Nuri ÖZKÜTÜK

*Celal Bayar Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Manisa*

İlk antimikobakteriyel ilaçların keşfi ile tüberküloz (TB) tarihi dramatik olarak değişmiştir. Ancak bu ilaçların monoterapide kullanılmasıyla, kısa süre sonra bu ilaçlara karşı direnç görülmeye başlanmıştır. Daha sonra çok ilaçla tedavi hastalarda kür oranını artırıp, bulaş zincirini kırarak TB'un kontrolüne esas oluşturmuştur. Son yıllarda ise çok ilaca dirençli TB (ÇİD-TB), yaygın ilaca dirençli TB (YİD-TB) gibi antibiyotik direncinin yeni formları ortaya çıkmış ve hastalığın kontrolü tekrar tehdit altına girmiştir. ÇİD, en az izoniazid ve rifampisine karşı direnç olması durumu iken, YİD, ÇİD'e ek olarak florokinolon ve parenteral ikinci seçenek anti-TB ilaçlardan (kanamisin, amikasin, kapreomisin) birine direnç gelişmesi durumudur. Her yıl dünyada yaklaşık 500000 ÇİD-TB olgusu görülmekte ve bunların %5-7'si YİD-TB olgularından oluşmaktadır. Moleküler çalışmalardaki ilerlemeler mikobakterilerdeki ilaç direncinin ana mekanizmaları ile ilgili bilgilerimizi de artırmıştır. Bu bilgiler hem ilaç direncinin hızlı saptanması için yeni teknikler için hem de yeni ilaçlar için yeni hedeflere ışık tutacaktır.

Mikobakteriler özel hücre yapısının neden olduğu azalmış geçirgenlik sayesinde çoğu antibiyotiğe doğal olarak dirençlidir. Ayrıca dışa atım mekanizmaları, beta laktamaz enzimleri ve konaktaki fizyolojik adaptasyon mekanizmaları da doğal dirençte rol oynamaktadır. Bu durum mikobakteriyel enfeksiyonların tedavisinde kullanılacak ajanların sayısını kısıtlamaktadır.

Diğer bakterilerde kazanılmış ilaç direnci genellikle plazmidler ve transpozonlar gibi hareketli genetik elemanların horizontal transferi yoluyla olmasına rağmen, mikobakterilerde kazanılmış ilaç direncinin ana nedeni kromozomal gendeki spontan mutasyonlardır. İlaça göre değişmekle birlikte tek bir ilaç için her bir hücre bölünmesinde yaklaşık  $10^{-6}$ - $10^{-9}$  oranında mutasyon görülür. Hastalığa neden olan bakteri topluluğundaki dirençli mutantların sub-optimal ilaç tedavisi sırasında seleksiyonu ile direnç oluşur. Direnç mutasyonları, ilgili genin fonksiyonuna bağlı olarak değişik direnç mekanizmalarına neden olabilir. İlacın aktif şekle dönmesinin engellenmesi, ilaç hedefindeki değişiklikler bu mekanizmalardan bazılarıdır. Bir bakteride iki ilaç için direnç mutasyonunun görülmesi olasılığı tek bir ilaca göre iki kat daha düşüktür. Bu durum ancak mutasyonların birikimi, yani hatalı tedavilerle seleksiyona uğramış tek ilaca dirençli mutant basillerde diğer bir ilaca karşı dirençle ilişkili mutasyonların oluşması ile mümkündür. Bu durum TB'un çok ilaçla tedavi edilmesinin ana mantığıdır. Dirençle ilişkili olduğu tanımlanmış mutasyonlar tüm dirençleri açıklayamamaktadır. Mikobakterilerdeki dışa atım pompasıyla ilişkili genlerin, tanımlanmış mutasyonlardan herhangi biri olmamasına rağmen görülen dirençlerin nedenlerinden biri olabileceği bildirilmiştir.



İzoniazid (INH), *katG* geninin kodladığı katalaz-peroksidaz enziminin aktive edilen bir ön ilaştır. Aktive INH, *inhA* geninin kodladığı enoil-ACP redüktaza bağımlı-NADH'ı inhibe ederek mikobakteri hücrelerinde mikolik asit sentezini inhibe etmektedir. *katG* geninde oluşan mutasyon sonucunda INH aktif hale dönüşemez. İzoniazid direncine neden olan en sık mutasyonlardan biri de *inhA* gen bölgesindeki mutasyonlardır. Bu gen bölgelerindeki mutasyonlar INH direncinin %70- 80'ini açıklayabilmektedir. Daha seyrek olarak diğer gen bölgelerindeki mutasyonlarında INH direncine neden olabildiği gösterilmiştir. Rifampisin (RIF), *rpoB* genince kodlanan RNA polimeraz  $\beta$  ünitesine bağlanarak mRNA uzamasını inhibe etmektedir. Rifampisin dirençli izolatların %95'inde, *rpoB* geninde bulunan, "rifampin direncini belirleyen bölge"deki mutasyonlar sorumlu tutulmaktadır. Pirazinamid (PZA), *pnca* geni tarafından kodlanan pyrazinamidaz/ nikotinamidaz (PZase) enzimi ile aktif form olan pirazinoik asite dönüşmesi gereken bir ön ilaştır. Pirazinoik asit bakteriyel membran enerjisini bozarak ve membran transportunu inhibe ederek etki eder. Pirazinamid direncinden yaklaşık %70 oranında *pnca* genindeki mutasyonlar sorumludur. Etambutol (EMB) hücre duvarı arabinogalaktan biyosentezini engelleyerek etki eder. Arabinozil transferaz enzimini kodlayan *embB* genindeki mutasyonlar EMB direncinin çoğundan sorumludur. Streptomisin (SM), 16SrRNA'ya bağlanarak translokasyonun başlamasını ve böylece protein sentezini inhibe ederek etkili olmaktadır. Streptomisin direncinin genetik temeli çoğunlukla SM bağlayan bölgede değişikliklere neden olan *rrs* ve *rpsL* genindeki mutasyonlardır. Son zamanlarda 16sRNA için spesifik 7-metilguanozin metiltransferaz'ı kodlayan *gidB* genindeki mutasyonların da düşük düzey SM direnci ile ilişkili olduğu gösterilmiştir. Florokinolonlar (FQ), DNA girazı inhibe ederek etki etmektedirler. Florokinolonlara direnç, A ve B ünitelerini kodlayan *gyrA* ve *gyrB*'de mutasyonlar sonucunda gelişmektedir. Kanamisin ve amikasin için en yaygın direnç mekanizması *rrs* genindeki mutasyonlar iken kapreomisin ve viomisin direncinde daha çok 2'-O-metilasyonu için spesifik rRNA metiltransferazı kodlayan *tlyA* genindeki mutasyonlar rol oynamaktadır.

En az bir ay kemoterapi almış olguda ortaya çıkan direnç, "tedavi almış olguda ilaç direnci" (sekonder direnç) olarak tanımlanır. Daha önce tedavi almamış bir kişide görülen direnç ise "yeni olguda ilaç direnci" (primer direnç) olarak tanımlanmaktadır. Dirençli olguların çoğu uygunsuz kemoterapi sonucu görülen tedavi almış olguda ilaç direnci olgularıdır. Yeni olguda ilaç direnci ise dirençli olgulardan bulaş sonucu oluşur ve kötü TB kontrol programlarının bir göstergesi olarak kabul edilir.

Tüberküloz (TB) ve ÇİD-TB'nin erken ve doğru tanısı hastalığın kontrolünde küresel bir önceliktir. Bu nedenle her hasta için kültürde izole edilen ilk *M. tuberculosis* izolatına ilaç duyarlılık testi (İDT) uygulanmasının gerektiği kabul edilmektedir. Ancak bugün dünyada birçok laboratuvarıda halen güvenilir duyarlılık testlerine erişim mümkün olamamakta ya da 50 yılı aşkın süredir aynı yöntemler kullanılmaktadır. *M. tuberculosis*'in ilaç direncinin belirlenmesinde daha yeni yöntemlere ve yaklaşımlara gereksinim nedeni ile son yıllarda daha güvenilir, hızlı, kolay ve ulaşılabilir bir yöntem geliştirmek için uğraşmakta, yeni rehberler ve öneriler yayınlanmaktadır.

*M. tuberculosis*'in ilaç direncinin belirlenmesinde kullanılan yöntemlerden konvansiyonel fenotipik yöntemler olarak gruplandırılan, katı besiyerinde kültüre dayalı yöntemler ve sıvı besiyerinde kültüre dayalı hızlı ticari yöntemler en yaygın kullanılanlarıdır. Genotipik yöntemler

ise her geçen gün daha yaygın olarak kullanılan hızlı, fakat daha pahalı yöntemlerdir. Bunlar dışında umut vadeden daha yeni alternatif yöntemler de geliştirilmektedir.

İlaç duyarlılık testleri, yayma-pozitif hasta örneklerine (direkt test) veya kültürden elde edilmiş saf *M. tuberculosis* izolatlarına (indirekt test) uygulanabilir. Direkt test ile daha hızlı sonuç alınabilmekle birlikte kontaminasyon olasılığının yüksekliği nedeniyle kültüre dayalı yöntemlerde daha düşük bir başarı oranına sahiptir. Bu nedenle kültüre dayalı yöntemlerde indirekt test yöntemi ile çalışılması önerilmektedir.

Katı besiyerinde kültüre dayalı yöntemler (mutlak konsantrasyon yöntemi, direnç-oran yöntemi, proporsiyon yöntemi) tüm dünyada, uzun süredir yaygın olarak kullanılan, iyi standardize edilmiş yöntemler olmakla birlikte, son zamanlarda daha hızlı yöntemlerin geliştirilmesi nedeni ile kullanımları giderek azalmaktadır. Bu yöntemlerden proporsiyon yöntemi en yaygın olarak kullanılan, iyi standardize edilmiş güvenilir bir yöntemdir. Yöntem belli bir ilaç konsantrasyonunda (kritik konsantrasyon) test edilen bakteri topluluğundaki dirençli olanların oranının belirlenmesini sağlar. Bu oran %1'e (kritik proporsiyon) eşit veya daha yüksek ise test edilen izolatın o ilaca dirençli olduğu kabul edilir. Bu yöntemde Löwenstein-Jensen (LJ) besiyeri ekonomik olması nedeni ile yaygın olarak kullanılmakla birlikte, Middlebrook 7H10 veya 7H11 besiyerlerinin kullanıldığı agar proporsiyon yöntemi, uzun süredir CLSI ("Clinical and Laboratory Standards Institute") tarafından "altın standart" olarak kabul edilmektedir. Ancak, yöntemin indirekt test olarak kültür izolatından çalışılması önerildiğinden, test süresine izolasyon ve tanımlama için gereken süreler ilave edildiğinde sonuçlar 1-3 ayda bildirilebilmektedir. Oysaki birinci seçenek ilaçlara karşı duyarlılık sonuçlarının örnek kabul edildikten sonra 30 gün içinde bildirilmesi önerilmektedir. Bu amaçla CLSI ve DSÖ, bazı sıvı besiyerinde kültüre dayalı hızlı ticari sistemlerin [BACTEC MGIT 960 (Becton Dickinson, New Jersey, USA), VersaTREK (Trek Diagnostic Systems, Ohio, USA)] kullanılabileceğini kabul etmiştir.

Ticari otomatize sıvı kültür sistemlerinde İDT, *M. tuberculosis* izolatlarının kritik konsantrasyonda ilaç içeren ve içermeyen besiyerindeki üremesini karşılaştırmayı temel alan indirekt testlerdir. Üremenin sıvı besiyerinde daha hızlı olması ve cihaz tarafından otomatik olarak saptanması sayesinde bu sistemlerde İDT sonuçları katı besiyerine göre daha erken elde edilmektedir. Ancak katı besiyerinde uygulananlara oranla daha pahalı ve özel ekipman gerektiren testlerdir.

Hızlı ticari kültür sistemleri, katı besiyerine göre süreyi yarı yarıya azaltmasına rağmen (3-5 hafta), hedeflenen sürede sonuç vermek her zaman mümkün olmamaktadır. Oysa direkt klinik örnekten moleküler bir yöntemle direnci göstermek 1-2 günde mümkün olabilmektedir. Direnç saptamak amacıyla kullanılabilen moleküler yöntemlerden ters hibridizasyon (LPA, "Line Probe Assay") yöntemleri (ör; Inno-LiPA Rif TB, GenoType MTBDRplus, GenoType MTBDRsl) ve izlenebilir-PZT ("real time PCR") yöntemleri (ör; Xpert MTB/RIF) günümüzde rutin uygulamada en yaygın kullanılan yöntemlerdir. Bu yöntemler ile yayma pozitif örneklerden ve kültürde üremiş örneklerden ilaç direnci saptanabilmektedir. DNA mikroarray testleri de ticari olarak umut vaat etmektedir.

Moleküler yöntemlerin, kültürden çalışıldığında az bir üremenin çalışma için yeterli olması, direkt örnekten çalışılabilmesi, çok hızlı sonuç vermeleri ve laboratuvar güvenliği açısından daha az risk oluşturmaları gibi önemli avantajları vardır. Ancak bu yöntemler direnç ilişkili

mutasyonların saptanmasına yöneliktir ve en önemli sorun saptanan mutasyonların fenotipik direncin ne kadarından sorumlu olduğudur. Dolayısı ile ilaç direncine yol açan, bilinmeyen mutasyonların saptanamaması, ayrıca saptanan sessiz mutasyonların da fenotipik direnci göstermemesi dezavantajlarıdır. Maliyet de dezavantajlar arasında sayılmakla birlikte, günümüzde bazı moleküler testlerin maliyeti kültüre dayalı ticari yöntemlerin maliyetine yakındır.

Avantajları göz önüne alındığında, CLSI ve DSÖ belli durumlarda ilaç direncinin hızlı tanısı için moleküler yöntemlerin kullanılabileceğini onaylamıştır (LPA ve Xpert MTB/RIF için). CLSI, ilaç direnci olduğundan kuşku edilen hastalarda (daha önceye ait tedavi öyküsü olan, yüksek direnç oranına sahip ülke veya etnik gruptan olan, tedaviye iyi yanıt vermeyen, ÇİD-TB teması olan) ve geniş bir temaslı grubu olan hastalarda ilaç direncinin hızlı saptanması için yayma pozitif örnekten moleküler yöntemlerin kullanımını önermektedir. Ayrıca TDM ile karışık veya diğer bakterilerle kontamine olan *M. tuberculosis* kültürlerinden (indirekt) de moleküler yöntemlerin kullanımı önerilmektedir. Bununla birlikte CLSI'nin son rehberine göre hiçbir moleküler teknik, fenotipik duyarlılık testlerinin yerine kullanılmamalı, kültür temelli yöntemlere yardımcı olarak düşünülmelidir. Saf kültür mevcut ise kültür temelli testler uygulanmalıdır. Moleküler yöntemlerle elde edilen sonuçlar fenotipik duyarlılık testleriyle doğrulanmalıdır. Moleküler yöntem ÇİD-TB ilişkili mutasyon saptadığında, kültür temelli yöntem ile birinci ve ikinci seçenек ilaçlara duyarlılık test edilmelidir.

DSÖ tarafından ÇİD-TB'nin hızlı tanısında ticari sıvı kültür sistemlerinin ve bazı moleküler testlerin kullanımının onaylanmasına rağmen, bu testlerin maliyeti, karmaşıklığı ve ileri laboratuvar alt yapısı gerektirmesi kısıtlı kaynağa sahip çoğu yerde bu teknolojilerin uygulanmasını kısıtlamaktadır. Daha ileri altyapı ve tekniklere erişim sıkıntısı olan laboratuvarlarda kullanmak amacıyla bazı nonmoleküler alternatif yöntemler geliştirilmiştir. Bunlar arasında MODS ("microscopic observation of drug susceptibility"), NRA ("nitrate reductase assay"), CRI ("colorimetric redox indicator") yöntemleri, TLA ("thin layer agar"), ve mikobakteriyofaj temelli testler ("mycobacteriophage-based assays") hızlı ve ucuz yöntemler olarak en önde gelenlerdir. Bu teknolojileri değerlendirmek için 2009'da, DSÖ'nde toplanan bir uzman grubunun aldığı karara göre, kaynakları kısıtlı olup, ancak uygun koşulları olan yerlerde; 1- MODS ve NRA, ÇİD-TB kuşku hastaların balgam örneklerinin direkt testinde, 2- CRI yöntemleri kültürde üreyen izolatların indirekt testinde geçici bir çözüm olarak önerilmektedir. 3- ÇİD-TB kuşku hastaların tanısında hızlı test olarak TLA ve faj temelli testlerin kullanımını önermek için yeterli kanıt olmadığına karar verilmiştir. Ancak bu testlerin hiçbirinin performansının çok iyi olmadığı, bu nedenle konvansiyonel İDT'nin yine de gerekli olduğu bildirilmiştir.

Tüberküloz dışı mikobakterlerin (TDM) klinik örneklerden izolasyonu çoğu zaman klinik hastalığı göstermez. Bu nedenle TDM'lerde duyarlılık testi sadece "American Thoracic Society" (ATS) kriterlerine göre bu izolatların klinik önemi olduğuna inanıldığında düşünülmelidir. Günümüzde tüm TDM türleri için standardize edilmiş duyarlılık testi yoktur. CLSI tarafından yayınlanan son rehberde (M24-A2), yavaş üreyen TDM'lerden *M. avium* kompleks (MAC), *M. kansasii*, *M. marinum* ve hızlı üreyen mikobakteriler için duyarlılık testi önerileri verilmiştir. Diğer yavaş üreyen TDM türleri de insanlarda hastalık oluşturabilmekle birlikte, bu izolatlar için invitro duyarlılık test sonuçları ve klinik yanıt arasındaki korelasyon ile ilgili

yeterli bilgi bulunmamaktadır. Bu rehberde TDM'ler için duyarlılık testi endikasyonları ve test edilecek ilaçlar ATS rehberleri temel alınarak belirlenmiştir.

Genel olarak TDM türleri için önerilen duyarlılık test yöntemi sıvı mikrodilüsyondur. Daha nadir karşımıza çıkan TDM enfeksiyonlarında duyarlılık testi yapan laboratuvarın klinik olarak önemli mikobakterileri tanımlayabilmesi, bu testleri yapmak için yeterli bilgi ve deneyime sahip olması gereklidir. Bu nedenle TDM'lerle sık karşılaşmayan laboratuvarların hiç olmazsa referans bir laboratuvarından danışmanlık istenmesi önerilmektedir.

*Mycobacterium avium* kompleks izolatlarının İDT sonuçlarının klinikle korelasyon çalışmaları sadece makrolid grubunda (azitromisin ve klaritromisin) gösterilmiştir. Bu nedenle MAC izolatları için ilk test edilmesi önerilen ilaç sadece makrolidleri temsilen klaritromisindir. Makrolid dirençli izolatlarda moksifloksasin ve linezolid duyarlılığı araştırılabilir. Diğer ilaçların duyarlılık testi ise klinik uyumsuzluk nedeni ile önerilmemektedir. MAC izolatlarının duyarlılık testi için önerilen yöntem sıvı besiyeri temelli makrodilüsyon veya mikrodilüsyon yöntemidir. Daha önce tedavi görmemiş hastalardan izole edilen MAC izolatları makrolidlere duyarlıdır. Bu nedenle duyarlılık testinin, önceden makrolit tedavisi alan hastaların klinik olarak önemli izolatlarından, makrolit profilaksisinde iken bakteriyemi gelişen hastaların izolatlarından ve makrolit tedavisinde iken nöks gelişen hastaların izolatlarından çalışılması önerilir. Ayrıca başlangıç MİK değerlerini belirlemek için klinik olarak değerli örneklerden de İDT yapılabilir. Yaygın hastalığı olanlarda tedavinin üçüncü ayından sonra, kronik pulmoner hastalığı olanlarda tedavinin altıncı ayından sonra, klinik düzelmeye göstermiyor veya kliniği bozuluyorsa ve kültür pozitifliği devam ediyorsa duyarlılık testi tekrar edilmelidir.

Tedavi almamış hastalardan soyutlanan *M. kansasii* izolatlarında rutin duyarlılık testine genellikle gerek duyulmaz. Tedavi başarısızlığı olan veya ilaç tedavisi öyküsü bilinmeyen hastalarda duyarlılık testi önerilmektedir. Ayrıca üç aylık uygun tedavi sonrası kültür pozitifliği devam ediyorsa test tekrarlanmalıdır. *M. kansasii* izolatlarında önerilen duyarlılık test yöntemi sıvı besiyeri temelli mikrodilüsyondur. Tedavi yetersizliğinde genellikle rifampisin direnci sorumludur. Bu nedenle duyarlılık testinde ilk test edilmesi önerilen tek ilaç rifampisindir, ancak rifampisin dirençli olgularda ikinci seçenek ilaçlar da test edilmelidir.

*M. marinum* standart tedavide kullanılan ilaçlara her zaman duyarlıdır ve direnç mutasyonu gelişim riski son derece düşüktür. Bu nedenle bu tür için rutin duyarlılık testi önerilmemektedir. *M. marinum* duyarlılık testi ancak birkaç aylık tedaviye rağmen başarısız olunmuş ve kültür pozitifliği devam eden hastalarda düşünülmelidir. *M. marinum* için önerilen yöntem de sıvı besiyeri temelli mikrodilüsyondur.

Hızlı üreyen mikobakteriler için önerilen duyarlılık test yöntemi standart sıvı mikrodilüsyondur. ATS kriterlerine göre klinik olarak önemli olduğu düşünülen tüm izolatlar için duyarlılık testi endikedir. Altı aylık uygun tedavi sonrası eradikasyonda klinik başarısızlık, tür tayini ve duyarlılık testinin tekrarlanmasını gerektirmektedir.

Sonuç olarak mikobakteriyel duyarlılık testlerinin olası en güvenilir ve hızlı yöntemle çalışılması önemlidir. Ancak seçilen yöntemin doğru uygulanması ve sonuçların geciktirilmeden hemen raporlanması da laboratuvar sorumluluğudur. Sonuçlar rapor edilirken; test edilen her bir ilacın adı ve sonucun yorumu mutlaka belirtilmelidir.

## Kaynaklar

1. Abebe G, Paasch F, Apers L, Rigouts L, Colebunders R. Tuberculosis drug resistance testing by molecular methods: Opportunities and challenges in resource limited settings. *J Microbiol Methods* 2011;4: 155-60.
2. Almeida Da Silva PE, Palomino JC. Molecular basis and mechanisms of drug resistance in *Mycobacterium tuberculosis*: classical and new drugs. *J Antimicrob Chemother* 2011; 66: 1417 -30.
3. Chang K, Lu W, Wang J, et. al. Rapid and effective diagnosis of tuberculosis and rifampicin resistance with Xpert MTB/RIF assay: A meta-analysis. *Journal of Infection* 2012;64;580-8.
4. Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). *Susceptibility Testing of Mycobacteria, Nocardiae, and other Aerobic Actinomycetes; Approved Standard-Second Edition*. CLSI document M24-A2, Pennsylvania, 2011.
5. Drobniewski F, Rüsç-Gerdes S, Hoffner S. Antimicrobial susceptibility testing of *Mycobacterium tuberculosis* (EUCAST document E.DEF 8.1) Report of the Subcommittee on Antimicrobial Susceptibility Testing of *Mycobacterium tuberculosis* of the European Committee for Antimicrobial Susceptibility Testing (EUCAST) of the European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases (ESCMID). *Clin Microbiol Infect* 2007; 13: 1144-56.
6. European Centre for Disease Prevention and Control. *Mastering the basics of TB control: Development of a handbook on TB diagnostic methods*, ECDC, Stockholm, 2011.
7. Kaya NM, Saribaş Z. Mikobakterilerde Dışa Atım Pompaları ve İlaç Direnci. *Türk Mikrobiyol Cem Derg* 2012;42(3):81-4.
8. Kurbatova EV, Kaminski DA, Erokhin VV, et. al. Performance of Cepheid Xpert MTB/RIF and TB-Biochip MDR in two regions of Russia with a high prevalence of drug-resistant tuberculosis. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 2013;32:735-43.
9. Moore DAJ, Shah NS. Alternative methods of diagnosing drug resistance-What can they do for me? *J Infect Dis* 2011;204 (suppl 4): 1110-9.
10. Nathanson E, Nunn P, Uplekar M, et. al. MDR tuberculosis - critical steps for prevention and control. *N Engl J Med* 2010;363(11):1050-8.
11. O'Grady J, Mæurer M, Mwaba P, et al. New and improved diagnostics for detection of drug-resistant pulmonary tuberculosis. *Curr Opin Pulm Med*. 2011;17(3):134-41.
12. Palomino JC, Martin A, Von Groll A, et al. Rapid culture-based methods for drug-resistance detection in *Mycobacterium tuberculosis*. *J Microbiol Methods* 2008; 75(2):161-6.
13. Wilson ML. Rapid Diagnosis of *Mycobacterium tuberculosis* Infection and Drug Susceptibility Testing. *Arch Pathol Lab Med*. 2013;137:812-9.
14. World Health Organization. *Guidelines for surveillance of drug resistance in tuberculosis*. 4th ed. WHO, Geneva, Switzerland, 2009.
15. World Health Organization. *Molecular line probe assays for rapid screening of patients at risk of Multidrug-Resistant Tuberculosis (MDR-TB): policy statement*. WHO, Geneva, Switzerland, 2008.
16. World Health Organization. *Noncommercial culture and drug-susceptibility testing methods for screening patients at risk for Multidrug-Resistant Tuberculosis: policy statement*. WHO, Geneva, Switzerland, 2011.
17. World Health Organization. *Policy statement: automated real-time nucleic acid amplification technology for rapid and simultaneous detection of tuberculosis and rifampicin resistance: Xpert MTB/RIF system*. WHO, Geneva, Switzerland, 2011.
18. World Health Organization. *The Global Laboratory Initiative-Advancing TB Diagnosis. A roadmap for ensuring quality tuberculosis diagnostics services within national laboratory strategic plans*. WHO, Geneva, Switzerland, 2010.
19. Zhang Y, Yew WW. Mechanisms of drug resistance in *Mycobacterium tuberculosis*. *Int J Tuberc Lung Dis*. 2009;13(11):1320-30.

# DIŞKI PATOJENLERİNDE DİRENÇ MEKANİZMALARI VE DUYARLILIK TESTLERİ

Betigöl ÖNGEN

*İstanbul Üniversitesi İstanbul Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, İstanbul*

**A**ntibiyotiklere direnç sorunu yeni olmamakla birlikte direncin yeni formları uluslararası sınırları aşarak kıtalar arasında kolaylıkla ve olağanüstü bir hızla yayılabilmektedir (2). Bunda antimikrobiyal maddelerin kullanımı ile oluşan selektif baskı altında, bakterilerin şaşırtıcı bir çeşitlilikte direnç kazandıran gen ya da gen komplekslerini kazanmaları ve/veya mutasyon geliştirmeleri önemli rol oynamaktadır. Bilinen direnç genlerinin çoğu, plazmidler, transpozonlar, gen kasetleri ve genomik adalar gibi hareketli genetik elemanlar üzerinde yer almaktadır. Sonuçta bu tür direnç genleri, aynı ortamda (örneğin insan ve hayvan gastrointestinal kanalında) yaşayan bakteriler arasında kolaylıkla değiş tokuş edilebilmektedir. Bu açıdan bakıldığında *Salmonella*, *Shigella*, *Campylobacter* vb. gibi dışkı patojeni bakteriler direnç genlerinin alıcısı ya da vericisi olarak direncin yayılmasında önemli roller üstlenmektedirler. Günümüzde, dirençli *Salmonella* ve *Campylobacter*'ler başta olmak üzere bu grup bakterilerde özellikle tedavide kullanılan antibiyotiklere karşı gelişen direnç ilgi odağı konular arasında yer almaktadır (16).

Direncin önlenmesi ya da antibiyotik duyarlılık testlerinin doğru bir şekilde uygulanması ve yorumlanması bağlamında direnç mekanizmalarının bilinmesi önemlidir. Çok sayıda dışkı patojeni bakteri olması, bu bakterilerde görülen direncin farklı antibiyotiklere karşı farklı mekanizmalarla ortaya çıkabilmesi (dolayısıyla bu yazının sınırlarını aşan bir çeşitlilikte olması) nedeniyle bu yazıda direnç sorununun öne çıktığı *Salmonella* ve *Campylobacter* türlerinin özellikle tedavide kullanılan antibiyotiklere karşı geliştirdiği direnç mekanizmalarından söz edilecek ve duyarlılık deneyleri anlatılacaktır.

## Direnç Mekanizmaları

### *Salmonella* spp.'de Antibiyotik Direnci ve Direnç Mekanizmaları

*Salmonella* spp., gastroenterit, tifo, paratifo ve son yıllarda sıklıkla bildirilmeye başlanan invaziv enfeksiyonları nedeniyle dünyada önemli bir halk sağlığı sorunu olmaya devam etmektedir (18). Gelişmekte olan ülkelerde özellikle sahra-altı Afrika ülkelerinde invaziv tifo dışı *Salmonella* (TDS) enfeksiyonları bebeklerde, küçük çocuklarda ve HIV enfeksiyonu olan genç yetişkinlerde sorun oluşturmaya başlamış ve bu bölgede bakteriyeminin en sık nedeni haline gelmiştir (9,18). *Salmonella* gastroenteriti genellikle kendini sınırlayan bir hastalıktır ve çoğunlukla antibiyotik tedavisine gerek duyulmaz. Bununla birlikte invaziv veya ciddi seyirli TDS enfeksiyonları ile tifo için antibiyotik tedavisi kritik öneme sahiptir (3,18,19,27).

*S. enteritidis* ve *S. typhimurium* dünyada genel olarak insandan en sık izole edilen serovarlardır. *S. choleraesuis*, *S. dublin* ve *Virchow* ise diğer serovarlara göre invaziv hastalık oluşturmaya daha meyillidir (18,27). *S. typhi* enfeksiyonlarında kullanılan antibiyotikler ciddi seyirli TDS enfeksiyonları için de kullanılmaktadır (9).

*Salmonella spp.*'de "eski" (geneksel) antimikrobiallerden kloramfenikol, ampisilin ve trimetoprim-sulfametoksazole direnç önemli ölçüde artmıştır. Bazı bölgelerde direnç %70'lere ulaşmıştır ve çoklu direnç karşısında yaygın olarak florokinolonlar kullanılmaya başlanmıştır. Siprofloksasin ve ofloksasin gibi florokinolonlar ve seftriakson sefotaksim gibi geniş spektrumlu sefalosporinler tedavide etkili alternatif ilaçlar olmakla birlikte bu antibiyotiklere de direnç gelişmiştir. *Salmonella* suşları arasında florokinolon direncinin ortaya çıkması bazı ülkelere kaygı verici boyutlardadır. Özellikle Taiwan'da *S. Choleraesuis* suşlarında 2000 yılında ortaya çıkan florokinolon direnci hızla artarak 2003'de yaklaşık %70'lere ve 2006'da %96'ya ulaşmıştır. Son zamanlarda siprofloksasine azalmış duyarlılık gösteren suşlarda tedavi başarısızlıkları da bildirilmeye başlamıştır (18). G. Afrika'da invaziv enfeksiyona yol açan *Salmonella* serotipleri (TDS)'nin sıklıkla hem GSBL oluşturduğu hem de florokinolon direnci göstermesi tedavide (CLSI önermesi de) karbapenem veya azitromisin kullanımını gündeme getirmiştir (9,11).

Direnç, *Salmonella* serovarlari arasında farklılıklar gösterebilmektedir. *S. enteritidis* genellikle antimikrobiyal maddelere daha duyarlı iken *S. typhimurium*'un daha dirençli olduğu bildirilmektedir. *S. typhimurium*'da gözlenen daha yüksek orandaki antimikrobiyal direncinin nedenlerinden biri 1990'ların başlarında ABD ve Avrupa'da belirli bir faj tipinden (DT104) çoğul dirençli bir suşun ortaya çıkması olabilir. ACSSuT direnç fenotipindeki bu suş beş antimikrobiyale [ampisilin (A), kloramfenikol (C), streptomisin (S), sulfonamid (Su) ve tetrasiklin (T)] birden dirençlidir. 1990'ların ortalarında ACSSuT fenotipindeki suşlar İngiltere'de insandan izole edilen *Salmonella*'lar içinde en sık olarak, *S. enteritidis* PT4 suşları ise ikinci en sık olarak bildirilmiştir. 1997-98'de ABD'de Ulusal Antimikrobiyal Direnç İzleme Sistemi (NARMS) verilerine göre ACSSuT direnç fenotipindeki *S. typhimurium* suşlarının %65'inin DT104 faj tipinde olduğu saptanmıştır. *Salmonella*'da artan antimikrobiyal direnci ile ortaya çıkan problemler içinde sadece antimikrobiyal tedavide karşılaşılan güçlüklerden değil aynı zamanda bu bakterinin duyarlı suşlara göre ciddi seyirli hastalık oluşturmaya meyilli oluşundan da söz edilmektedir (19,26).

### **Florokinolonlara Direnç Mekanizmaları**

Kinolonların hedefi DNA giraz (*gyrA* ve *gyrB*) ve topoizomerez IV (*parC* ve *parE*)'tür. Bu enzimler ortak hareket ederek bakteriyel DNA replikasyonu, transkripsiyon, rekombinasyon ve DNA'nın tamirinde rol oynarlar (28). Bu etki mekanizması bir florokinolona direnç geliştiğinde diğer florokinolonlara da direnç geliştirebileceğini düşündürmelidir (3). *Salmonella*'da kinolonlara direnç gelişiminde bugüne kadar tanımlanmış üç önemli mekanizma vardır: 1. hedefin inaktivasyonu, 2. antibiyotikğin pompalanması ve 3. plazmitle ilişkili direnç.

1. Florokinolonun hedefinin inaktivasyonu: *Salmonella*'da kinolon direnci başlangıçta kinolonların birincil hedefi olan DNA ile kompleks oluşturan giraz enziminin A alt ünitesini kodlayan *gyrA* genindeki nokta mutasyonları ile ilişkilendirilmiştir (3,12). *gyrA*'nın direnç mutasyonları genellikle "kinolon direncini belirleyen bölge (QRDR)" olarak adlandırılan 67-106. aminoasitlerin arasındaki gen ürünü bölgede meydana gelir (3,16,19). Hedef genlerdeki modifikasyonlar

bakteriyi kinolonların etkisinden korur (19). Ser-83 (fenilalanin, tirozin veya alanine) veya Asp-87 (glisin, asparajin veya tirozine)'de aminoasit değişiklikleri nalidiksik aside dirençli suşlarda en sık gözlenen mutasyonlardır (3,12,19). Florokinolonlara yüksek düzey direnç gösteren *S. Typhimurium* DT204 suşlarında bu bölgede (83 ve 87) ikili mutasyonlar da bildirilmiştir (12,16). Bu ikili mutasyonların (Ser-83 alanine ve Asp-87 asparajine) birçok izolatta aynı bulunması suşların klonal ilişkisini de düşündürmektedir (16). Diğer sıklıkla saptanan mutasyon bölgeleri girazın B alt ünitesini kodlayan *gyrB*de 464. kodon (serin fenilalanine), *parC*de 57. kodon (treonin serine), 80. kodon (serin izolösin veya arjinine), 84. kodon (glutamik asit lizine)dur. Yakın zamanda *parE*de de çeşitli kodonlarda mutasyonlar bildirilmiştir (3,16,19).

Florokinolon direncinin özelliği basamaklı olarak gelişmesidir. Yukarıda belirtilen mutasyon bölgelerinin herhangi birinde oluşan tek bir mutasyon nalidiksik aside dirence, florokinolonlara ise sadece azalmış duyarlılığa neden olabilir. Florokinolonlara tamamen direnç aynı anda ikili veya daha fazla mutasyon mevcut olduğunda ortaya çıkar (19).

2. Antibiyotigin pompalanması: Yüksek düzey florokinolon direncinin gelişmesi için ayrıca hedef gendeki mutasyonlarla birlikte aktif pompa sistemlerinin (AcrAB-TolC) aşırı üretilmesi (mutasyonlara eşlik etmesi) gereklidir (12,19). Gerçekten de *S. Typhimurium* DT204 suşlarında AcrAB-TolC kodlayan genlerin inaktivasyonu florokinolonlara direnç düzeyinin 16-32 kat azalması ile sonuçlanmıştır. Benzer sonuçlar, aktif pompa inhibitörü Phe-Arg-β-naftilamit kullanılarak da elde edilmiştir (12). Ayrıca, diğer *Enterobacteriaceae* üyelerinde olduğu gibi *Salmonella*'da da *marRAB* ve *soxRS* olarak adlandırılan iki regülatör sistemi çoğul antibiyotik direnci ile ilişkili bulunmuştur. *marA* ve *soxS* genleri AcrAB-TolC pompa sistemini düzenleyen homolog proteinleri kodlar; *marR* ve *soxR* genleri ise sırasıyla *marA* ve *soxS* genlerinin ifadesini baskılayan represör proteinleri kodlar. MarA ve SoxS ayrıca major bir porin olan OmpF sentezinin redüklenmesinden sorumlu olan *micF* üretimini düzenleyerek dış membran geçirgenliğinde azalmaya yol açar ve böylece florokinolonlar dahil bir çok antibiyotiğe direnç artar (19).

3. Plazmitle ilişkili direnç: Hedef enzimleri kodlayan genlerdeki (*gyrA/gyrB* ve *parC/parE*) kromozomal mutasyonlar ve pompa sistemleri yoluyla gelişen geleneksel direnç mekanizmalarına ek olarak son zamanlarda plazmit aracılı kinolon direnci gündeme gelmiş ve her geçen gün yeni aktarılabilen kinolon direnç mekanizmalarına yenileri eklenmeye başlamıştır. Bu direnç mekanizmaları kinolonun hedefini koruyucu özellikteki QNR proteinlerini (QnrA QnrS, QnrB QnrC, QnrD, QnrVC), bazı florokinolonların modifikasyonuna yol açan bir asetiltansferazı (AAC(6)-Ib-cr) ya da aktif pompaları kodlayan (QepA veya OqxAB) farklı genler tarafından sağlanmaktadır (16,21,27).

*S. enterica*'da plazmitle ilişkili kinolon direncinin ortaya çıkması bu direncinin suşlar arasında horizontal transferine yol açabilmesi nedeniyle halk sağlığı açısından risk oluşturmaktadır. Ayrıca söz konusu plazmitlerin diğer önemli direnç genleri (beta-laktamazlar gibi) ile birlikte aktarılabildiği gösterilmiştir (16,27). Plazmid aracılı kinolon direnci hızla yayılmış ve bugün Avrupa, ABD, Afrika ve Asya'da birçok ülkede ortaya çıkmıştır (10,21,27).

### **Geniş Spektrumlu Beta-Laktamlara Direnç Mekanizmaları**

Üçüncü kuşak sefalosporinler invaziv *Salmonella* enfeksiyonlarının tedavisinde (özellikle kinolon kullanımının önerilmediği çocuk ve adolesanlar için) seçilecek ilaçlardır (19,27). *E. coli* ve *K. pneumoniae* gibi diğer *Enterobacteriaceae* bakterileri ile karşılaştırıldığında



*S. enterica* suşlarında GSBL'lere daha az sıklıkta rastlanmakla birlikte son yıllarda giderek artan sayıda GSBL oluşturan *Salmonella* suşları bildirilmektedir (12).

Bu direncin başlıca mekanizmalardan biri geniş spektrumlu sefalosporinleri hidrolize eden enzimlerin üretilmesidir. Moleküler analizler sonucunda bu tip direncin daha çok *bla*<sub>CMY-2</sub> ve *bla*<sub>CTX-M-3</sub> genleri ile ilişkili olduğu ve plazmitle aktarıldığı gösterilmiştir (19).

2002 yılında çok korkulan bir durum ortaya çıkmış ve hem seftriaksona hem de siprofloksasine dirençli bakteriyemi etkeni bir *S. Choleraesuis* suşu bildirilmiştir (4). Bu suşta da seftriakson direncine plazmid aracılı *bla*<sub>CMY-2</sub> geninin yol açtığı gösterilmiştir (19). *bla*<sub>CMY-2</sub> genellikle ISEcp1-*bla*<sub>CMY-2</sub>-*blc-sugE* yapısında olan transpozon benzeri bir DNA elemanının üzerinde yer almaktadır. Sonradan Tn6092 olarak adlandırılan bu korunmuş DNA fragmanının farklı coğrafi bölgelerde çeşitli *Salmonella* serotipleri ve *Enterobacteriaceae* ailesinin diğer üyeleri arasında yaygın olduğu bildirilmiştir. Son zamanlarda Tn6092'nin konjugatif IncI1 plazmidinde taşındığı gösterilmiştir ve tifo dışı *Salmonella* serotipleri arasında özellikle *S. typhimurium* suşlarında yaygın olduğu belirtilmiştir. Bugün *Salmonella*'da seftriakson direnci özellikle Asya ülkelerinde büyük sorun oluşturmaktadır (3).

Şimdiye kadar *Salmonella*'da saptanan ve çeşitli genler tarafından kodlanan farklı gruplardan beta-laktamaz enzimleri içinde TEM-, SHV-, PSE-, OXA-, PER-, CTX-M-, CMY-, ACC, DHA-, veya KPC-türü beta-laktamazlar sayılabilir (1,16). *Salmonella spp.*'de saptanan beta-laktamazlara ilişkin örnekler aşağıda verilmiştir.

**TEM-tipi b-laktamazlar**'dan *bla*<sub>TEM-1</sub> ve *bla*<sub>TEM-135</sub> genleri tarafından kodlanan sınıf 2b'de yer alan (geniş spektrumlu penisilinazları temsil eden) beta-laktamazlar tanımlanmıştır. *bla*<sub>TEM</sub> (-3, -4, -20, -27, -52, -63, -131) gibi *Salmonella*'da bildirilen diğer *bla*<sub>TEM</sub> genleri Sınıf 2be'de yer alan ve genişlemiş spektrumlu beta-laktamazları kodlayan (oksiimino sefalosporinleri ve monobaktamları da inaktive eden) genlerdir. *Salmonella*'da bulunan **SHV-tipi beta-laktamazlar** GSBL'dir. Bu gruptan bildirilen sorumlu genlerden bazıları *bla*<sub>SHV-2</sub>, *bla*<sub>SHV-2a</sub>, *bla*<sub>SHV-3</sub>, *bla*<sub>SHV-9</sub> ve *bla*<sub>SHV-12</sub> 'dir. CARB-2 beta-laktamaz olarak da bilinen **PSE-1 beta-laktamaz** karbenisilini hidrolize eden bir penisilinazdır. Kaset kaynaklı *bla*<sub>PSE-1</sub> geni SGI1 (*Salmonella* genomik adası 1) içindeki çoğul direnç gen kümesi içinde yer alır. Dolayısıyla bu gen en sık olarak SGI1 bulunan *Salmonella* suşlarında saptanmaktadır. Bununla yakın ilişkili bir gen olan *bla*<sub>CARB-8</sub> geni çoğul direnç sağlayan bir integrondaki gen kasetinde saptanmıştır. *Salmonella*'da oksasilin ve kloksasiline karşı artmış aktivite gösteren çeşitli **OXA-tipi beta-laktamazlar** da saptanmıştır. Bunlar arasında *bla*<sub>OXA-1</sub>, *bla*<sub>OXA-2</sub>, *bla*<sub>OXA-9</sub>, *bla*<sub>OXA-10</sub> (önceden *bla*<sub>PSE-2</sub>, *bla*<sub>OXA-30</sub> ve *bla*<sub>OXA-53</sub> olarak bilinen) yer almaktadır. Bu *bla*<sub>OXA</sub> genleri de genellikle kaset kaynaklı genlerdir. *Salmonella*'da PER-1 ve PER-2 olmak üzere iki tip **PER beta-laktamazı** tanımlanmıştır. Bu beta-laktamazları kodlayan *bla*<sub>PER-1</sub> ve *bla*<sub>PER-2</sub> genleri genellikle çoğul direnç sağlayan plazmitler üzerinde bulunmaktadır. Bugün tamamı GSBL olan **CTX-M beta-laktamazların** geniş bir yelpazede olduğu bilinmektedir. *Salmonella*'da, bu enzimleri kodlayan *bla*<sub>CTX-M-2</sub><sup>3, 4, 5, 6, 7, 9, 14, 15, 17, 18, 27, 28, 32</sup> genleri saptanmıştır. *Salmonella*'da CMY-, AAC- ve DHA-beta-laktamazlar gibi farklı grup **AmpC beta-laktamazlar** da tanımlanmıştır. Bu enzimler karbapenemler hariç tüm beta-laktamları hidrolize edebilen sefalosporinazlardır. Üç farklı tipte CMY beta-laktamazı saptanmıştır; *bla*<sub>CMY-2</sub> geni *Salmonella enterica* subsp *enterica* serovarları içinde en yaygın olanıdır. Diğer iki *bla*<sub>CMY</sub> geni *bla*<sub>CMY-4</sub> ve *bla*<sub>CMY-7</sub> genleridir. *Salmonella*'da diğer iki gruptan saptanan genler

*bla*<sub>ACC-1</sub> ve *bla*<sub>DHA-1</sub> 'dir. Son olarak, *Salmonella* izolatlarında KPC sınıfı enzimlerin ilk temsilcisi olarak bir serin-karbapenemaz olan KPC-2-(Bush grubu 2f) bulunmuştur. Ayrıca aynı suşta iki ya da üç farklı tipte beta-laktamazları kodlayan *bla* genleri bulunabilmektedir (16).

*bla* genlerinin plazmitler üzerinde bulunması yanında mutasyonel değişikliklere uğraması sonucu substrat özgüllüğü ve dolayısıyla spektrumunun da değişebilmesi ve kolaylıkla geniş spektrumlu etkiye sahip olabilmeleri önem taşır (16).

### **Diğer Bazı Antibiyotiklere Direnç Mekanizmaları**

Karbapenemler, siprofloksasin ve seftriaksona dirençli *Salmonella*'nın neden olduğu invaziv enfeksiyonların tedavisinde son seçenek antibiyotiklerdendir. Ancak, 2010 yılında idrar yolu enfeksiyonu olan bir hastadan karbapeneme dirençli *S. Typhimurium* izole edilmiştir. Bu hastadan izole edilen seftriaksona dirençli suşun başlangıçta konjugatif Incl 1 plazmidini taşıdığı ve *bla*<sub>CMY-2</sub> genini barındıran Tn6092'yi taşıdığı, ayrıca orijinal OmpD defektine ek olarak ertapenem tedavisi sırasında OMPC kaybının da geliştiği ve bu nedenle karbapeneme dirençli hale geldiği bildirilmektedir (3).

*Salmonella*'da aminoglikosid antibiyotiklere direnç aminoglikozid fosfotransferazlar, aminoglikozid asetiltransferazlar ve aminoglikozid adeniltransferazlardan oluşan aminoglikozid modifiye eden enzimlerle ilişkilidir. *aphA*'nın kodladığı aminoglikozid fosfotransferaz kanamisin direncinden sorumludur; *aacC* tarafından kodlanan aminoglikosid asetil transferaz gentamisin direncine neden olmaktadır. *aadA* ve *aadB* genlerinin kodladığı aminoglikosid adeniltransferazlar sırasıyla streptomisin ve gentamisin direnci ile ilişkilidir. Antibiyotiklerin inaktivasyonuna ek olarak, diğer bir direnç mekanizması hedef değişikliği ile ilişkilidir (12).

### **Campylobacter Jejuni / Coli'de Antibiyotik Direnci ve Direnç Mekanizmaları**

Antibiyotiklerin insanda gelişigüzel kullanılmasının yanında hayvancılıkta (özellikle tavuk yetiştiriciliğinde) tedavi amaçlı veya büyüme faktörü olarak da kullanılması başta florokinolonlar olmak üzere antibiyotiklere dirençli *Campylobacter* enfeksiyonlarında önemli bir artışa yol açmıştır. Kanatlılarda mevcut direnç paternlerinden insandaki direnç paternlerinin öngörülebileceğine dair yeteri kadar kanıt mevcuttur ve bu en iyi florokinolon antibiyotiklerde gösterilmiştir. Tüm *Campylobacter* enfeksiyonları tedavi gerektirmemesine rağmen akut ishal birçok durumda ampirik florokinolon ile tedavi edilmekte ve bu da büyük olasılıkla daha sonra florokinolon direncinin ortaya çıkmasına katkıda bulunmaktadır (13). Dünya'da *Campylobacter* izolatları arasında florokinolon direncinde sürekli bir artış kaydedilmektedir. ABD'de insandan izole edilen *Campylobacter* suşlarının % 19-47'si, Avrupa'da insan ve hayvanlardan izole edilen suşların %17-99'u florokinolonlara dirençli bulunmuştur. Florokinolonlara dirençli suşlar özellikle Afrika ve Asya'da yaygın hale gelmiştir. Her iki kıtada da 1993 yılından beri florokinolonlara dirençli *Campylobacter* suşlarının sıklığı bariz bir şekilde artarak Tayland ve Hong Kong'da %80'leri aşmıştır (17). Dolayısıyla *Campylobacter*'de florokinolon direnci klinik olarak büyük endişe kaynağı haline gelmiştir (13).

Makrolid direnci ise bugün için ABD, Avrupa, Asya ve Avustralya'da insandan izole edilen *Campylobacter* suşlarında düşük olup henüz stabil seyretmektedir. Sürveyans bilgilerine dayanarak genellikle *C. coli* suşlarının *C. jejuni* suşlarına göre makrolidlere daha dirençli olduğu söylenebilir. Ayrıca özellikle hayvan kaynaklı *C. coli* suşlarının makrolidlere direnç oranlarının ABD'de %40'ları aşması, Avrupa'da ve Asya'da daha da yüksek oranlara ulaşabilmesi düşündürücüdür (17).

## Florokinolonlara Direnç Mekanizmaları

*Campylobacter*'de florokinolon direncine neden olan tanımlanmış iki önemli mekanizma vardır: İlki florokinolonun hedefinin inaktivasyonu, ikincisi ise antibiyotiğin pompalanmasıdır. Bu iki mekanizma birlikte sinerjistik olarak çalışır (13).

1. Florokinolonun hedefinin inaktivasyonu: Daha önce belirtildiği gibi genelde florokinolonların DNA giraz (*gyrA* ve *gyrB*) ve topoizomeraz IV (*parC* ve *parE*) olmak üzere hücre içi iki enzimatik hedefi vardır. Ancak, *C. jejuni* ve *C. coli*'de *parC* ve *parE* genlerinin olmadığı gösterilmiştir. *C. jejuni* ve *C. coli*'de florokinolon direnci, *gyrA* geninin kinolon direncini belirleyen bölgesinde (QRDR) belirli nokta mutasyonları [en sık Thr-86-İle (C257T)] aracılığıyla gerçekleşir (13,28). *gyrA*'daki tek bir mutasyon yüksek düzeyde naldiksik asit ve florokinolon direncine yol açabilmektedir. Bu durum, yüksek düzey dirence ulaşılabilmesi için QRDR'de basamaklı olarak birkaç nokta mutasyonun gerçekleşmesini gerektiren *Escherichia coli* veya *Salmonella*'daki florokinolon direncinden farklıdır (13). İlginç olarak daha az rastlanan Thr-86-Ala mutasyonu sadece yüksek düzey naldiksik asit direncine yol açarken florokinolon direncine neden olmaz. *gyrA*'da ikili mutasyonlar (Asp85Tyr ile Asp90Asn veya Pro104Ser) da bildirilmiştir (28).

Yüksek düzey direnç için sadece tek bir nokta mutasyonu gerekli olduğundan olasılıkla florokinolon dirençli mutantlar hem hayvanlarda hem de insanlarda hızlı bir şekilde ortaya çıkabilmektedir. *gyrA*'da daha az görülen Asp-90-Asn ve Ala-70-Thr mutasyonları orta düzey florokinolon direncine neden olmaktadır. *gyrB*'de de mutasyonlar bildirilmiştir ancak bu mutasyonlar florokinolon direncine yol açmazlar (13).

2. Antibiyotiğin pompalanması: Florokinolon direncine (ve ayrıca makrolidler ve diğer çeşitli antibiyotiklere) yol açan diğer mekanizma kromozomal olarak kodlanan CmeABC atım pompası aracılığı ile ilacın dışarı atılmasıdır (13,28). Böylelikle florokinolon ve diğer birçok antibiyotiğin hücre içi konsantrasyonu azaltılmış olur. CmeABC, *cmeC* tarafından kodlanan bir dış membran proteini, *cmeB* tarafından kodlanan bir iç membran ilaç taşıyıcı (transporter) ve *cmeA* tarafından kodlanan CmeB ve CmeC arasında köprü oluşturan bir periplazmik protein olmak üzere üç bileşenden oluşmaktadır. *C. jejuni*'de toplam 14 olası atım pompası tanımlanmıştır ancak çoğu fonksiyonel olarak karakterize edilmemiştir (13).

Pompa yüksek düzey florokinolon direncinin oluşmasında *gyr* mutasyonları ile uyum içinde hareket eder. Örneğin, sadece DNA giraz mutasyonları taşıyan suşlarda orta düzeyde florokinolon direnci görülürken beraberinde CmeABC de ifade edildiğinde yüksek düzeyde bir direnç ortaya çıkar. Gram-negatif bakterilerde klinik açıdan anlamlı bir dirence yol açabilmesi için aşırı ifade edilmesi gereken diğer pompa mekanizmalarından farklı olarak CmeABC'nin bazal düzeyde ve konstitütif ifadesi florokinolon direncine aracılık etmesi için yeterlidir (13).

CmeABC'nin inaktivasyonu ile *Campylobacter*'in intrinsik olarak dirençli olduğu antibiyotikler de dahil olmak üzere çeşitli antibiyotiklere daha duyarlı hale gelmesi, CmeABC'nin hem intrinsik hem de kazanılmış dirençte anahtar rolü oynadığını göstermektedir. Ayrıca, *GyrA*'da mutasyonlar olsa bile atım pompası bloke edildiğinde siprofloksasin için MİK değerlerinin duyalı suşların seviyesine indiği bildirilmiştir (28). Yakın zamanda CmeG olarak adlandırılan bir atım pompası daha tanımlanmıştır (13).

## Makrolidlere Direnç Mekanizmaları

Makrolid antibiyotikler ve yakın ilişkili ketolidler bakteriyel protein sentezini inhibe eden büyük moleküllerdir (MW > 700). *Campylobacter* infeksiyonlarının tedavisi için tercih edilen makrolid antibiyotik eritromisindir. Klaritromisin, azitromisin, telitromisin de bu grupta yer alırlar. Tilosin, ve tilmikosin ise sadece veteriner alanda kullanılan makrolidlerdir (13).

Makrolidler bakteri ribozomlarının 50S alt ünitesindeki P bölgesine reversibl olarak bağlanarak protein sentezini inhibe ederler. *Campylobacter*'de makrolid direnci üç temel mekanizmayla ortaya çıkmaktadır: 1. hedef modifikasyonu, 2. pompa aktivitesi ve 3. membran permeabilitesinde değişiklik. İlk iki mekanizma sinerjistik olarak hareket ederek yüksek düzey makrolid direncine yol açarlar. Makrolid direncinde rol oynayan dördüncü bir mekanizma olan makrolidlerin enzimatik modifikasyonu *Campylobacter*'de bildirilmemiştir (13).

1. Hedef modifikasyonu: 23S rRNA'nın 2058 ve 2059 pozisyonundaki nükleotidler makrolidin ribozoma bağlandığı kilit temas bölgeleridir. Makrolidin bağlanması ribozomda yapısal değişikliklere neden olur ve peptid zincirinin uzaması durur. *Campylobacter* kromozomu 23S rRNA geninden üç kopya içerir (28). Eritromisine dirençli suşlarda genellikle tüm kopyalar makrolid direnci ile ilişkili mutasyonları taşırlar. *Campylobacter*'de 23S rRNA geninin (*rrnB* operonu) her üç kopyasında da (genin V domaininin peptidil kodlayan bölgesinde) 2074 ve 2075 pozisyonlarında meydana gelen baz yer değişiklikleri (A2074C, A2074G ve A2075G) yüksek düzey eritromisin direncinde saptanan en yaygın nokta mutasyonlarıdır (13,28). Ancak, makrolidler için MİK'i düşük bulunan bazı suşlarda kopya genlerden sadece ikisinin mutasyona uğradığı belirlenmiştir (gen dozu etkisi). 23S rRNA'da sadece tek mutasyon taşıyan suş saptanmamıştır. Eritromisine direnç söz konusu ise [linkosamid (örneğin, klindamisin) ve streptogramin gruplarından antibiyotiklerin yanı sıra] azitromisin ve klaritromisin gibi diğer makrolidlere de çapraz direnç gelişeceği unutulmamalıdır. Makrolidlere direnç ribozomal proteinlerin (L4 ve L22) modifikasyonundan da kaynaklanabilir. L4 ve L22 modifikasyonlarının gerçek rolü tam anlaşılmış olmamakla birlikte düşük düzey makrolid direnci ile ilişkili olabileceği bildirilmektedir (28).

*Campylobacter*'de makrolid direncinin gelişmesi için oluşan bariyerin florokinolon direnci için olandan çok daha yüksek olduğu söylenebilir. Tedavide makrolid antibiyotiklerin (florokinolon antibiyotikler ile karşılaştırıldığında) tercih edilen ilaçlar olmasında etkinliğinin dışındaki en önemli iki kriter makrolid direnci gelişmesi için hem ilaca maruz kalma süresinin daha uzun olması hem de spontan mutasyon oranının düşük (yaklaşık  $10^{-10}$ /hücre) olmasıdır (13).

2. Antibiyotığın pompalanması: *Campylobacter* suşlarında yüksek düzey makrolid direncinin oluşmasında pompa aktivitesi ve mutasyonların karşılıklı etkileşimi önemlidir (28). 23S rRNA mutasyonu bulunmayan makrolid dirençli suşlarda CmeABC'nin deneysel olarak inaktive edilmesi sonucunda suşun tekrar duyarlı hale geldiği bildirilmiştir. CmeG aktif pompasının da makrolid direncinde rolü vardır (13).

3. Membran permeabilitesinde değişiklik: Makrolid direnci için üçüncü bir mekanizma kromozomal *porA* tarafından kodlanan majör dış membran porininin (MOMP) ifade edilmesi yoluyla dış membran permeabilitesinin değiştirilmesidir (13).

## Tetrasikline Direnç Mekanizmaları

*Campylobacter*'in tetrasiklin direnci geliştirmesinde tetrasiklinin ribozomal hedefinde değişiklik ve dışa atım mekanizması olmak üzere iki mekanizma rol oynar(13).

Tetrasiklin bakteri sitoplazması içine girdikten sonra reversibl olarak ribozomun 30S alt birimine bağlanır. Bu bağlanma ile aminoasil tRNA'nın ribozomal A bۆlgesine bağlanmasını ۆnleyerek protein sentezini bloke eder. Tetrasikline direncin temel mekanizması bakterinin ribozomları koruyan proteinleri [RPP (Ribosomal protection protein)] kodlamasıdır. *Campylobacter*'de de TetO proteini ribozomal A bۆlgesine bağlanarak ribozomları koruma altına alır. *tetO* geni esas olarak aktarılabılır plazmitler üzerinde [*C. jejuni*'de (pTet) ve *C. coli*'de (pCC31)] kodlanmaktadır; kromozomda da kodlanabilir (13). *Campylobacter*'de *tetO* dışında başka bir *tet* direnç genii bulunmamıştır (28).

Tetrasiklinlere yۆksek dۆzey dirençte *tetO* rol oynamakla birlikte atım pompalarının da bu dirence katkısı bۆyۆktür. Atım pompası genetik olarak (*cmeB*, *cmeG* genleri) inaktive edilen suşlarda mutant suşun daha duyarlı hale geldiği gۆsterilmiřtir (13).

## Aminoglikozitlere Direnç Mekanizmaları

Aminoglikozitler bilindiği gibi protein sentezi inhibitۆrleridir. *C. jejuni*'de aminoglikozit direncinin temel mekanizması genellikle plazmit kaynaklı aminoglikozit modifiye eden enzimlerdir. Aminoglikozit direnci ۆnce *C. coli*'de saptanmış olup direnç daha ۆnce streptokok ve stafilokokta kanamisin direncine yol açtığı bildirilen bir 3'aminoglikozit fosfotransferaz enzimi (*aphA-3* tarafından kodlanan) ile ilişkili bulunmuştur. Daha sonra *aphA-3* aminoglikozit dirençli *Campylobacter*'de en sık rastlanan gen olmuştur. *aphA-3* kimi suşlarda bir insersiyon sekansı (IS607) üzerinde yer almaktadır. Diğer bir kısım suşta *aphA-3* streptomisin (*aadE* tarafından kodlanan bir 6'-adenil transferaz) ve streptomisin direncini (*sat* tarafından kodlanan bir asetil transferaz) kodlayan genlerle birlikte bulunmuştur. *Campylobacter*'in bu genleri horizontal transfer yoluyla kazandığı bildirilmektedir. Suşların bir kısmında *tetO* ile birlikte çeşitli aminoglikozid direnç genleri ve insersiyon ya da transpozon sekansları taşıyan mozaik plazmitler bulunabilmektedir. Bۆyle plazmitlerin duyarlı *C. jejuni*'ye aktarılması sonucunda çoğul dirençli suşların ortaya çıkmasına neden olacağı ve hem veterinerlikte hem de tıpta klinik sorun yaratabileceği bildirilmektedir. Plazmitlerde *aphA-1* ve *aphA-7* gibi kanamisine direnç kazandıran diğer genler de saptanmıştır. *aphA-7*'nin (horizontal olarak kazanıldığı dۆřünülen *aphA-3*ve *aphA-1*'in aksine) *Campylobacter*'de intrinsik olarak bulunduğu dۆřünülmektedir. *C. coli*'de streptomisin direncine yol açan, *rpsL* tarafından kodlanan ribosomal S12 proteinindeki bir mutasyonla ilgili tek bir bildiri bulunmektedir; benzer bir mutasyon *C. jejuni*'de bildirilmemiştir. Aminoglikozid direncine pompa sisteminin katkısı henۆz net değildir (13).

## Duyarlılık Testleri

Gۆnümüzde yoğun çalışmalara rağmen hem aynı ۆlke içinde hem de farklı ۆlkeler arasında antibiyotik duyarlılık testi yۆntemleri ve yorumlama kriterleri açısından bir standardizasyon sorunu olduğu sۆylenebilir. ABD Klinik ve Laboratuvar Standartları Enstitۆsü (CLSI)'nin standartları olasılıkla dۆnyada en yaygın kullanılan standartlar olmakla birlikte mevcut bazı sorunların

olması nedeniyle son yıllarda Avrupa Antimikrobik Duyarlılık Testleri Komitesi (EUCAST)'nin oluşturduğu yeni sınır değerler gündeme gelmiştir. Kimi ulusal düzeyde antibiyotik komiteleri de bulunmakla birlikte halen çoğu ülke test sonuçlarının yorumlanması için CLSI'nin kriterlerini veya EUCAST'ın belirlediği epidemiyolojik sınır değerleri (ECOFF) gibi diğer kriterleri ya da antimikrobiyale bağlı olarak CLSI ve EUCAST'ın klinik sınır değerlerini kombinasyon halinde kullanır hale gelmiştir (8). Bu nedenle bu yazıda iki büyük antibiyotik standartları komitesinin (CLSI ve EUCAST) farklı ya da benzer kriterleri birlikte değerlendirilmiştir.

## **Salmonella (ve Shigella spp.) İçin Duyarlılık Testleri**

### **1. CLSI Kriterleri**

*Salmonella* ve *Shigella* türlerinin duyarlılık testleri için test koşulları, kalite kontrol standartları ve zon çapı ile MİK yorumlama standartları CLSI'nin *Enterobacteriaceae* tabloları içinde incelenmektedir. Ancak bu bakteriler için özellik arz eden durumlar ayrıca belirtilmektedir. CLSI dokümanının M100-S23 (2013) versiyonunda *Salmonella* ve *Shigella* için disk difüzyon, sıvı dilüsyon ve agar dilüsyon yöntemlerinin kullanılabilceği görülmektedir (5).

**Test koşulları:** Besiyeri olarak, disk difüzyon ve agar dilüsyon testleri için Mueller-Hinton agar (MHA), sıvı dilüsyon testi için katyon ayarlı Mueller-Hinton buyyonu (CAMHB) standardize edilmiştir. İnokulum için üreme yöntemi veya direkt koloni süspansiyonu ile 0.5 McFarland standardının bulanıklığına eşdeğer süspansiyon hazırlanır.  $35 \pm 2$  °C'de normal atmosferde, disk difüzyon yöntemi için 16-18 saat, dilüsyon yöntemleri için 16-20 saat inkübe edilir.

**Kalite kontrol:** Kontrol suşları olarak *Escherichia coli* ATCC 25922, beta-laktam/beta-laktamaz inhibitörleri kombinasyonları için *Escherichia coli* ATCC 35218'in kullanılması önerilmektedir.

**Yorumlar:** Dışkıdan izole edilen *Salmonella* ve *Shigella* spp. suşlarının antimikrobik duyarlılık testi yapıldığında sadece ampisilin, bir florokinolon ve trimetoprim-sulfametoksazol sonuçları rutin olarak bildirilmelidir. Ayrıca, *Salmonella* spp.'nin barsak dışı izolatları için bir üçüncü kuşak sefalosporin test edilmeli ve bildirilmelidir. İstenirse, kloramfenikol de denenip sonuçları bildirilebilir. CLSI, 2013 yılında *Salmonella*'ların duyarlılık testi için yeni bir yaklaşım getirmiştir. Duyarlılık testinin barsak ve barsak dışından izole edilen tifo etkeni *Salmonella*'lar (*S. Typhi* ve *S. Paratyphi* A-C) için yapılması gerektiğini vurgulayarak, barsaktan izole edilen tifo dışı *Salmonella*'lar için rutin duyarlılık testi yapılmasını önermemektedir (5).

Bunun dışında CLSI ilk olarak 2012 standartlarında (M100-S22) *Salmonella* ve *Salmonella* dışındaki *Enterobacteriaceae* üyeleri için siprofloksasin sınır değerlerini ayırmıştır (6). Kriterler 2013 yılında yeniden gözden geçirilerek (M100-S23) *Salmonella* spp.'ye uygulanmak üzere levofloksasin ve ofloksasin için MİK değerleri eklenmiştir (5). Diğer bir ifade ile *Salmonella* spp. için siprofloksasin zon çapları mevcut olmakla birlikte levofloksasin ve ofloksasin için disk difüzyon testi yorumlama kriterleri henüz mevcut olmayıp sadece MİK değerleri mevcuttur. CLSI MİK testinin yapılamaması durumunda veya laboratuvarlar mevcut yorumlama kriterlerini uygulayabilene kadar azalmış florokinolon duyarlılığının saptanabilmesi için nalidiksik asit disklerinin kullanılmasını önermektedir. Nalidiksik aside dirençli *Salmonella* suşlarının florokinolonlarla tedavi edilen salmonellozlu hastalarda klinik başarısızlık veya geç yanıt alınması gibi durumlarla ilişkili olabileceği bildirilmektedir. Ancak nalidiksik asidin florokinolonlara direnç

mekanizmalarının tamamını saptayamayabileceği de vurgulanmaktadır. Florokinolonların değerlendirilme kriterleri ile ilgili çalışmalar sürmektedir.

Duyarlılık test sonuçlarının bildiriminde dikkat edilecek çok önemli bir nokta da şudur: *Salmonella spp.* ve *Shigella spp.* 1. ve 2. kuşak sefalosporinler, sefamisinler ve aminoglikozitlere in-vitro duyarlılık deneylerinde duyarlı bulunsalar bile bu antibiyotikler klinik olarak etkili olmadıklarından raporda duyarlı olarak bildirilmemelidir. Bunun dışında 3. kuşak sefalosporinlere ve florokinolonlara orta duyarlı veya dirençli *Salmonella spp.* ve *Shigella spp.* suşlarıyla karşılaştığında sonucun bildirilmeden önce duyarlılık deneyinin doğrulanması önerilmektedir.

CLSI M100-S23 (5) ve EUCAST'ın 01.01.2014 tarihinde geçerli olan klinik sınır değerleri (22) önerilen antibiyotikler açısından Tablo 1'de karşılaştırılmıştır.

## 2. EUCAST Kriterleri

EUCAST'ın Ocak 2014'te yayımladığı son (sürüm 3.0) standartlarında (23,24) *Salmonella* ve *Shigella* için (*Enterobacteriaceae* için önerdiği standartlara göre) disk difüzyon ve sıvı mikrodilüsyon yöntemlerinin kullanılması önerilmektedir. Disk difüzyon yöntemi standartları belirlenmiş olmakla birlikte agar dilüsyon yöntemi ile ilgili çalışmalar devam etmektedir.

**Test koşulları:** Besiyeri olarak disk difüzyon testi için Mueller-Hinton agar (MHA) ve sıvı mikrodilüsyon testi için katkı içermeyen katyon ayarlı Mueller-Hinton buyyonu (CAMHB) önerilmektedir. İnokulum için doğrudan koloni süspansiyonu yöntemi kullanılarak bakterinin serum fizyolojik içerisinde 0.5 McFarland bulanıklık standardı yoğunluğunda süspansiyonu hazırlanır.  $35 \pm 1$  °C'de normal normal atmosferde, disk difüzyon yöntemi için 16-20 saat, sıvı mikrodilüsyon için (uluslararası referans yöntemi ISO 20776-1 temel alınarak)  $18 \pm 2$  saat inkübe edilir (15,24). İnhibisyon zonu sınırı, yansıyan ışıkla aydınlatılmış siyah bir zemin üzerinde plağa tersinden bakıldığında, üremenin bittiği nokta olarak değerlendirilir.

**Kalite kontrol:** Kontrol suşu olarak *Escherichia coli* ATCC 25922 [duyarlı, sokak tipi (wild type) ] veya, NCTC 12241, CIP 7624, DSM 1103, CCUG 17620, CECT 434 suşları kullanılabilir. Bu suşların değerlendirileceği antibiyotikler için kalite kontrol sınır değerleri (hem inhibisyon zon çapı hem de MİK) de oluşturulmuştur. Hedef değerler EUCAST tarafından hesaplanmış, kabul edilebilir aralık değerler ise Uluslararası Standartlar Organizasyonu (ISO 20776-1: 2006) ve EUCAST tarafından belirlenmiştir (25).

**Yorumlar:** *Enterobacteriaceae* (ve *H. influenzae*)'de nalidiksik asitin florokinolonları etkileyen direnç mekanizmalarının bir belirleyicisi olarak kullanıldığı bilinmektedir. Ancak EUCAST *Salmonella spp.* dışında *Enterobacteriaceae*'de de giderek yaygınlaşan *qnr* veya diğer plazmit aracılı düşük düzey florokinolon direncini saptayamadığı gerekçesiyle nalidiksik asit zon çaplarını sınır değer tablolarından çıkarmış (Tablo 1), uzman kuralların yeni versiyonlarında *Salmonella spp.* için siprofloksasinin MİK değerleri temelinde florokinolon duyarlılık sonuçlarını modifiye etmiştir. EUCAST'ın mevcut uzman kurallarına (Kural No.13.6) göre *Salmonella spp.*'nin siprofloksasin için MİK'i > 0.06 mg/L ise tüm florokinolonlara dirençli bildirilmelidir. Düşük düzey siprofloksasin direnci (MİK>0.06 mg/L) olan *Salmonella spp.*'nin sebep olduğu sistemik enfeksiyonlarda siprofloksasine yanıtın zayıf olduğuna ilişkin klinik kanıtların olduğu vurgulanmaktadır. Mevcut verilerin genel olarak *S. Typhi* ile ilişkili olduğu ancak diğer *Salmonella* türleri ile de zayıf yanıt alındığına dair olgu bildirimleri olduğunu bildirilmektedir (14,22). Siprofloksasin (5 µg) diski ile yapılan testler de *Salmonella spp.*'de düşük düzey direnci güvenilir bir şekilde saptayamamaktadır. *Salmonella spp.*'nin

siprofloksasine duyarlılığının pefloksasin duyarlılığı sonucundan çıkarsama yapılarak belirlenebileceği ve bu amaçla 5 µg'lık pefloksasin diskinin tarama testi ( $\geq 24$  mm duyarlı) olarak kullanılması önerilmektedir (22). Ancak uzman kural 13.6, şu an için yeterli kanıt olmadığından *Salmonella* dışındaki diğer *Enterobacteriaceae* üyelerine uygulanmamalıdır (14). *E. coli* ATCC 25922 kontrol suşunun standart koşullarda pefloksasin (5 µg) için hedef zon çapı 28 mm, zon aralığı ise 25-31 mm olarak belirlenmiştir ([http://www.eucast.org/fileadmin/src/media/PDFs/EUCAST\\_files/QC/Tentative\\_QC\\_criteria\\_for\\_pefloxacin\\_5\\_g.pdf](http://www.eucast.org/fileadmin/src/media/PDFs/EUCAST_files/QC/Tentative_QC_criteria_for_pefloxacin_5_g.pdf)). (Erişim tarihi 19.03.2014).

Son olarak *S. typhi* ve *Shigella spp.* enfeksiyonlarının tedavisinde sıklıkla kullanılmaya başlanan azitromisin (20) listelere girmiş olmakla birlikte (sokak tipi kökenler için MİK  $\leq 16$  mg/L) için sınır değer çalışmalarını devam etmektedir (22).

**Tablo 1.** *Salmonella/Shigella spp.*'de önerilen antibiyotikler için CLSI ve EUCAST'in yorumlama kriterlerinin karşılaştırılması.

Antibiyotik	Zon çapı (mm)				MİK sınır değeri mg/L		
	Disk içeriği	S	I	R	S	I	R
<b>AMP*</b>							
CLSI	10 µg	$\geq 17$	14-16	$\leq 13$	$\leq 8$	16	$\geq 32$
EUCAST	10 µg	$\geq 14$	-	$< 14$	$\leq 8$	-	$> 8$
<b>SXT</b>							
CLSI	1.25/23.75 µg	$\geq 16$	11 - 15	$\leq 10$	$\leq 2/38$	-	$\geq 4/76$
EUCAST	1.25/23.75 µg	$\geq 16$	-	$< 13$	$\leq 2$	-	$> 4$
<b>CIP</b>							
CLSI/ <i>Salmonella</i>	5 µg**	$\geq 31$	21-30	$\leq 20$	$\leq 0.06$	0.12-0.5	$\geq 1$
CLSI/ <i>Shigella</i>	5 µg*	$\geq 21$	16-20	$\leq 15$	$\leq 1$	2	$\geq 4$
EUCAST	Pefloksasin 5 µg	$\geq 24$	-	$< 24$	$\leq 0.06$	-	$> 0.06$
<b>LEV/OFL</b>							
CLSI/ <i>Salmonella</i>	-	-	-	-	$\leq 0.12$	0.25-1	$\geq 2$
CLSI/ <i>Shigella</i>	5 µg	$\geq 17$	14-16	$\leq 13$	$\leq 2$	4	$\geq 8$
EUCAST/LEV	5 µg	$\geq 22$		$< 19$	$\leq 1$	-	$> 2$
EUCAST/OFL	5 µg	$\geq 22$		$< 19$	$\leq 0.5$	-	$> 1$
<b>C</b>							
CLSI	30 µg	$\geq 18$	13 - 17	$\leq 12$	$\leq 8$	16	$\geq 32$
EUCAST	30 µg	$\geq 17$	-	$< 17$	$\leq 8$	-	$> 8$
<b>NAL</b>							
CLSI	30 µg	$\geq 19$	14 - 18	$\leq 13$	$\leq 16$	-	$\geq 32$
EUCAST		-	-	-	-	-	-

\*AMP: ampisilin; SXT: trimetoprim-sulfametoksazol; CIP: siprofloksasin; LEV: levofloksasin; OFL: ofloksasin; C: kloramfenikol; NAL: nalidiksik asit.  
\*\* Koyu renk yazılanlar *Enterobacteriaceae*'den ayrı olarak sadece *Salmonella spp.* için belirlenen kriterlerdir.



## Campylobacter Spp. İçin Duyarlılık Testleri

### 1. CLSI Kriterleri

Geç ve güç üreyen bakterilerden biri olan *Campylobacter spp.* için duyarlılık testlerinin standardize edilmesi ancak son yıllarda mümkün olmuştur. Klinik laboratuvarlar tarafından rutin duyarlılık testlerinde kullanılmak üzere *Campylobacter* için referans yöntemlerin tanımlandığı CLSI'nin onaylı dokümanı (M45-A2) "Nadir izole edilen veya güç üreyen bakteriler için antimikrobiyal dilüsyon ve disk duyarlılık testleri" başlığıyla 2006 yılında yayımlanmış, 2010 yılında güncellenmiştir. CLSI *Campylobacter* için disk difüzyon yöntemi ve sıvı mikrodilüsyon yöntemlerini standardize etmiştir (7).

**Test koşulları:** Disk difüzyon testi için %5 koyun kanı eklenmiş Mueller-Hinton agar (BMHA), sıvı mikrodilüsyon testi için defibrine at kanı (%2.5 - %5 v/v) eklenmiş katyon ayarlı Mueller-Hinton buyyonu (CAMHB) kullanılmaktadır. İnokulum için doğrudan koloni süspansiyonu yöntemini kullanılarak 0.5 McFarland standardının bulanıklığına eşdeğer bir bakteri süspansiyonu hazırlanır. Disk difüzyon testinde 36-37 °C'de, 48 saat veya 42 °C'de 24 saat mikroaerop ortamda inkübe edilir. Sıvı mikrodilüsyon yönteminde de aynı inkübasyon sıcaklığı, süresi ve ortamı önerilmektedir; ancak sıcaklığın 36 °C'nin altına düşmesi ya da 42 °C'nin üstüne çıkması durumunda yeterli üreme olmayabileceği göz önünde bulundurulmalıdır.

*C. jejuni* ve *C. coli* %10 CO<sub>2</sub>, %5 O<sub>2</sub>, %85 N<sub>2</sub>'ye eşdeğer bir mikroaerop ortamda ürer. Mikroaerop ortam için basınçlı gaz inkübatörü kullanılması tercih edilmekle birlikte mikroaerop ortamın sağlandığı ticari poşetler de kullanılabilir. CLSI bu amaçla plastik torbalar veya paketlerin kullanılmasını önermemektedir. Primer olarak test edilecek antibiyotikler eritromisin ve siprofloksasindir.

**Kalite kontrol:** Disk difüzyon testi ortam ve koşullarının kontrolü için *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 standart suşu 35-37 °C'de 16-18 saat, ortam havasında inkübe edilir. Mikrodilüsyon testinin kontrolü için *C. jejuni* ATCC 33560 standart suşu, 36-37 °C'de 48 saat veya 42 °C'de 24 saat inkübe edilir. Kontrol suşu için farklı üreme koşullarında (36 °C'de 48 saat ve 42 °C'de 24 saat) kullanılacak azitromisin, siprofloksasin, doksisisiklin, eritromisin, gentamisin, levofloksasin, meropenem ve tetrasiklin için MİK aralıkları belirlenmiştir.

**Yorumlar:** CLSI eritromisin, siprofloksasin, tetrasiklin ve doksisisiklin için MİK sınır değerlerini belirlenmiştir. Ancak eritromisin ve siprofloksasin için sadece dirençli sınırları belirlenmiştir. Eritromisin diskinin kenarına kadar üreme olması (6 mm zon) makrolid (eritromisin, azitromisin, klaritromisin) direncini, benzer şekilde siprofloksasin diskinin kenarına kadar üreme olması ise siprofloksasin direncini işaret etmektedir. Eritromisin ve siprofloksasin disklerinin etrafında herhangi bir inhibisyon zonunun görülmesi durumunda duyarlılığın kategorizasyonu için MİK saptanması önerilmektedir. Tetrasiklin için disk zon çapı sınır değerleri belirlenmiştir (Tablo 2). Doksisisiklin için MİK değerleri duyarlı, orta duyarlı ve dirençli sınıflamasında tetrasikline göre birer dilüsyon daha düşüktür (7).

### 2. EUCAST kriterleri

EUCAST son yayımladığı standartlara *Campylobacter*'i de eklemiştir. *C. jejuni* ve için disk difüzyon ve sıvı mikrodilüsyon yöntemlerinin kullanılmasını önermektedir. Disk difüzyon yönteminin standartları ve ayrıca siprofloksasin, eritromisin, ve tetrasiklin için zon çapı ve MİK sınır değerleri belirlenmiştir (22).

**Test koşulları:** Besiyeri olarak disk difüzyon testi için %5 mekanik yöntemlerle defibrine edilmiş at kanı ve 20 mg/L beta-NAD ( $\geq$  %98 saflıkta beta-nikotinamid adenin dinükleotid) eklenmiş Mueller-Hinton agar (MH-F agar) standardize edilmiştir. Diğer güç üreyen bakterilerde olduğu gibi sıvı mikrodilüsyon yöntemi için benzer şekilde defibrine edilmiş at kanı ve 20 mg/L beta-NAD eklenmiş Mueller-Hinton buyyonu (MH-F buyyonu) önerilmektedir. EUCAST'ın yayımladığı dokümanda stok çözeltiler de dâhil olmak üzere bu besiyerlerinin (MH-F agar ve MH-F buyyonu) hazırlanması, depolanması ve kalite kontrolü ayrıntılı olarak tarif edilmiştir (23). İnokulum için 0.5 McFarland bulanıklığına ayarlanmış süspansiyon hazırlanır.  $41 \pm 1^\circ\text{C}$ 'de, 24 saat, mikroaerop ortamda inkübe edilir. 24 saatlik inkübasyon sonunda yetersiz üreme gösteren suşlar hemen tekrar inkübe edilmeli ve inhibisyon zonları toplam 40-48 saatlik inkübasyonun ardından değerlendirilmelidir. MH-F plakları plağın kapağını açarak ön yüzünden, yansıyan ışık kullanılarak değerlendirilmelidir. Zon sınırları, plak gözden 30 cm uzakta tutularak, çıplak gözle bakıldığında üremenin tam olarak inhibe olduğu nokta olarak belirlenmelidir.

**Kalite kontrol:** *Campylobacter jejuni* ATCC 33560 veya ATCC 33560, NCTC 11351, CIP 702, DSM 4688, CCUG 11284 suşları kalite kontrol suşları olarak belirlenmiştir. Bu standart suşların değerlendirileceği eritromisin, siprofloksasin ve tetrasiklin için kalite kontrol sınır henüz değerleri disk difüzyon testi için mevcut olup, MİK değerleri hazırlık aşamasındadır (25).

**Yorumlar:** EUCAST *C. jejuni* ve *C. coli*'de eritromisin için farklı sınır değerleri (hem zon çapı hem de MİK) oluşturmuştur. Azitromisin ve klaritromisin duyarlılığının belirlenmesi için eritromisin, doksisisiklin duyarlılığının belirlenmesi için tetrasiklin kullanılmasını önermektedir (22).

CLSI M45-A2 (7) ve EUCAST'ın 01.01.2014 tarihinde geçerli olan klinik sınır değerleri (22) önerilen antibiyotikler açısından Tablo 2'de karşılaştırılmıştır.

**Tablo 2.** *C. jejuni* ve *C. coli*'de eritromisin, siprofloksasin ve tetrasiklin için CLSI ve EUCAST'ın yorumlama kriterlerinin karşılaştırılması.

Antibiyotik	Disk içeriği	Zon çapı (mm)			MİK sınır değeri mg/L		
		S	I	R	S	I	R
E*							
CLSI	15 µg	-	-	6	$\leq 8$	16	$\geq 32$
EUCAST			-				
<i>C. jejuni</i>	15 µg	$\geq 20$		$< 20$	$\leq 4$		$> 4$
<i>C. coli</i>	15 µg	$\geq 24$		$< 24$	$\leq 8$		$> 8$
CIP							
CLSI	5 µg	-	-	6	$\leq 1$	2	$\geq 4$
EUCAST	5 µg	$\geq 26$	-	$< 26$	$\leq 0.5$	-	$> 0.5$
TET							
CLSI	-	-	-	-	$\leq 4$	8	$\geq 16$
EUCAST	30 µg	$\geq 30$	16-20	$> 30$	$\leq 2$	2	$> 2$

\*E: eritromisin; CIP: siprofloksasin; TET: tetrasiklin.

EUCAST'in gönüllü laboratuvarlardan sağlanacak verilerle *C. jejuni*/*C. coli* ve *Salmonella* için zon çapı ECOFF değerlerini oluşturmak üzere başlattığı projesi devam etmektedir ([http://www.eucast.org/antimicrobial\\_susceptibility\\_testing/projects\\_and\\_data\\_submission/](http://www.eucast.org/antimicrobial_susceptibility_testing/projects_and_data_submission/)) (Erişim tarihi 19.03.2014).

Sonuç olarak, *Salmonella* ve *Campylobacter* enfeksiyonlarının tedavisi için terapötik seçenekler gittikçe kısıtlamaktadır. Ampirik tedavide kullanılacak antibiyotik bölgesel duyarlılıklar göz önüne alınarak seçilmelidir (9). Antibiyotik direncinin saptanabilmesi için ortak ulusal ve uluslararası standartların oluşturulması ayrıca surveyans stratejilerinin geliştirilmesi ve direncinin kontrol edilebilmesi için her ülkede, bölgede antibiyotik direnç mekanizmaları ve aktarıma yollarının anlaşılması son derece önemlidir.

### Kaynaklar

1. Arlet G, Barrett TJ, Butaye P, Cloeckaert A, Mulvey MR, White DG. Salmonella resistant to extended-spectrum cephalosporins: prevalence and epidemiology. *Microbes Infect* 2006;8(7):1945-54.
2. Centers for Disease Control and Prevention (CDC). Antibiotic resistance threats in the United States, 2013. Atlanta: CDC; 2013. (<http://www.cdc.gov/drugresistance/threat-report-2013/pdf/ar-threats-2013-508.pdf>).
3. Chen HM, Wang Y, Su LH, Chiu CH. Nontyphoid salmonella infection: microbiology, clinical features, and antimicrobial therapy. *Pediatr Neonatol* 2013; 54(3):147-52.
4. Chiu CH, Su LH, Chu C, Chia JH, Wu TL, Lin TY, Lee YS, Ou JT. Isolation of *Salmonella enterica* serotype choleraesuis resistant to ceftriaxone and ciprofloxacin. *Lancet* 2004;363:1285-6.
5. Clinical and Laboratory Standards Institute. 2012. Performance standards for antimicrobial susceptibility testing; Twenty second informational supplement. M100-S23. CLSI, Wayne, PA.
6. Clinical and Laboratory Standards Institute. 2012. Performance standards for antimicrobial susceptibility testing; Twenty second informational supplement. M100-S22. CLSI, Wayne, PA.
7. Clinical and Laboratory Standards Institute. 2010. Methods of antimicrobial dilution and disk susceptibility testing of infrequently isolated or fastidious bacteria; Approved guideline, 2nd ed. M45-A2. CLSI, Wayne, PA.
8. EFSA (European Food Safety Authority) and ECDC (European Centre for Disease Prevention and Control), 2013. The European Union Summary Report on antimicrobial resistance in zoonotic and indicator bacteria from humans, animals and food in 2011. *EFSA Journal* 2013;11(5):3196.
9. Feasey NA, Gordon MA. *Salmonella* infections. Eds: Farrar J, Hotez PJ, Junghans T, Kang G, Lalloo D, White N. *Manson's Tropical Diseases* 23th ed. kitabında s. 337. 2014 China, London, Elsevier.
10. Gay K, Robicsek A, Strahilevitz J, Park CH, Jacoby G, Barrett TJ, Medalla F, Chiller TM, Hooper DC. Plasmid-mediated quinolone resistance in non-Typhi serotypes of *Salmonella enterica*. *Clin Infect Dis* 2006;43(3):297-304.
11. Harish BN, Menezes GA. Antimicrobial resistance in typhoidal salmonellae. *Indian J Med Microbiol* 2011;29(3):223-9.
12. Hur J, Jawale C, Lee JH. Antimicrobial resistance of *Salmonella* isolated from food animals: A review. *Food Res Int* 2012; 45:819-30.
13. Iovine NM. Resistance mechanisms in *Campylobacter jejuni*. *Virulence* 2013;4(3):230-40.
14. Leclercq RI, Cantón R, Brown DF, Giske CG, Heisig P, MacGowan AP, Mouton JW, Nordmann P, Rodloff AC, Rossolini GM, Soussy CJ, Steinbakk M, Winstanley TG, Kahlmeter G. EUCAST expert rules in antimicrobial susceptibility testing. *Clin Microbiol Infect* 2013;19(2):141-60.
15. Matuschek E, Brown DF, Kahlmeter G. Development of the EUCAST disk diffusion antimicrobial susceptibility testing method and its implementation in routine microbiology laboratories. *Clin Microbiol Infect* 2014;20(4):O255-66.

16. Michael GB, Butaye P, Cloeckaert A, Schwarz S. Genes and mutations conferring antimicrobial resistance in *Salmonella*: an update. *Microbes Infect* 2006;8(7):1898-914.
17. Öngen B. *Campylobacter* ve *Aeromonas* Türleri. 10. Antimikrobik Kemoterapi Günleri: Antimikrobik kemoterapi laboratuvar uygulamaları ve yenilikler; 20-22 Nisan 2012. Program ve özet kitabı s:86-98. Askeri Müze, İstanbul.
18. Parry CM, Threlfall EJ. Antimicrobial resistance in typhoidal and nontyphoidal salmonellae. *Curr Opin Infect Dis* 2008;21(5):531-8.
19. Su LH, Chiu CH. *Salmonella*: clinical importance and evolution of nomenclature. *Chang Gung Med J* 2007;30(3):210-9.
20. Sjölund-Karlsson M, Joyce K, Blickenstaff K, Ball T, Haro J, Medalla FM, Fedorka-Cray P, Zhao S, Crump JA, Whichard JM. Antimicrobial susceptibility to azithromycin among *Salmonella enterica* isolates from the United States. *Antimicrob Agents Chemother* 2011;55(9):3985-9.
21. Sjölund-Karlsson M, Howie R, Rickert R, Krueger A, Tran TT, Zhao S, Ball T, Haro J, Pecic G, Joyce K, Fedorka-Cray PJ, Whichard JM, McDermott PF. Plasmid-mediated quinolone resistance among non-Typhi *Salmonella enterica* isolates, USA. *Emerg Infect Dis* 2010;16(11):1789-91.
22. The European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing (EUCAST). Breakpoint tables for interpretation of MICs and zone diameters. Version 4.0, January 2014. (<http://www.eucast.org>.)
23. The European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing (EUCAST). Media preparation for EUCAST disk diffusion testing and for determination of MIC values by the broth microdilution method. Version 3.0, April 2013.
24. The European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing (EUCAST). Antimicrobial susceptibility testing EUCAST disk diffusion method. Version 3.0, April 2013. 25- The European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing (EUCAST). Routine internal quality control as recommended by EUCAST Version 3.1, January 2013.
26. Threlfall EJ. Antimicrobial drug resistance in *Salmonella*: problems and perspectives in food- and water-borne infections. *FEMS Microbiol Rev* 2002;26(2):141-8.
27. Van TT, Nguyen HN, Smooker PM, Coloe PJ. The antibiotic resistance characteristics of non-typhoidal *Salmonella enterica* isolated from food-producing animals, retail meat and humans in South East Asia. *Int J Food Microbiol* 2012;154(3):98-106.
28. Wiczorek K, Osek J. Antimicrobial resistance mechanisms among *Campylobacter*. *Biomed Res Int* 2013;2013:340605. (doi: 10.1155/2013/340605).

## **Poster Bildiriler**



## Daptomisinin Vankomisine Dirençli Enterokoklara (VRE) in-vitro Etkinliği

**Gülseren Aktaş, Şengül Derbentli**

*İstanbul Üniversitesi, İstanbul Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, İstanbul*

**Giriş:** Vankomisine dirençli enterokokların (VRE) sebep olduğu enfeksiyonlar, tüm dünyada artmaktadır. Daptomisin, VRE dahil Gram-pozitif bakterilere bakterisit etkili, lipopeptid bir antibiyotiktir. Bu çalışmanın amacı daptomisinin 118 VRE suşuna in-vitro etkinliğini belirlemektir.

**Gereç ve Yöntem:** Hastaların rektal sürüntü örneklerinden izole edilen, 118 VRE suşu ile çalışılmıştır. Suşların tanımlanmasında rutin olarak uygulanan konvansiyonel yöntemler kullanılmıştır. Tüm suşlar hem disk difüzyon ve hem de mikrodilüsyon yöntemleri ile vankomisine dirençli bulunmuştur. Suşlardan ikisi aynı zamanda linezolidde de dirençlidir.

Suşların daptomisine duyarlılıklarının araştırılmasında Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI)'ın önerileri doğrultusunda mikrodilüsyon yöntemi uygulanmıştır. Deneylerde 12.5 µg/ml magnezyum ve 50 µg/ml kalsiyum ilaveli Mueller-Hinton buyyonu (MHB) çözücü, sulandırıcı ve besiyeri olarak kullanılmıştır. Çalışılan antibiyotik konsantrasyonu aralığı ise 0.032-16 µg/ml'dir. Plaklar, bir gece 35°C'de inkübe edildikten sonra, bakteri üremesinin durduğu en düşük daptomisin konsantrasyonu, minimum inhibitör konsantrasyonu (MİK) olarak belirlenmiştir. Sonuçlar CLSI kriterlerine göre değerlendirilmiştir. Deneylerde kalite kontrol suşları olarak, *Enterococcus faecalis* ATCC 29212 ve *Staphylococcus aureus* ATCC 29213 suşları kullanılmıştır.

**Bulgular:** 118 VRE suşu için MİK50 ve MİK90 değerleri sırasıyla 1 ve 2 µg/ml olarak belirlenmiştir. MİK dağılımı ise 0.125-2 µg/ml olarak saptanmıştır. Suşların %100'ü daptomisine duyarlı bulunmuştur. Çalışmada incelenen tüm VRE suşları daptomisine duyarlı bulunmakla birlikte, özellikle uzun süreli tedavi esnasında duyarlı olmayan suşların çıkabileceği bildirildiğinden, daptomisine duyarlılık durumunun izlenmesi yararlı olacaktır.

**Anahtar Kelimeler:** Daptomisin, mikrodilüsyon, vankomisine dirençli enterokok

## Hacettepe Üniversitesi Pediatrik Gastroenteroloji Bölümüne Başvuran Hastalardan İzole Edilen *Helicobacter pylori* suşlarının Antibiyotik Direnç Paternlerinin Belirlenmesi

Salih Maçın<sup>1</sup>, Hülya Demir<sup>2</sup>, Hasan Özen<sup>2</sup>, Aysel Yüce<sup>2</sup>, Yakut Akyön Yılmaz<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Mikrobiyoloji Ana Bilim Dalı, Ankara

<sup>2</sup>Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Ana Bilim Dalı Gastroenteroloji Ünitesi, Ankara

Hacettepe Üniversitesi İhsan Doğramacı Çocuk Hastanesinde endoskopi yapılan hastaların biyopsi örneklerinden izole edilen *Helicobacter pylori* (*H. pylori*) suşlarının klaritromisin, metronidazol, amoksisilin, ve tetrasiklin antibiyotiklerine karşı minimum inhibitör konsantrasyonlarının (MİK) konsantrasyon gradiyent (E-test) yöntemi ile araştırılması planlandı.

*Helicobacter pylori* tedavisi almamış 5-19 yaşları arasında kültürde üreme olan 93 hastanın *H. pylori* suşlarında klaritromisin, metronidazol, amoksisilin, ve tetrasiklin antibiyotiklerine karşı E-test ile MİK'leri çalışıldı. Beş-9 yaş grubunda 17, 10-14 yaş grubunda 42, 15-19 yaş grubunda 34 hasta yer almaktaydı.

Çalışılan 93 suşun hiç birinde tetrasiklin veya amoksisiline karşı direnç saptanmadı. Klaritromisin direnci 28 (%30.1) hasta suşunda, metronidazol direnci ise 45 (%48.4) hasta suşunda saptandı. Yaş gruplarına göre klaritromisin ve metronidazol dirençleri sırasıyla; ilk grupta 3 (%17.6), 5 (%29.4), 2. grupta 13 (%25), 16 (%38.1), 3. grupta 12 (%35.3), 24 (%70.6) olarak saptandı.

Çocuk hastalarda yapılan bu çalışmada *H. pylori*'ye karşı amoksisilin veya tetrasiklin direnci saptanmamıştır, ancak ilk seçenek tedavide yer alan klaritromisin direnci oldukça yüksek oranda saptanmıştır. Metronidazol direnci ise beklediği gibi yüksek bulunmuştur. Her iki ilacada yaşla birlikte direnç artmaktadır. Tedavi öncesi duyarlılık testi yapılması, gereksiz tedaviyi önleyeceğinden dolayı hastaların tedavisinin planlanmasında yarar sağlayacaktır.

**Anahtar Kelimeler:** *Helicobacter pylori*, antibiyotik direnç

**Tablo 1.** *Helicobacter pylori* suşlarının yaşa göre dağılımı ve klaritromisin ve metronidazol direnci

Yaş	Pozitif	KI Direnci	Met Direnci
5-9	17	3	5
10-14	42	13	16
15-19	34	12	24
Toplam	93	28	45

KI: Klaritromisin Met: Metronidazol



---

## Bingöl İli'nde 2011-2013 Yılları Arasında Görülen Bruselloz Seroprevalansı

---

**Esin Doğantekin<sup>1</sup>, Akif Doğantekin<sup>2</sup>**

<sup>1</sup>Zirve Üniversitesi Emine-Bahaeddin Nakıboğlu Tıp Fakóltesi Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Gaziantep

<sup>2</sup>Özel Emek Hastanesi, İç Hastalıkları Kliniği, Gaziantep

Bruselloz halk sağlığı için önemli derecede problem yaratan bir zoonozdur. Tüm dünyada ve özellikle de ülkemizde önemli işgücü ve maddi kayıba neden olmaktadır. Bruselloz seroprevalansı bölgemizde yapılan değişik çalışmalarda %8.5-17.6 arasında değişmektedir. Biz de çalışmamızda Bingöl İli ndeki bruselloz seroprevalansını retrospektif olarak araştırdık. 2011-2013 yılları arasında Bingöl Devlet Hastanesine başvuran bruselloz şüpheli hastalardan alınan 2980 serum örneğinde bruselloz serolojik göstergeleri Rose-Bengal testi ve Wright tüp aglutinasyon testi ile retrospektif olarak değerlendirilmiştir. Serumların 301'i (%10.1) Wright testi ile 1/160 ve üzerindeki dilüsyonlarda pozitif bulunmuştur. Serumların 406'sı(%13.6) Rose-Bengal testi ile pozitif bulunmuştur. Rose-Bengal pozitif olan 15(%0.5) serumda Wrigth testinin 1/40 dilüsyonda bile negatif sonuç verdiği tesbit edilmiştir. Çalışmamız sonunda bölgede yapılan diğer çalışmalarla uyumlu olarak pozitif sonuç oranımızın yüksek olduğu ve Bingöl İlinin bruselloz açısından endemik olduğu sonucuna varmaktayız.

**Anahtar Kelimeler:** Bruselloz, Rose-Bengal testi, Wright aglutinasyon testi

## Bingöl Devlet Hastanesi Yoğun Bakım Ünitesinde Yatan Hastaların Çeşitli Klinik Örneklerinden İzole Edilen Mikroorganizmalar ve Antibiyotik Duyarlılıkları

**Esin Doğanekin<sup>1</sup>, Akif Doğanekin<sup>2</sup>**

<sup>1</sup>Zirve Üniversitesi Emine-Bahaeddin Nakıboğlu Tıp Fakültesi Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Gaziantep

<sup>2</sup>Emek Hastanesi İç Hastalıkları Kliniği, Gaziantep

Amacımız Ocak 2011-Şubat 2013 tarihleri arasında yoğun bakım ünitesinde yatan hastaların çeşitli klinik örneklerinden izole edilen mikroorganizmalar ile antibiyotik duyarlılıklarının belirlenmesidir.

İdentifikasyonda konvansiyonel yöntemler kullanılmış, antibiyotik duyarlılık testleri ise CLSI'nın önerileri doğrultusunda Kirby-Bauer disk difüzyon metodu ile değerlendirilmiştir.

Çalışma süresince yoğun bakım ünitesinde 82 (%54,6) Gram (-) bakteri, 66 (%44) Gram (+) bakteri ve 2 (%1,4) maya olmak üzere toplam 150 mikroorganizma izole edilmiştir.

En sık izole edilen Gram negatif bakteriler sıklık sırasına göre; 31(%20,6) *Pseudomonas spp.*, 18 (%12) *Acinetobacter spp.*, 21 (%14) *Escherichia coli* ve 12(%8) *Klebsiella spp.* olarak saptanmıştır. Karbapenem direnci 12(%38,7) *Pseudomonas spp.* ve 8 (%44) *Acinetobacter spp.*'de tespit edilmiştir.

*Pseudomonas spp.*'ye amikasin ve imipenem, *Acinetobacter spp.*'ye ise amikasin ve tiğesiklin en etkili antibiyotikler olarak bulunmuştur. *Klebsiella spp.* ve *E.coli* suşlarına en etkili antibiyotikler ise yine amikasin ve imipenem olarak belirlenmiştir.

En sık izole edilen Gram pozitif bakteriler ise sıklık sırasına göre; 32 (%21,4) koagülaz negatif stafilokok (KNS), 24 (%16) *Staphylococcus aureus* ve 10 (%6,6) *Enterococcus spp.* olarak belirlenmiştir. Metisilin direnci 6 (%30) KNS ve 8 (%44) *S. aureus* suşunda, vankomisin direnci ise 2 (%17) enterokok suşunda tespit edilmiştir. KNS ile *S. aureus* suşlarının tümü vankomisin, teikoplanin ve linezolid duyarlı bulunurken, enterokok suşlarına en etkili antibiyotikler linezolid, vankomisin ve teikoplanin olarak saptanmıştır.

Yoğun bakım ünitelerindeki infeksiyonlar önemli bir sorundur. Hastanelerdeki bu kritik birimlerde üreyen mikroorganizmaların bilinmesi ve antibiyotik direnç profillerinin belirlenmesi başta akılcı antibiyotik kullanımı olmak üzere infeksiyon kontrol önlemleri açısından son derece önemlidir.

**Anahtar Kelimeler:** antibiyotik duyarlılığı, Gram negatif bakteri, Gram pozitif bakteri

## İlaç, Kozmetik ve Gıda Ürünlerinde Kullanılan Bazı Koruyucuların Antimikrobiyal ve Antibiyofilm Etkisinin Araştırılması

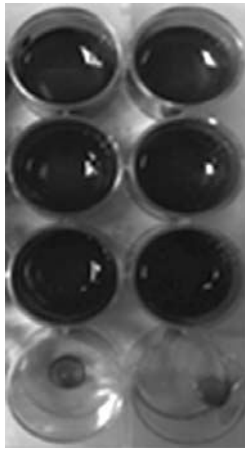
Nihal Güven<sup>1</sup>, Fatma Kaynak Onurdağ<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Gazi Üniversitesi Eczacılık Fakültesi, Farmasötik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Ankara

<sup>2</sup>Trakya Üniversitesi Eczacılık Fakültesi, Farmasötik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Edirne

Mikrobiyal kontaminasyonu önlemek amacıyla gıdalara, ilaçlara ve diğer farmasötik ürünlere koruyucu maddeler ilave edilmektedir. Koruyucuların antimikrobiyal aktivitelerinin saptanması ve koruyucu etkinlik testlerinin yapılmasında, standart test organizmalarının vejetatif üreme şekilleri kullanılır. Ancak, canlı dokular, medikal implantlar, endüstriyel veya içme suyu sistemlerinin boruları, doğal akua-tik sistemler, cam ve plastik yüzeyler gibi birçok farklı yüzeyde mikrobiyal biyofilm oluşumu görülebilir.

Çalışmamızda ilaç, kozmetik ve gıda ürünlerinde kullanılan bazı koruyucuların, antimikrobiyal ve antibiyofilm etkilerinin araştırılması ve bu ürünlerde yaygın kullanım alanına sahip cam yüzeyde oluşan mikrobiyal biyofilm formlarına karşı kullanılacak, minimum biyofilm inhibisyon konsantrasyonu (MBİK) değerleri ile planktonik formlarının minimum inhibisyon konsantrasyonu (MİK) değerlerinin kıyaslanması amaçlanmıştır. *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, *Salmonella* Thyphimurium SL1344, *Staphylococcus aureus* ATCC 6538, *Staphylococcus epidermidis* NCTC 11047, *Enterococcus faecalis* ATCC 29212, *Candida albicans* ATCC 10231 standart suşları ile çalışılmıştır. Koruyucu olarak; sodyum nitrit, metil paraben, propil paraben, potasyum sorbat ve sodyum benzoat ve antimikrobiyal ajan olarak; ampicilin, vankomisin, gentamisin, siprofloksasin, amfoterisin B ve itrakonazol kullanılmıştır. MİK değerleri, CLSI M100-S18 ve M27-A3 önerileri doğrultusunda, MBİK değerleri ise BioTimer (BT) yöntemi kullanılarak saptanmıştır. Fenol kırmızısı veya resazürinin renk değiştirdiği süreye karşı çizilen log<sub>10</sub>CFU grafikleri kullanılarak "CFU/cam boncuk", hesaplanmıştır.



**Cam boncuklarda biyofilm oluşumunun doğrulanması**

Çalışmamızda; inokülüm miktarları mikrodilüsyon yönteminde kullanılan inokülüm miktarına eşit, daha düşük ya da daha yüksek olduğu durumlarda dahi; ilaç, kozmetik ve gıda ürünlerinde kullanılan koruyucuların, mikroorganizmaların biyofilm formlarına etkili olmadıkları tespit edilmiştir.

**Anahtar Kelimeler:** antimikrobiyal aktivite, biyofilm, koruyucu



**MBİK Kuyucuğu**

Koruyucular ve antimikrobiyal ajanların MİK ve MBİK değerleri (µg/mL)

**Tablo 1.**

	Sodyum nitrat/MIK		Meili paraben		Propil paraben		Pruyuyum sabart/MIK		Pruyuyum Sodyum sorbat		Sodyum Sodyum sorbat		Gentamisin		Siprofloksasin		Vancomisin		Ampisilin		Amraserin		Itrakonazol	
	MIK	MIK	MIK	MIK	MIK	MIK	MIK	MIK	MIK	MIK	MIK	MIK	MIK	MIK	MIK	MIK	MIK	MIK	MIK	MIK	MIK	MIK	MIK	MIK
<i>P.aeruginosa</i> ATCC 25718	64	4096	64	1024	32	>32768	16	4096	4	32768	<0.5	2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>S. Thyphimurium</i> S1344	16	16384	16	2048	2	1024	8	8192	<0.5	8192	-	-	<0.5	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>S. aureus</i> ATCC 6538	128	16384	64	2048	4	2048	64	8192	16	16384	-	-	<0.5	4	<0.5	<0.5	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>E. faecalis</i> ATCC 29312	128	32768	128	4096	32	2048	1024	65536	16	16384	-	-	<0.5	0.5	<0.5	0.5	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>S. epidermidis</i> NCTC 11047	32	8192	32	2048	64	1024	128	16384	2	16384	-	-	<0.5	2	<0.5	<0.5	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>C. albicans</i> ATCC 10231	512	32768	16	1024	4	<256	8	2048	1	8192	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	<0.5	<0.5	<0.5	>64

## İdrar Örneklerinden İzole Edilen *E. coli* Suşlarının Fosfomisin Duyarlılığı

Serap Süzük<sup>1</sup>, Havva Avcıküçük<sup>1</sup>, Banu Kaşkatepe<sup>2</sup>, Mehmet Kavak<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Kırıkkale Yüksek İhtisas Hastanesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Laboratuvarı, Kırıkkale

<sup>2</sup>Ankara Üniversitesi, Eczacılık Fakültesi, Farmasötik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Ankara

**Amaç:** Üriner sistem enfeksiyonları toplum ve hastane kaynaklı enfeksiyonlar arasında en fazla görülen enfeksiyonlardır ve bu enfeksiyonlarda en sık izole edilen etken *E.coli*'dir. Üriner sistem enfeksiyonu etkeni olarak izole edilen *E.coli* bakterisinin antibiyotik duyarlılık test sonucunun raporlanmasında; CLSI verilerine dayanarak sıklıkla grup A ile birlikte grup U antibiyotikler rapor edilmektedir. Çalışmamızda *E.coli* suşlarının U grubu antibiyotikler arasında yer alan fosfomisine karşı duyarlılık oranlarının belirlenmesi amaçlanmıştır.

**Materyal-Metod:** Şubat 2012-Şubat 2013 tarihleri arasında laboratuvarımıza gönderilen 2280 idrar örneğinde 105 ve daha fazla KOB/mL üreme saptanan 567 örneğin 389 tanesinde etken *E.coli* olarak belirlenmiştir. Antibiyotik duyarlılık testleri "Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI)" kriterlerine göre Kirby Bauer disk difüzyon yöntemiyle çalışılmıştır. 18-24 saatlik inkubasyondan sonra milimetrik cetvel ile bakterilerin fosfomisine karşı oluşturdukları inhibisyon zon çapı ölçülerek kayıt edilmiştir.

**Bulgular:** Üriner sistem enfeksiyonu etkeni olarak izole edilen 389 *E.coli* suşunun 387 tanesi fosfomisine duyarlı olarak bulunmuştur. Sadece 2 hastada fosfomisin dirençli olarak saptanmıştır. Ölçülen zon çaplarına göre yapılan değerlendirmeler tabloda sunulmuştur.

**Sonuç:** Çalışmamızda ÜSE tedavisi için fosfomisin uygun bir antibiyotik olduğunu belirledik. Ancak antibiyotik kullanımında ki yanlışlar ve enfeksiyon oranlarının sıklığının artmasından dolayı zaman içinde fosfomisine karşı direnç sorununun gelişebileceği aşıkardır. Çalışmamızda direncin çok düşük düzeyde olmasına karşın %3.08 oranında suşun zon çaplarının diğerlerine göre daha küçük olmasından dolayı zaman içinde *E.coli* suşlarının fosfomisine karşı direnç geliştirme olasılığı olabilir. Bu nedenle, antibiyotik duyarlılık test sonuçlarının "duyarlı" veya "dirençli" olarak raporlanması yanında zon çaplarının da verilmesinin gerekliliğini düşünüyoruz.

**Anahtar Kelimeler:** Üriner sistem enfeksiyonu, *E.coli*, fosfomisin

**Tablo 1.** *E.coli* suşlarının fosfomisin duyarlılık zon çaplarına göre dağılımı

Zon Çapı Aralığı (mm)	Sayı	%
0-15	2	0.51
16-20	12	3.08
21-26	146	37.53
27-37	229	58.87
TOPLAM	389	100

## İdrar Kültürlerinden İzole Edilen *Escherichia Coli* İzolatlarının Antibiyotik Duyarlılıkları

**Elif Beyaz**

Fatsa Devlet Hastanesi Mikrobiyoloji Laboratuvarı, Ordu

**Amaç:** İdrar yolu enfeksiyonlarından en sık en sık *Escherichia coli* izole edilmektedir. Bu çalışmada; 2012 ve 2013 yıllarında hastanemiz poliklinik ve servislerinden mikrobiyoloji laboratuvarına gönderilen idrar kültürlerinden izole edilen *Escherichia coli* izolatlarının antibiyotik duyarlılıklarının retrospektif olarak araştırılması amaçlanmıştır.

**Yöntem:** Laboratuvarımızda, *Escherichia coli* izolatlarının antibiyotik duyarlılıkları Kirby-Bauer disk difüzyon yöntemi ile CLSI kriterleri doğrultusunda değerlendirilmiştir.

**Bulgular:** Toplam 670 *Escherichia coli* izolatının antibiyotik direnci; ayakta ve yatan hastalarda sırasıyla Ampisiline %57-%68, Amoksisilin kulavulonata %20-%35, sefazoline %34-%58, sefuroksime %31-%57, sefiksim %28-55, seftriaksona %28-%53, siprofloksasine %24-%44, gentamisine %13-%17, nitrofurantoin %5-%8 oranında saptanmıştır. İzolatların hiçbirinde imipenem direnci saptanmamıştır.

Ayaktan hastaların %38'i çocuk, %20'si üroloji, %18'i kadın doğum, %16'sı intaniye, %8 diğer polikliniklerden gönderilmiştir. Yatan hastalardan %42'si intaniye, %17'si dahiliye yoğun bakım, %6 ortopedi, %5 üroloji, %5 çocuk ve %25'i diğer servislerden gönderilmiştir. *Escherichia coli* suşlarının antibiyotik duyarlılıklarına bakıldığında en yüksek direnç ayakta hastalarda ampisilin (%57), SXT (%40), sefazolin (%34), sefuroksim (%31) olarak bulunmuştur. Yatan hastalarda ise en yüksek direnç ampisilin (%68), sefazolin (%58), sefuroksim (%57) SXT (%55) olarak bulunmuştur. Ayaktan ve yatan hastalarda nitrofurantoin (%5-%8) ve gentamisin (%13-%17) direncin düşük olduğu saptanmıştır. Ayaktan hastalarda GSBL oranı %29, yatan hastalarda GSBL oranı ise %55'tir.

**Sonuç:** Bu çalışmada, in-vitro antibiyotik direnç oranları yüksek olduğundan antibiyotik tedavisi mutlaka antibiyotik duyarlılık sonuçlarına göre düzenlenmelidir.

**Anahtar Kelimeler:** *Escherichia coli*, antibiyotik duyarlılığı

**Tablo 1.** Üropatojen *E. coli* izolatlarının antibiyotik duyarlılıkları

<b>Antibiyotik</b>	<b>poliklinik (direnç %)</b>	<b>servis (direnç%)</b>
Ampisilin	57	68
Amoksisilin klavulonat (AMC)	20	35
Sefazolin	34	58
Sefuroksim	31	57
Sefiksim	28	55
Seftriakson	28	53
Siprofloksasin	24	44
Trimetoprim sulfometoksazol (SXT)	40	55
Gentamisin	13	17
Nitrofurantoin	5	8

## Antibiyotik Duyarlılık Testi Kalite Kontrol Çalışmalarının 1 Yıllık Performans Değerlendirmesi

**Serap Süzük<sup>1</sup>, Havva Avcıküçük<sup>1</sup>, Banu Kaşkatepe<sup>2</sup>, Mehmet Kavak<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>Kırıkkale Yüksek İhtisas Hastanesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Laboratuvarı, Kırıkkale

<sup>2</sup>Ankara Üniversitesi, Eczacılık Fakültesi, Farmasötik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Ankara

**Amaç:** Bu çalışmada amacımız; Mikrobiyoloji laboratuvarında çalıştığımız antibiyotik duyarlılık testi (ADT) sürecinde yaptığımız kalite kontrol çalışmalarımızda sıklıkla yaşadığımız sorunları ve bu sorunların oluşmasını engellemek için yapılan düzeltici ve/veya önleyici işlemlerimizin değerlendirilmesini ortaya koymaktır.

**Materyal ve Metot:** Ocak 2013-Ocak 2014 tarihleri arasında mikrobiyoloji laboratuvarında gerçekleştirilen ADT kalite kontrol günlük ve haftalık çalışmalarda karşılaşılan hata ve sorunlar ele alınmıştır. Süreçle ilgili yapılan işlemler;

- Sürece ait prosedür hazırlanması
- Değerlendirme formlarının oluşturulması
- İlgili çalışanlara eğitim programı oluşturulması
- Kalite kontrol (KK) suşlarının (*E.coli* ATCC 25922, *P.aeruginosa* ATCC 27853, *S. aureus* ATCC 29213 ve *E.faecalis* ATCC 29212) saklanması ve test edilmesi
- Besiyeri plaklarının kalite güvencesi ve performansı yönünden test edilmesi
- Günlük çalışmaların yapılması
- Haftalık çalışmaların yapılması
- Değerlendirme sonuçlarına göre sorunların giderilmesi

**Bulgular:** Bir yıllık süreçte en sık yaşanan 3 sorun;

- KK suşlarının daha küçük zon çapına sahip olması
- Aynı antibiyotik diskinin farklı KK suşlarında zon çaplarının sınırların dışına çıkması
- Besiyeri kontaminasyonu

Bu sorunlara yönelik alınan önlemler;

- İnokulum miktarının önemi ilgili çalışanlara eğitim programı hazırlanmış ve değerlendirme formlarına 0.5 McFarland ayarı yapıldığına dair onay kutusu eklenmiştir
- Antibiyotik disklerinin uzun süreli saklamada -20°C'de tutulması için derin dondurucu alınması
- Besiyeri firması ile görüşülerek gönderim şartlarının yenilenmesi

**Sonuç:** Kalite kontrol çalışmaları süreç içinde göremediğimiz hataların ortaya çıkarılmasında önemli bir araçtır. Ayrıca alınan önlemler test sonuçlarının doğru ve güvenilir sonuçlar olmasını da güvence altına almaktadır. Bu nedenle, uygulamalara yönelik düzenlenen kalite çalışmalarının laboratuvarın tüm süreçlerinde kullanılması gerektiği kanısındayız.

**Anahtar Kelimeler:** Antibiyotik duyarlılık testi, kalite kontrol, performans değerlendirilmesi



## Klinik *Acinetobacter baumannii* İzolatlarında Karbapenem Direncine Yol Açan Sınıf-D Beta-laktamazların Araştırılması

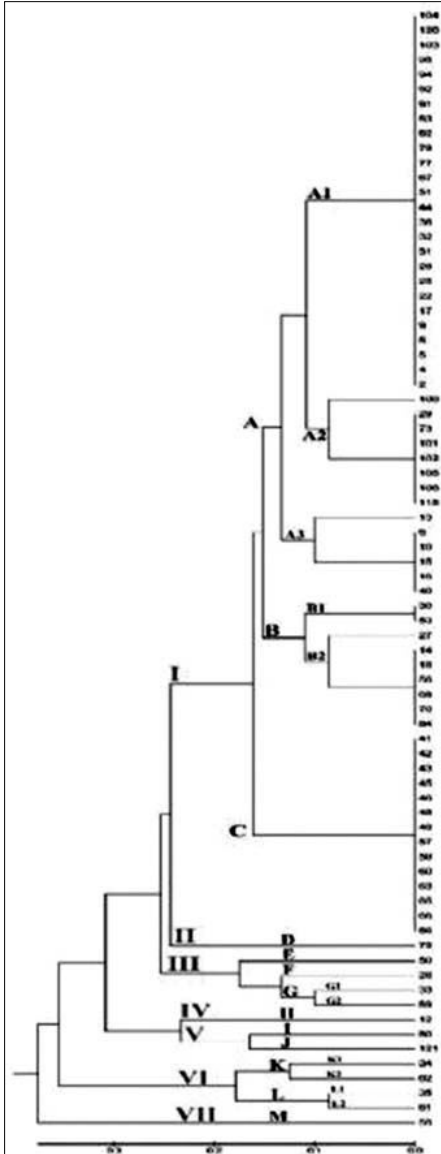
İskandar Davandeh<sup>1</sup>, Bayrı Eraç<sup>1</sup>, Şöhret Aydemir<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Ege Üniversitesi Eczacılık Fakültesi, Farmasötik Mikrobiyoloji Ana bilim Dalı, İzmir

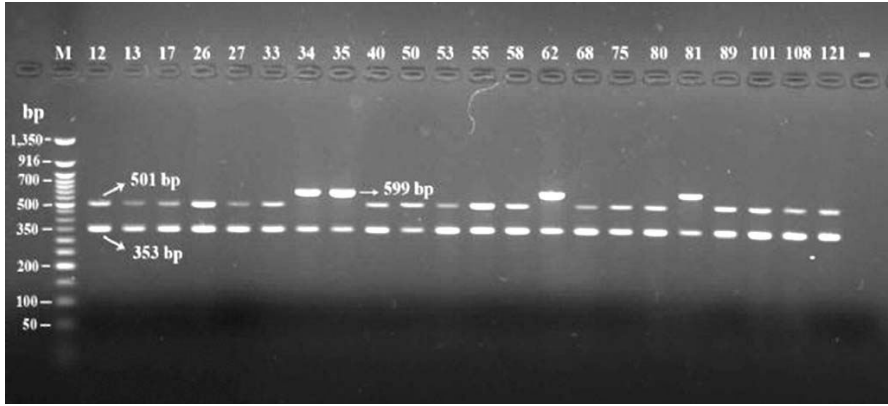
<sup>2</sup>Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Ana bilim Dalı, İzmir

Karbapenem grubu antibiyotikler *Acinetobacter* türlerinin neden olduğu enfeksiyonların tedavisinde sıklıkla kullanılmakta ve bunun sonucunda bu antibiyotiklere direnç gelişmektedir. *Acinetobacter* türlerinde karbapenem direncinde rol oynayan başlıca mekanizma, karbapenem hidrolize eden oksasilineazların (KHO) üretimidir. Ege Üniversitesi Hastanesi'nden izole edilen imipeneme duyarlı olmayan 76 *Acinetobacter baumannii* izolatının imipenem Minimum İnhibitör Konsantrasyon (MİK) değerleri mikrodilüsyon yöntemi ile belirlenmiştir. Bu izolatlarının klonal ilişkileri ERIC (Enterobacterial Repetitive Intergenic Consensus)-PCR yöntemi ile değerlendirilmiş ve başlıca KHO gruplarının (OXA-23-grup; OXA-24-grup; OXA-51-grup ve OXA-58-grup) varlığı multipleks PCR tekniği ile araştırılmıştır. Çalışmamız kapsamında incelenen *A.baumannii* izolatlarının ERIC-PCR paternlerine göre 13 farklı klona ayrıldığı gözlenmiştir. Bunlardan A klonu üç subtip ve 40 üyesi ile en büyük klon olurken, B klonunun 9, C klonunun 14, G, K ve L klonlarının ikişer üyesi olduğu saptanmıştır. Ayrıca tek üyeli 7 klon (D, E, F, H, I, J ve M) tespit edilmiştir. Tüm klonların temsilcilerinde *blaOXA-51-grup* belirlenmiş, *blaOXA-23-grup* ise K ve L klonları dışındaki diğer klonlarda gözlenmiştir. *blaOXA-58-grup* sadece K ve L klonlarına ait dört izolatta bulunurken, incelenen hiçbir kökende *blaOXA-24-grup*'a rastlanmamıştır. Moleküler tiplendirme sonuçları, çalışmaya alınan imipenem dirençli *A. baumannii* kökenlerinin çoğunun klonal olarak ilişkili olduğunu ortaya koymuştur. Tüm klon temsilcilerinde *blaOXA-51* geninin ve iki küçük klon dışındaki diğer klonlarda *blaOXA-23* geninin saptanmış olması, incelenen *A. baumannii* kökenlerindeki İMP direncinden çoğunlukla bu iki KHO grubunun sorumlu olduğunu göstermektedir. Çalışmamızda ayrıca iki küçük klonun üyesi olan dört kökende *blaOXA-58* varlığı da gösterilmiştir.

**Anahtar Kelimeler:** *Acinetobacter baumannii*, karbapenemaz, OXA



**Şekil 1.** A.baumannii izolatlarının dendogramı  
(I-VII: Ana gruplar, A – M: Klonlar)



**Şekil 2.** Her klon ve subtipi temsil eden 22 *A.baumannii* izolatında multipleks PCR ürünlerinin jel görüntüsü.

(M: 50 bp Marker, -: Negatif kontrol, OXA-51: 353 bp, OXA-23: 501 bp, OXA-58: 599 bp)

**Tablo 1.** *A.baumannii* kökenlere ait İMP Mik sonuçları

<b>Mik</b>	<b>128 mg/L</b>	<b>64 mg/L</b>	<b>32 mg/L</b>	<b>16 mg/L</b>	<b>8 mg/L</b>
<b>İzolat Sayısı</b>	4	22	28	18	4

## Geriatrik Popülasyonda İdrar Yolu Enfeksiyonlarının Değerlendirilmesi

**Filiz Pehlivanoğlu, Gönül Şengöz, Meyha Şahin**

*Haseki Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Enfeksiyon Hastalıkları ve Klinik Mikrobiyoloji, İstanbul*

**Giriş ve Amaç:** Dünyada yaşlı popülasyonu giderek artmaktadır. Yaşlılarda kronik hastalıklar, yetersiz beslenme ve çok sayıda ilaç kullanımı yüzünden organizmanın savunma bozukluğu daha sık ortaya çıkmakta ve enfeksiyon hastalıkları önemli bir morbidite ve mortalite nedeni olmaktadır. İdrar yolu enfeksiyonları da sık görülen enfeksiyonlardandır ve belirtileri atipik olabilir. Bu çalışmada 2013 yılında idrar yolu enfeksiyonu nedeni ile hastaneye ayaktan başvuran ya da yatan 65 yaş üstü 789 kişi değerlendirilmiştir.

**Yöntem:** 2013 yılında mikrobiyoloji laboratuvarına idrar yolu enfeksiyonu tanısı ile 65 yaş üstü hastalardan gönderilen 3.407 idrar kültürü değerlendirilmiştir. Bunlardan 789'unda (%23) anlamlı üreme olmuştur. 290 üreme olan idrar kültürü poliklinikten başvuran hastalardan, 499 idrar ise yatan hastalardan gönderilmiştir.

**Bulgular:** Erkek/kadın oranı poliklinik hastalarında 1,3 iken, yatan hastalarda erkek oranı artmış ve oran 1,4 olmuştur. En sık görülen etken her iki grupta da *E.coli* olup, poliklinik hastalarında %54, yatan hastalarda %49 oranında izole edilmiştir. Diğer izole edilen etkenler tabloda görülmektedir. ESBL pozitif *E.coli* oranı poliklinik hastalarında %27 olup, yatan hastalarda bu oran artmış ve %40 olmuştur.

**Tartışma Ve Sonuç:** Yaşla birlikte üriner sistem epitelindeki savunmanın bozulması, mesane prolapsusu, erkeklerde prostat hipertrofisi, her iki cinsten mesanede rezidü idrar kalması, bakteriüri ve ardından enfeksiyon gelişimini kolaylaştırır. İdrar sondası ise yaşlılarda üriner sistem enfeksiyonu gelişiminde önemli risk faktörlerinden birisidir. Üriner enfeksiyon düşünüldüğünde ampirik olarak tedaviye başlamalı ve kültür antibiyogram sonucuna göre de tedavi tekrar değerlendirilmelidir. Özellikle yatan hastalarda dirençli suşlarla oluşan enfeksiyon etkenleri dikkati çekmekte ve tedavide geniş spektrumlu antibiyotiklerin kullanımını zorunlu kılmaktadır.

**Anahtar Kelimeler:** Direnç, geriatri, üriner enfeksiyon

**Tablo 1.** Üriner enfeksiyon etkenlerinin dağılımı

<b>Etkenler</b>	<b>Poliklinik n:290</b>	<b>Yatan hasta n:499</b>
<i>E.coli</i>	157 (%54)	243 (%49)
<i>Klebsiella spp</i>	80 (%28)	113 (%23)
<i>Enterococcus spp</i>	19 (%7)	61 (%12)
<i>Acinetobacter spp</i>	6 (%2)	6 (%1)
<i>Pseudomonas spp</i>	12 (%4)	38 (%8)
<i>Proteus spp</i>	7 (%2)	13 (%3)
<i>Candida spp</i>	2 (%0.6)	13 (%3)

## NDM-1 Tipi Metallo- $\beta$ -Laktamaz Enziminin Mutasyonel Analizi

Azer Özad Düzgün<sup>1</sup>, Cemal Sandallı<sup>2</sup>, Ayşegül Çopur Çiçek<sup>3</sup>

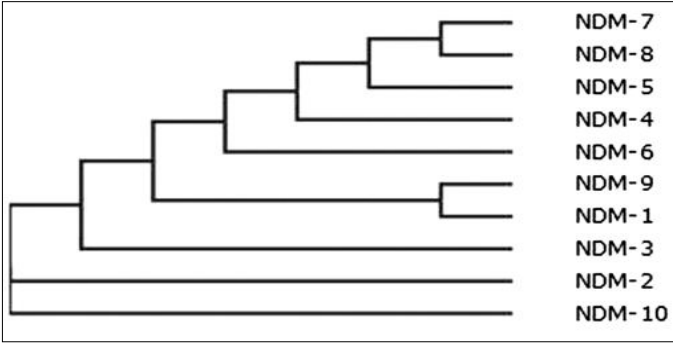
<sup>1</sup>Gümüşhane Üniversitesi Mühendislik ve Doğa Bilimleri Fakültesi Genetik ve Biyomühendislik Bölümü, Gümüşhane

<sup>2</sup>Recep Tayyip Erdoğan Üniversitesi Fen-Edebiyat Fakültesi Biyoloji Bölümü, Rize

<sup>3</sup>Recep Tayyip Erdoğan Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Rize

NDM-1 son keşfedilen sınıf B  $\beta$ -laktamaz enzimidir ve 10 aleli mevcuttur (Şekil 1). Bu çalışmanın amacı tespit edilen NDM-1 metallo- $\beta$ -laktamaz geni üzerinden mevcut alelerde bulunan NDM-1'den farklı aminoasitlerin yönlendirilmiş mutasyon ile Alanin aminoasitine dönüştürülmesi ve NDM-1 alellerin de meydana gelen farklı aminoasitlerin enzim aktivitesi üzerindeki etkisini gösterilmesidir. *K. pneumoniae* suşundan DNA izolasyonu yapıldı. 497 bp'lik bölge PZR ile çoğaltıldı ve klonlama çalışmaları yapılmıştır. Sekans sonucuna göre blaNDM-1 pozitif bulunan örneklerin tam gen sırası buluna bilmesi için pET TOPOR ekspresyon vektörüne klonlanacak şekilde primerler dizayn edildi, PZR yapıldı ve sekans analizine gönderildi. blaNDM-1 genini içeren plazmit transfer edildiği *E. coli* BL21 (DE3)Lys hücrelerinde ekspresyon için kullanıldı. pET TOPOR vektörüne klonlanmış blaNDM-1 genini içeren plazmidler ile spesifik PZR'lar yapılarak mutasyonlar gerçekleştirildi. Amplifikasyonunun gerçekleştirildiği tüm örnekler DpnI enzimi ile kesimi yapıldı. Kesim sonrası ürün kompetent hücrelere transforme edilmiştir ve DNA sekans analizi için hazırlanmıştır. blaNDM-1 geninin 497 bp'lik bölgesi belirlendikten sonra blaNDM-1'in 813 bp'lik genin tamamı çoğaltıldı ve ekspresyon vektörüne klonlandı. blaNDM-1 genini içeren plazmit transfer edildiği hücrede ekspresyonu gerçekleşti, ekspresyonu olan protein saflaştırıldı ve SDS-PAGE' de yürütüldü. 6 çift mutasyon primeri kullanılarak mutasyonel analizler gerçekleştirildi. Her bir mutasyonu taşıyan plazmitler ayrı ayrı ekspresyon hücrelerine aktararak MIC değerleri karşılaştırıldığında, MIC değerlerinin belli oranlarda farklılık gösterdiği belirlendi (Tablo 1). Sonuç olarak blaNDM-1 geni çoğaltılmış ekspresyon vektörüne klonlanarak enzim aktivite deneyleri için hazırlanmıştır. Bunun yanı sıra NDM-1'den köken alan ve aminoasit değişimleri ile oluşan alellerin yönlendirilmiş mutasyonlar ile Alanine dönüştürülmesinin aktivite üzerindeki etkisi araştırılmaktadır.

**Anahtar Kelimeler:** NDM-1, PZR



**Şekil 1.** NDM-1 genine ait 10 alelin benzerlik ağacı

**Tablo 1.** Mutant NDM-1 Alellerinin Mik Sonuçları

<b>Antibiyotikler</b>	<b>Topo BL21</b>	<b>Topo NDM-1</b>	<b>Topo NDM-2</b>	<b>Topo NDM-3</b>	<b>Topo NDM-4</b>	<b>Topo NDM-5</b>	<b>Topo NDM-7</b>	<b>Topo NDM-9</b>
Ampisilin	<=2	>=32	>=32	>=32	>=32	>=32	>=32	>=32
Amoksisilin/klavulanik Asit	<=2	>=32	>=32	>=32	>=32	16	>=32	>=32
Piperasilin/Tazobaktam	<=4					64	>=128	64
Sefuroksim	<=1	16	16		2	<=1		>=64
Sefuroksim Aksetil	<=1	16	16		2	<=1		>=64
Sefoksitin	<=4	<=4	<=4	<=4	<=4	<=4	<=4	8
Seftazidim	<=1	4		2	<=1	<=1	8	32
Seftriakson	<=1	<=1	<=1	<=1	<=1	<=1	<=1	2
Sefepim	<=1	<=1	<=1	<=1	<=1	<=1	<=1	<=1
Ertapenem	<=0.5	<=0.5	<=0.5	<=0.5	<=0.5	<=0.5	<=0.5	4
İmipenem	<=0.25				<=0.25	<=0.25	4	>=16
Meropenem	<=0.25				<=0.25	<=0.25	1	>=16
Amikasin	<=2	<=2	<=2	<=2	<=2	<=2	<=2	<=2
Gentamisin	<=1	<=1	<=1	<=1	<=1	<=1	<=1	<=1
Siprofloksasin	<=0.25	<=0.25	<=0.25	<=0.25	<=0.25	<=0.25	0.5	0.5
Kolistin	<=0.5	<=0.5	<=0.5	<=0.5	<=0.5	<=0.5	<=0.5	<=0.5
Trimetoprim/Sülfametaksazol	<=20					<=20	<=20	<=20

## VIM-38 Tipi Metallo- $\beta$ -Laktamaz Enziminin Moleküler Karakterizasyonu ve Mutasyonel Analizi

**Azer Özad Düzgün<sup>1</sup>, Cemal Sandallı<sup>2</sup>, Ayşegül Çopur Çiçek<sup>3</sup>**

<sup>1</sup>Gümüşhane Üniversitesi Mühendislik ve Doğa Bilimleri Fakültesi Genetik ve Biyomühendislik Bölümü, Gümüşhane

<sup>2</sup>Recep Tayyip Erdoğan Üniversitesi Fen-Edebiyat Fakültesi Biyoloji Bölümü, Rize

<sup>3</sup>Recep Tayyip Erdoğan Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Rize

VIM-38, VIM tipi metallo- $\beta$ -laktamaz ailesinin son varyantlarından ve 2013 yılında yeni alel olarak tespit edilmiştir (1). Bu çalışmada; VIM-38 metallo- $\beta$ -laktamaz enzimi kodlayan varyantın rekombinant olarak üretilmesi, saflaştırılması, kinetik yönden karakterize edilmesi, substrat spektrometrik analizlerinin karşılaştırılması, yönlendirilmiş mutasyonlar ile bazı korunmuş aminoasitlerin önemini ortaya konması amaçlanmıştır.

*P.aeruginosa* suşundan DNA izolasyonu yapıldı. blaVIM-38 geninin tamamını çoğaltacak şekilde ekspresyon primerleri dizayn edildi. Pfu DNA polimeraz enzimi ile PZR gerçekleştirilmiş ve pET-TOPOR ekspresyon vektörüne ligasyonu sağlanmıştır. Rekombinant plazmid *E. coli* BL21 (DE3)Lys hücrelerine transfer edildi ve ekspresyon için kullanıldı. Rekombinant protein saflaştırılarak SDS-PAGE'de görüntülendi. blaVIM-38 de bulunan korunmuş 4 farklı bölgede mutasyonlar gerçekleştirilebilmesi için primerler dizayn edildi ve bu primerlerle PZR'lar yapıldı.

801 bp büyüklüğündeki blaVIM-38 geninin tamamı çoğaltıldı ve ekspresyon vektörüne klonlandı. blaVIM-38 genini içeren plazmit transfer edildiği hücrede ekspresyonu gerçekleşti. İlk kez yeni blaVIM-38 aleli rekombinant olarak üretilmiştir. Saf protein ile çeşitli substratlar ile spektrofotometrik kinetik ölçümler devam etmektedir. Bazı korunmuş aminoasitlerin fonksiyonlarının belirlenmesi için pETTOPOR vektörü üzerinden yönlendirilmiş mutasyonlar gerçekleştirildi. Rekombinant mutant proteinler üretilerek aktivite deneylerinin tekrardan gerçekleştirilmesi ve orjinal aktivite ile karşılaştırılması çalışmaları başlatılmıştır

**Anahtar Kelimeler:** Beta-laktamaz, VIM-38

## İdrar Kültürlerinden İzole Edilen *Escherichia coli* suşları'nın Antibiyotik Duyarlılık Paterni

**Meryem İraz, Bilge Gültepe, Ayşenur Ceylan, Mehmet Ziya Doymaz**

*Bezmialem Vakıf Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Ana Bilim Dalı, İstanbul*

**Amaç:** Üriner Sistem İnfeksiyonları (ÜSİ) insanlardaki bakteriyel enfeksiyonların en yaygın sebepleri arasında yer alır. *Escherichia coli* (*E.coli*) basit ÜSİ vakalarından en sık izole edilen mikroorganizmadır. Biz bu çalışmada ÜSİ tanılı hastalardan izole edilen *E.coli* suşlarının antibiyotik duyarlılık paternini belirlemeyi amaçladık.

**Gereç-Yöntem:** Ocak 2013 - Aralık 2013 tarihleri arasında Bezmialem Vakıf Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi'ne kabul edilen hastaların idrar kültürlerinden izole edilen *E.coli* suşları retrospektif olarak değerlendirildi. Bakteriyel identifikasyon ve antibiyotik direnç oranları Vitek-2 otomatize sistem kullanılarak belirlendi.

**Bulgular:** *E.coli* izolatlarının fosfomisin (%0.6), nitrofurantoin (%5.3) ve amikasin (%8) karşı düşük direnç oranlarına sahip olduğu saptandı. Diğer antibiyotikler arasında ise en düşük duyarlılık oranları ampisilin (%64), trimetoprim/sulfametoksazol (%43.2) ve amoksisilin/klavulanik asite (%32.8) karşı tespit edildi.

**Sonuç:** Fosfomisin, nitrofurantoin ve amikasinin komplike olmayan Üriner Sistem İnfeksiyonlarının ampirik tedavisinde kullanım için uygun antimikrobiyal ajanlar olduğu düşünüldü.

**Anahtar Kelimeler:** antibiyotik direnci, *Escherichia coli*, Üriner Sistem İnfeksiyonları



## Atık Sulardan İzole Edilen Mikroorganizmalara Karşı Çeşitli antibiyotiklerinin in vitro Antimikrobiyal ve Antibiyofilm Aktivitelerinin Belirlenmesi

**Merve Bilgin<sup>1</sup>, Sibel Döşler<sup>2</sup>, Gülten Ötük<sup>2</sup>**

<sup>1</sup>Yeniüzyıl Üniversitesi Eczacılık Fakültesi, Farmasötik Mikrobiyoloji Ana Bilim Dalı, İstanbul

<sup>2</sup>İstanbul Üniversitesi Eczacılık Fakültesi, Farmasötik Mikrobiyoloji Ana Bilim Dalı, İstanbul

**Amaç:** Çalışmada 2009-2010 yılları arasında, farklı mevsimlerde İstanbul'da bulunan bir ileri biyolojik atık su arıtma tesisinin 5 farklı ünitesinden alınan örneklerden izole edilen bakterilere karşı çeşitli antibiyotiklerin in-vitro etkileri araştırılmıştır.

**Yöntem:** Antibiyotiklerin minimum inhibitör konsantrasyonları (MIK) ve minimum biyofilm eradike edici konsantrasyon (MBEK) değerleri mikrodilüsyon yöntemiyle, kombinasyon halindeki etkileri checkerboard yöntemiyle, bakterilerin biyofilm oluşturmaları kristal viyole ile boyama yöntemiyle belirlenmiş, hücrelerin yüzeye yapışmasının ve 24 saatlik biyofilm oluşumunun antibiyotiklerle inhibisyonu araştırılmıştır.

**Bulgular:** Ampisilin, doksisisiklin, vankomisin ve linezolidin izole edilen Gram pozitif bakteri suşlarına karşı MIK değerleri 0,5-16 µg/ml arasında, sefotaksim, piperasilin, amikasin, siprofloksasin ve ampisilin Gram negatif enterik ve non enterik suşlara karşı MIK değerlerinin sırasıyla <0.125-256 ve <0.125-128 µg/ml arasında olduğu belirlenmiştir. İzole edilen suşlara karşı antibiyotiklerin çeşitli kombinasyonlarının %50 oranında sinerjist %50 oranında aditif etkili oldukları belirlenmiştir. Biyofilm oluşturmalarına bakılan 15 suşun 3'ünün kuvvetli, 3'ünün orta kuvvetli, 6'sının ise zayıf biyofilm oluşturdıkları gözlenmiştir. Antibiyotiklerin biyofilm oluşturan suşlara karşı MBEK değerlerinin 80->2560 µg/ml arasında olduğu ve MIK ya da subMIK konsantrasyonlarda bakteri hücrelerinin yüzeye yapışmasını %1-64 oranında, 24 saatlik biyofilm oluşumunu ise %1-95.6 oranında inhibe ettikleri belirlenmiştir.

**Sonuç:** Atık sulardan izole edilen bakterilerin gerek antibiyotiklere olan dirençleri gerekse biyofilm oluşturma özellikleri ile halk sağlığı açısından tehlikeli olabilecekleri ve doğru şekilde temizlenmeleri gerektiği kanısındayız.

**Anahtar Kelimeler:** antibiyotik, atık su, biyofilm

## Hastane Kaynaklı *S. aureus* İzolatlarında Antimikrobiyal Direncin Değerlendirilmesi

**Fulya Bayındır Bilman<sup>1</sup>, Mine Turhanoglu<sup>2</sup>, Arzu Onur<sup>2</sup>, Zeynep Ayaydın<sup>2</sup>, Gülseren Samancı Aktar<sup>2</sup>**

<sup>1</sup>*İzmir Menemen Devlet Hastanesi, Mikrobiyoloji Laboratuvarı, İzmir*

<sup>2</sup>*Diyarbakır Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Mikrobiyoloji Kliniği, Diyarbakır*

**Amaç:** Staphylococcus aureus günümüzde, artan direnç sorunları ile birlikte toplum ve hastane kaynaklı enfeksiyonların en önemli etkenlerinden biridir. Bu çalışmada, iki yıllık bir dönemde hastanemiz yoğun bakımları, yanık ünitesi ve kliniklerinde tedavi edilen hastaların çeşitli materyallerde üremiş olan *S. aureus*'un etkeni olduğu çeşitli enfeksiyonlarda antibiyotik direncinin belirlenmesi amaçlanmıştır.

**Yöntem:** Diyarbakır Eğitim ve Araştırma Hastanesi Mikrobiyoloji Laboratuvarı'nda Ocak 2011-Ocak 2013 tarihleri arasında, yataklı tedavi gören hastaların çeşitli materyallerinde üremiş olan 292 *S. aureus* izolatı retrospektif olarak değerlendirmeye alınmıştır. Bakterinin tanımlanmasında geleneksel yöntemlerin yanısıra doğrulama ve antibiyogram işlemi için Vitek 2 (bioMerieux, Fransa) otomatize sistemi kullanılmıştır.

**Bulgular:** Mikrobiyoloji Laboratuvarı'na kabul edilen çeşitli hasta materyallerinde 292 *S. aureus* izolatı üremiştir. Bu izolatların 141'i kan, 72'si yara, 52'si balgam, 15'i dren, 10'u idrar ve 2'si boğaz kültürlerinde üremiştir. Hastaların 146'sı yoğun bakım, 10'u yanık ünitesinde, 136'sı ise farklı kliniklerde tedavi edilmekteydi. Duyarlılık testi sonuçlarına göre, *S. aureus* izolatlarının tamamı vankomisin ve teikoplanine duyarlı iken, metisiline dirençli 107(%37) izolat olduğu tespit edilmiştir. Penisilin direnci 213(%80), eritromisin direnci 123(%42), klindamisin direnci 95(%32.5), trimetoprim/sülfametoksazol direnci 16(%5.4), rifampisin direnci 21(%7.2) ve fusidik asit direnci 5 (%1.7) izolatta görülmüştür.

**Sonuç** Günümüzde hastane kökenli enfeksiyonların sorumlusu olan bakterilerin, belirli zaman aralıklarında yapılacak retrospektif değerlendirmeler ile, antibiyotik duyarlılıklarının belirlenmesi; akılcı antibiyotik kullanımı sayesinde hem direnç oranlarının azalmasına hem de tedavi maliyetinin düşmesine katkı sağlayacaktır.

**Anahtar Kelimeler:** *S. aureus*, hastane enfeksiyonları, antimikrobiyal direnç

**Tablo 1.** *S. aureus* izolatlarında antibiyotik direnç oranları.

	<i>S. aureus (n=292)</i> <i>Dirençli izolat n(%)</i>
Penisilin G	213 (80)
Eritromisin	123 (42)
Klindamisin	95 (32.5)
Oksasilin	107 (36.6)
Sefoksitin	107 (36.6)
Trimetoprim/sulfametoksazol	16 (5.4)
Teikoplanin	-
Vankomisin	-
Fusidik asit	5 (1.7)
Rifampisin	21 (7.2)

## Klinik Örneklerden İzole Edilen *Streptococcus pneumoniae* Suşlarında Antibiyotik Direnç Profilinin Değerlendirilmesi

**Barış Derya Erçal, Safiye Delice, Elife Berk, Ömür Mustafa Parkan, Murat Karauz, Demet Timur, Dinçer Koç, Duygu Perçin Renders, Hüseyin Kılıç**  
*Erciyes Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Kayseri*

**Giriş-Amaç:** *Streptococcus pneumoniae*, antibiyotiklerle tedavi edilebilen fakat yine de yüksek mortalite (%15-25) ile seyreden toplum kökenli pnömöni, sinüzit, otitis media ve menenjitin gibi hastalıklara neden olmaktadır. Penisiline azalmış duyarlılık giderek artan sıklıkta görülürken, diğer antibiyotiklere dirençli pnömokok suşlarının oranı da artmaktadır.

Bu çalışmada çeşitli örneklerden enfeksiyon etkeni olarak izole edilen *Streptococcus pneumoniae* suşlarında başta penisilin olmak üzere, sefotaksim, eritromisin, kloramfenikol, trimetoprim-sülfametoksazol ve kinolon direnç oranlarının belirlenmesi amaçlanmıştır.

**Gereç-Yöntem:** Çeşitli klinik örneklerden konvansiyonel yöntemlerle izole edilen 223 *S.pneumoniae* suşu incelenmiştir. Bunların %44.8 balgam, %16 kan, %15 bronkoalveolar lavajı, %6.4 endotrakeal aspirat, %3.5 idrar, %3 BOS, %2 plevral mayi, %1.3 konjonktival sürüntü, %1.3 yara, %1.7 kulak aspiratı, %0.8 periton sıvısı, %1.8 Apse, %0.4 endometrial kavite, %0.4 lens, %0.4 vitreus aspiratı idi. Seçilen kolonilerden 0.5 McFarland standardına eşdeğer koloni süspansiyonu hazırlanmış ve Kanlı Mueller-Hinton agar da Kirby-Bauer disk diffüzyon yöntemiyle, penisilin ve sefotaksim MİK değerleri ise E test (BioMerieux, Fransa) yöntemiyle antibiyotik duyarlılık testi çalışılmıştır. Antibiyotik duyarlılıkları Clinical and Laboratory Standards Institute standartlarına göre değerlendirilmiştir.

**Bulgular:** *S.pneumoniae* suşlarının antibiyotik direnç oranları eritromisin %39.4, trimetoprim-sülfametoksazol %35, kloramfenikol %4.4, sefotaksim %3, penisilin %3.8 ve kinolon direnci %8.8 bulundu.

**Sonuç:** *S.pneumoniae*'nin etken olduğu enfeksiyonların tedavisinde artan direnç oranlarının belirlenmesi özellikle ampirik tedavi planı açısından en akılcı seçimin yapılmasına imkan sağlayacaktır.

**Anahtar Kelimeler:** *Streptococcus pneumoniae*, antimikrobiyal duyarlılık

## Klinik *Stenotrophomonas maltophilia* İzolatlarının Antibiyotiklere Direnç Durumu

**Ömür Mustafa Parkan, Elife Berk, Barış Derya Erçal, Mustafa Altay Atalay, Demet Timur, Safiye Delice, Murat Karauz, Sebahat Yağan, Duygu Perçin Renders, Hüseyin Kılıç**  
*Erciyes Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Ana Bilim Dalı, Kayseri*

**Amaç:** *Stenotrophomonas maltophilia*, özellikle immünsüprese hastalarda ciddi nozokomiyal enfeksiyonlara yol açan ve birçok antimikrobiyale doğal dirençli nonfermentatif bir Gram negatif basildir. *S. maltophilia* enfeksiyonları %20 ile 70 arasında değişen mortalite oranlarına sahip olup, bu risk başlangıç tedavisi olarak uygun olmayan antibiyotik seçilen hastalarda daha yüksektir. Bu çalışmada hastanemizde izole edilen *S. maltophilia* suşlarının antibiyotik direnç profilinin araştırılması amaçlanmıştır.

**Yöntem:** Araştırmaya Ocak 2012 ve Ocak 2014 tarihleri arasında çeşitli örneklerden izole edilen 162 suş dahil edildi. Suşların tanımlanmasında Phoenix ID (BD Diagnostics, ABD) tam otomatize tiplendirme sistemi kullanıldı. İzolatların antibiyotik duyarlılıklarının belirlenmesinde Phoenix AST (BD Diagnostics, ABD) sistemi, Kirby-Bauer disk difüzyon ve Etest (bioMérieux, Fransa) yöntemleri kullanıldı. Sonuçlar Clinical and Laboratory Standards Institute kriterlerine göre değerlendirildi.

**Bulgular:** *S. maltophilia* izole edilen 162 hastanın 76'sı yoğun bakım ünitelerinde yatmaktaydı. Toplam 33 hasta ile hematoloji ve onkoloji klinikleri *S. maltophilia* enfeksiyonlarının ikinci sıklıkta görüldüğü yerler olmuştur. Suşların %32'si kan kültürlerinden izole edilmiş olup bunu %14.1 ve %13.5 ile endotrakeal aspirat ve bronkoalveoler lavaj örnekleri izlemiştir. Trimetoprim-sülfametoksazole direnç %22.8 oranında bulunurken, levofloksasine direnç %18.5 ve seftazidim direnci %57.4 olarak bulunmuştur.

**Sonuç:** *S. maltophilia* yoğun bakım üniteleri ve hematoloji-onkoloji servislerinde yatan hastalar başta olmak üzere debil ve immün sistemi baskılanmış kişilerde önemli bir patojen olarak karşımıza çıkmaktadır. Tedavide ilk seçenek olan trimetoprim-sülfametoksazole karşı artan direnç dünya genelinde olduğu gibi ülkemizde de dikkat çekmektedir.

**Anahtar Kelimeler:** Antibiyotik direnci, *Stenotrophomonas maltophilia*

## GES-22 Tipi Beta Laktamazın Karakterizasyonu

**Ayşegül Saral<sup>1</sup>, Cemal Sandallı<sup>2</sup>, Ayşegül Çopur Çiçek<sup>3</sup>**

<sup>1</sup>Artvin Çoruh Üniversitesi, Fen-Edebiyat Fakültesi, Biyoloji Bölümü, Artvin

<sup>2</sup>Recep Tayyip Erdoğan Üniversitesi, Fen-Edebiyat Fakültesi, Biyoloji Bölümü, Rize

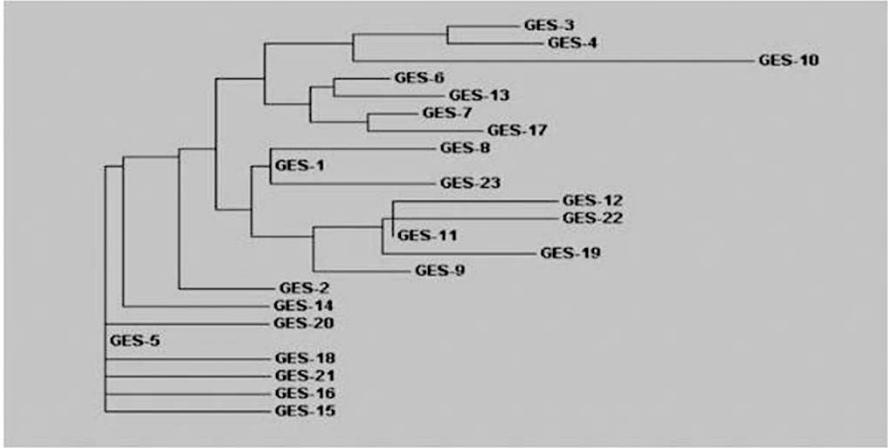
<sup>3</sup>Recep Tayyip Erdoğan Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Rize

Patojen bakteriler arasında hızla yayılan genişlemiş spektrumlu beta laktamazlar geniş spektrumlu sefalosporinler ve aztreonama karşı dirençten sorumlu olan enzimlerdir (1). Genişlemiş spektrumlu beta laktamazlar; TEM, SHV, CTX-M, OXA, BES-1, FEC-1, GES-1, CME-1, PER-1, PER-2, SFO-1, TLA-1 ve VEB-1'dir (2). GES-1, GES-2, GES-4, GES-5, GES-11, GES-12, GES-13, GES-14 ve GES-18'in substrat profilleri ve kinetik parametreleri belirlenmiştir. Yeni alellerde bir ya da iki aminoasit değişiminin neden olduğu etkiyi belirlemek antibiyotiklerin geleceği açısından önemlidir. Bu çalışmada GES-22 beta laktamazının substrat profilinin GES-11, GES-5 beta laktamazlarıyla karşılaştırılarak ortaya çıkarılması amaçlanmaktadır.

*A. baumannii* ve *P. aeruginosa* izolatlarından DNA izolasyonu yapıldı. blaGES spesifik PZR'lerin yapılarak PZR ürünlerinin ekspresyon vektörüne (pET100/D-TOPO, Invitrogen) klonlandı. Rekombinant vektörler baz dizin analizi için MacroGen'e gönderildi. pET100/D-TOPO\_GES-5, pET100/D-TOPO\_GES-11 ve pET100/D-TOPO\_GES-22 vektörleri One Shot® BL21 Star™(DE3) hücrelerine aktarıldı. Rekombinant vektörleri içeren One Shot® BL21 Star™(DE3) hücrelerinin çeşitli antibiyotiklere karşı minimum inhibisyon konsantrasyonları belirlemek için VITEK 2 System kullanıldı. Biyoinformatik programlar kullanılarak GES varyantlarının aminoasit sıraları karşılaştırıldı ve GES tipi beta laktamazların filogenetik ağacı çizildi.

BlaGES-5, blaGES-11, blaGES-22 genlerinin doğru oryantasyonda pET100/D-TOPO vektörüne klonlandığı tespit edildi. Rekombinant pET100/D-TOPO vektörlerinin One Shot® BL21 Star™(DE3) hücrelerine transforme edildi. Rekombinant vektörleri içeren hücrelerinin çeşitli antibiyotiklere karşı minimum inhibisyon konsantrasyonları belirlendi (Tablo 1). Şekil 1'de Ges beta laktamazların filogenetik ağacı verilmektedir. GES-5, GES-11 ve GES-22 proteinleri ekspres edildi ve saflaştırıldı. GES-5, GES-11 ve GES-22 ile ilgili kinetik çalışmalar devam etmektedir.

**Anahtar Kelimeler:** GES-22, beta laktamaz



Şekil 1. GES beta laktamazların filogenetik ağacı

Tablo 1. Rekombinant vektörleri içeren One Shot® BL21 Star™ (DE3) hücrelerinin MİK değerleri

	<i>GES-11</i> (One Shot® BL21 Star™ (DE3))	<i>Acinetobacter</i> <i>baumannii</i> (GES-11)	<i>GES-22</i> (One Shot® BL21 Star™ (DE3))	<i>Acinetobacter</i> <i>baumannii</i> (GES-22)	<i>GES-5</i> (One Shot® BL21 Star™ (DE3))
Ampisilin/Sulbaktam	>=32	>=32	>=32	>=32	>=32
Piperasilin	>=128	>=128	>=128	>=128	>=128
Piperasilin/Tazobaktam	<=4	>=128	64	>=128	64
Seftazidim	<=1	>=64	<=1	>=64	<=1
Sefoperazon/Sulbaktam	<=8	>=64	<=8	>=64	<=8
Sefepim	<=1	>=64	<=1	>=64	<=1
İmipenem	<=0,25	>=16	<=0,25	>=16	<=0,25
Meropenem	<=0,25	>=16	<=0,25	>=16	<=0,25

## **Shigella İzolatlarının Türlerine Göre Dağılımı ve Antibiyotik Duyarlılık Profilleri**

**Murat Karauz, Barış Derya Erçal, Elife Berk, Mustafa Altay Atalay, Safiye Delice, Demet Timur, Ömür Mustafa Parkan, Canan Şanlı, Duygu Perçin Renders, Hüseyin Kılıç**  
*Erciyes Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Ana Bilim Dalı, Kayseri*

**Giriş-Amaç:** İnsandan insana fekal-oral yolla bulaşan *Shigella* enfeksiyonları, dünya genelinde yılda yaklaşık 150 milyon vakaya neden olmaktadır. Virulan bir tür olan *Shigella dysenteriae* salgınları %5-15 vaka fatalite hızına sahiptir. Bu çalışmada, Erciyes Üniversitesi Tıp Fakültesi Bakteriyojoloji Laboratuvarı'na gönderilen klinik örneklerden izole edilen *Shigella* cinsi bakterilerin tanımlanması ve antibiyotik duyarlılık durumlarının araştırılması amaçlanmıştır.

**Yöntem:** Erciyes Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastaneleri poliklinik (%60.52) ve servislerinden (%39.47) Ocak 2010-Aralık 2013 tarihleri arasında izole edilen 38 *Shigella* cinsi bakteri çalışmaya alındı. İzolatlar konvansiyonel yöntemler ile tanımlandı ve uygun antiserumlar (Difco, ABD) kullanılarak serogrupları belirlendi. Suşların ampisilin, kloramfenikol, trimetoprim-sülfametoksazol (TMP-SXT), sefotaksim ve siprofloksasine karşı antibiyotik duyarlılıkları Kirby-Bauer disk difüzyon yöntemiyle belirlendi. Sonuçlar Clinical and Laboratory Standards Institute kriterlerine uygun olarak değerlendirildi.

**Bulgular:** Çalışmaya dahil edilen suşların %81.57'si çocuk ve %13.15'i erişkin hasta grubundan izole edilmiştir. İzole edilen toplam 38 suşun %52.63'ü *S. sonnei*, %31.57'si *S. flexneri*, %10.52'si *S. boydii* ve %5.26'sı *S. dysenteriae* olarak tanımlandı. Antibiyotik direnç oranları sırasıyla TMP-SXT'e %63.1, ampisiline %55.2, sefotaksime %21, kloramfenikole %10.5 ve siprofloksasine %2.6 olarak bulunmuştur.

**Sonuç:** Son yıllarda çoklu ilaca dirençli *Shigella* enfeksiyonu salgınları rapor edilmektedir. Çalışmamızda da TMP-SXT ve ampisiline yüksek oranda direnç bulunmuştur. *Shigella* izolatlarının hızlı identifikasyon ve tiplendirme ile birlikte antibiyotik direnç profillerinin belirlenmesinin antibiyotik seçimi ve mortaliteyi azaltma açısından faydalı olacağı sonucuna varılmıştır.

**Anahtar Kelimeler:** Antibiyotik Duyarlılık, *Shigella*



## Çeşitli Klinik Örneklerden İzole Edilen Stafilokok Suşlarında Metisilin Direnci ve Slime İlişkisi

**Banu Kaşkatepe, Şükran Öztürk, Sulhiye Yıldız**

Ankara Üniversitesi Eczacılık Fakültesi, Farmasötik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Ankara

**Amaç:** Stafilokoklar adheransı kolaylaştıran slime oluşturabilme özelliğine sahiptirler. Slime oluşumu mikroorganizmaların protez, katater gibi biyomateryalleri kaplayan biyofilmler oluşurtmasını ve antimikrobiyal ajanların inhibe edici etkisinden korunmalarını sağlamaktadır. Bu çalışmada çeşitli klinik örneklerden izole edilen stafilokok suşlarında metisilin direnci ve slime oluşumu arasındaki ilişkinin araştırılması amaçlanmıştır.

**Yöntem:** Çalışmaya 71 metisilin dirençli (MRSA) ve 25 metisilin duyarlı (MSSA) *Staphylococcus aureus*, 82 metisilin dirençli (MRKNS) ve 25 metisilin duyarlı koagülaz negatif stafilokok (MSKNS) olmak üzere toplam 203 stafilokok suşu dahil edilmiştir. Mikroorganizmaların metisilin direnci sefoksitin (30µg, Oxoid) diski kullanılarak "Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI)" kriterlerine göre Kirby Bauer disk difüzyon yöntemiyle belirlenmiştir. Suşların, slime faktörü oluşumları ise kongo kırmızı agar yöntemi kullanılarak araştırılmıştır. Verilerin istatistiksel değerlendirmeleri SPSS (Version,17.0) paket programı kullanılarak ki-kare testi ile yapılmıştır.

**Bulgular ve Sonuç:** 71 MRSA izolatının 10 (%14.08)'u, 25 MSSA izolatının 6'sı (%24), 82 MRKNS izolatının 5(%6.09)'i ve 25 MSKNS izolatın 3'ünün (%12) slime faktörü oluşturduğu bulunmuştur. Slime oluşturma oranı *S. aureus* suşlarında Koagülaz negatif stafilokoklara göre daha yüksek bulunmuştur ancak metisilin direnci açısından incelendiğinde yapılan istatistiksel değerlendirme sonucunda, metisilin dirençli suşlar ile metisilin duyarlı suşlar arasında slime oluşumu açısından istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamıştır ( $p=0.119$ ). Elde edilen veriler doğrultusunda metisilin direnci ile slime oluşumu arasında paralel bir ilişkinin olmadığı sonucuna varılmıştır.

**Anahtar Kelimeler:** Metisilin direnci, slime, stafilokok

## Kan Kültürlerinden İzole Edilen *Escherichia coli* ve *Klebsiella pneumoniae* İzolatlarında Genişlemiş Spektrumlu beta-laktamaz Sıklığı ve Bazı Antibiyotiklere Direnç Oranları

**Asiye Altınöz Aytar, Emel Çalışkan, Gülsüm Biten Güven, Elif Kaş**

Keçiören Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Ankara

Bu çalışmada, Ocak 2010- 2014 yılları arasında kan kültürlerinden izole edilen *E.coli* ve *K.pneumoniae* suşlarında GSBL sıklığının tespit edilmesi ve izolatların antimikrobiyal duyarlılıklarının araştırılması amaçlanmıştır. Keçiören Eğitim ve Araştırma Hastanesi Mikrobiyoloji Laboratuvarına gönderilen kan kültürlerinde üreyen mikroorganizmaların identifikasyonunda klasik yöntemler ve VITEK 2 otomatize sistemi (bioMerieux,Fransa) kullanılmıştır. Tiplendirme sonrasında mikroorganizmaların antibiyotik duyarlılık testleri VITEK 2 sistemi ve Kirby-Bauer disk difüzyon yöntemi ile yapılmış, Clinical Laboratory Standards Institute (CLSI)'nin önerilerine göre yorumlanmıştır. GSBL varlığının saptanması için kombine disk yöntemi kullanılmıştır. Sonuçlar retrospektif olarak incelenmiştir. Laboratuvarımıza Ocak 2010-2014 tarihleri arasında 9315 kan kültürü gönderilmiş olup, üreme olmayanların sayısı 7332, cilt florası ile kontaminasyon sayısı 486 olarak saptanmıştır. Üreme olan kan kültürlerinin 120'sinde *E.coli*, 79'unda *K. pneumoniae* suşları izole edilmiştir. Bu suşların gönderildiği servislere göre dağılımı; 94'ü(%47) yoğun bakım ünitesi, 29'u(%14,6) dahiliye yoğun bakım ünitesi, 26'sı (%13)dahiliye servisi, 18'i (%9) üroloji servisi, 13'ü (%6,5) yenidoğan yoğun bakım ünitesi ve %10' unu diğer servislere oluşturmaktadır. Toplamda 199 suşun 120'sinde (%60) GSBL pozitif olarak saptanmıştır. GSBL sıklığı *E.coli* suşları için %59 saptanmışken, *K. pneumoniae* suşları için %62 olarak saptanmıştır. Suşların antibiyotiklere direnç oranları aşağıdaki tabloda verilmiştir.

Hastanemizde kan kültürlerinden izole edilen *E.coli* ve *K. pneumoniae* suşlarına karşı en etkili antibiyotikler imipenem ve amikasin olarak saptanmıştır. GSBL pozitifliği ise yüksek oranda bulunmuştur. Bu nedenle her hastanede antibiyotik direnç profili belirlenmeli, ampirik tedavi seçenekleri bu sonuçlara göre değerlendirilmeli ve spesifik tedavi seçiminde mutlaka kültür sonucuna göre antibiyotik başlanmalıdır.

**Anahtar Kelimeler:** GSBL, *E.coli*, *K.pneumoniae*

**Tablo 1.** *E.coli* ve *K.pneumoniae* suşlarının antibiyotiklere direnç oranları

Bakteri	CRO	CIP	AK	AMC	AM	CN	IPM	TPZ	CZ	SXT
<i>E.coli</i> n:120	70	63	10	65	95	33	-	42	77	59
<i>K.pneumoniae</i> n:79	56	35	6	46	79	31	11	41	59	16
Total (n:199) %	126 %63	98 %50	16 %8	111 %56	174 %87	64 %32	11 %6	83 %42	136 %68	75 %38

**CRO:**seftriakson, **CIP:**siprofloksasin, **AK:**amikasin, **AM:**ampisilin, **CN:**gentamisin, **IPM:**imipenem, **TPZ:**piperasilin tazobaktam, **CZ:**sefzololin, **SXT:**trimetoprim-sulfometeksazol,

## Kan Kültürlerinden İzole Edilen *Pseudomonas Aeruginosa* Suşlarının Antibiyotiklere Duyarlılıkları

Demet Timur, **Barış Derya Erçal**, Elife Berk, Esmâ Gündüz Kaya, Ömür Mustafa Parkan, Safiye Delice, Murat Karauz, Kasım Karacagil, Duygu Perçin Renders, Hüseyin Kılıç  
Erciyes Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Kayseri

**Giriş ve Amaç:** *Pseudomonas aeruginosa* medikal aletlerde, hastane ortamında ve hatta dezenfektanlar içinde üreyebilen, nozokomiyal enfeksiyonlara neden olabilen bir gram negatif basildir. Yapılan çalışmalarda karbapenemlerin kullanımında görülen artış ile dirençli *P. aeruginosa* artışı arasında sıkı ilişki saptanmıştır. Antibiyotik direnç paternlerinin belirlenmesine yönelik çalışmalar ampirik tedavide klinisyene yol göstermesi açısından yararlıdır. Bu çalışmada hastanemizde yatan hastaların kan kültürlerinde üreyen *P. aeruginosa* suşlarının dağılımı ve antibiyotik duyarlılıklarının belirlenmesi amaçlanmıştır.

**Gereç ve Yöntem:** Ocak 2011 ve Aralık 2013 tarihleri arasında Erciyes Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi Mikrobiyoloji Laboratuvarı'nda kan kültürlerinde üreyen 134 suş çalışmaya alınmıştır. Konvansiyonel yöntemler ile *Pseudomonas* olarak belirlenen kökenler, Phoenix ID (BD Diagnostics, ABD) tam otomatize tiplendirme sistemi ile tür düzeyinde tanımlanmıştır. Suşların amikasin, netilmisin, piperasilin-tazobaktam, imipenem, meropenem, seftazidim, sefepim, siprofloksasin duyarlılıkları Clinical and Laboratory Standards Institute standartlarına uygun olarak Kirby- Bauer disk difüzyon yöntemi ile belirlenmiştir.

**Bulgular:** Çalışmamızda hastaların kan kültüründe üreyen 134 *P. aeruginosa* suşlarının antibiyotik direnç oranları sırasıyla amikasin %6.7, netilmisin %12.3, piperasilin-tazobaktam %29.1, imipenem %42.5, meropenem %40.2, seftazidim %24.6, sefepim %18.6, siprofloksasin %15.6 oranında bulunmuştur.

**Sonuçlar:** *P. aeruginosa*'nın sık karşılaşılan hastane enfeksiyonu etkeni olması ve çoklu antibiyotik direnç paterni nedeniyle antibiyotik duyarlılık durumunun belirlenmesi oldukça önemlidir. Bu nedenle hastaneler belirli aralıklarla direnç paternini belirleyip ampirik tedavide klinisyene yol göstermelidir. Çalışmamızda en duyarlı antibiyotikler amikasin ve netilmisinken; karbapenemlere direnç yüksek bulunmuştur.

**Anahtar Kelimeler:** Antibiyotik duyarlılık, *Pseudomonas aeruginosa*, kan kültürü

## Toplum Kaynaklı Üriner Sistem İnfeksiyonuna Neden Olan *E. coli* ve *Klebsiella spp.* Suşlarının Çeşitli Antibiyotiklere Direnç Oranlarının ve Genişlemiş Spektrumlu Beta-Laktamaz Varlığının Değerlendirilmesi

**Emel Çalışkan<sup>1</sup>, Asiye Altınöz Aytar<sup>1</sup>, Gülsüm Biten Güven<sup>1</sup>, Elif Kaş<sup>1</sup>, Ayşe Dede<sup>2</sup>**

<sup>1</sup>Keçiören Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Mikrobiyoloji Laboratuvarı, Ankara

<sup>2</sup>Buldan Göğüs Hastalıkları Hastanesi, Mikrobiyoloji Laboratuvarı, Denizli

**Amaç:** Bu çalışmada toplum kaynaklı üriner sistem infeksiyonlarına en sık neden olan *E. coli* ve *Klebsiella spp.* suşlarının çeşitli antibiyotiklere direnç oranları ve Genişlemiş spektrumlu beta-laktamaz (GSBL) varlığının araştırılması amaçlanmıştır.

**Yöntemler:** Laboratuvarımıza Ocak 2013-Ocak 2014 tarihleri arasında, çeşitli polikliniklere başvuran hastalardan gönderilen idrar örneklerinde anlamlı üremesi saptanan *E. coli* ve *Klebsiella spp.* suşları dahil edilmiştir. Üreyen bakterilerin tanımlanmasında, konvansiyonel yöntemler ve/veya VİTEK 2 Compact System (BioMérieux, Fransa) otomatize identifikasyon sistemi kullanılmıştır. Antibiyotik duyarlılıkları Kirby-Bauer disk difüzyon yöntemi ve/veya VİTEK 2 Compact System ile; GSBL varlığı kombine disk yöntemi ile araştırılmıştır. Sonuçlar retrospektif olarak incelenmiştir.

**Bulgular:** Toplam 29.165 idrar örneğinin 22.967 (%79)'sinde üreme saptanmamış olup 2803 (%10)'ünde üreme tespit edilmiştir. Üreme olanların 2242 (%80)'si *E. coli* iken 271 (%10)'i *Klebsiella spp.* olarak saptanmıştır. GSBL sıklığı *E. coli* suşlarında %20, *Klebsiella spp.* suşlarında %24 bulunmuştur. *E. coli* ve *Klebsiella spp.* suşlarının çeşitli antibiyotiklere direnç oranları Tablo 1'de gösterilmiştir.

**Sonuç:** Sonuç olarak, direnç gelişimini önlemek amacıyla toplum kaynaklı üriner sistem infeksiyonlarında ilk sırada tercih edilen antibiyotiklere azımsanmayacak düzeyde direnç olduğu ve GSBL oranlarının da yüksek olduğu saptanmıştır. Ayrıca sefuroksim, gentamisin ve amikasin dışındaki antibiyotiklere karşı *Klebsiella spp.* suşlarında duyarlılığın *E. coli* suşlarından daha az olduğu görülmüştür. Bu nedenle de üriner sistem infeksiyonlarında tedavinin etkinliği açısından bakteri identifikasyonu ve antibiyogram sonuçlarına göre tedaviye başlanması önem arz etmektedir. Ampirik tedavinin uygulanması gereken durumlarda ise her hastanenin kendi direnç profilini göz önünde bulundurması gerektiği düşünülmüştür.

**Anahtar Kelimeler:** Antibiyotik direnci, *E. coli*, *Klebsiella spp.*

**Tablo 1.** *E. coli* ve *Klebsiella spp.* suşlarının çeşitli antibiyotiklere duyarlılık oranları (%)

Antibiyotik	<i>E. coli</i>			<i>Klebsiella spp</i>			P değeri
	Duyarlı	Orta Duyarlı	Dirençli	Duyarlı	Orta Duyarlı	Dirençli	
Ampisilin	28	4	68	-	-	100	<0.05
AMC	69	7	24	60	7	33	<0.05
Piperasilin	43	2	55	30	3	67	<0.05
TPZ	77	4	19	64	6	30	<0.05
Sefazolin	69	2	29	59	1	40	<0.05
Sefuroksim	78	-	22	72	-	28	>0.05
Seftriakson	79	-	21	73	-	27	<0.05
Gentamisin	80	2	18	82	2	16	>0.05
Amikasin	89	4	7	85	5	10	>0.05
SXT	61	-	39	74	-	26	<0.05
Nitrofurantoin	84	2	14	46	2	52	<0.05
Norfloksasin	84	-	16	89	1	10	<0.05
Siprofloksasin	84	1	15	88	2	10	<0.05
İmipenem	100	-	-	99	0.5	0.5	<0.05

**AMC:** Amoksisilin-klavulanik asit, **TPZ:** Piperasilin-tazobaktam, **SXT:** Trimetoprim-sulfametoksazol

## İdrar Kültürlerinden İzole Edilen *Candida* Türleri ve Antifungal Duyarlılıkları

**Asiye Altınöz Aytar, Gülsüm Biten Güven, Emel Çalışkan, Elif Kaş**

*Keçioşen Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Ankara*

**Amaç:** *Candida* türleri de üriner sistem infeksiyonlarına neden olan fungal etyolojinin büyük bir kısmından sorumlu tutulmaktadır. *Candida* türlerinin neden olduğu ÜSİ'de en sık etken olarak *C. albicans* karşımıza çıkmaktadır. Çalışmamızda 4 yıllık bir dönemde idrar kültürlerinde *Candida* türlerinin dağılımı ve antifungal duyarlılıklarının saptanması amaçlanmıştır.

**Yöntemler:** Laboratuvarımıza çeşitli kliniklerden Ocak 2010- 2014 tarihleri arasında gönderilen idrar kültürlerinden izole edilen 264 *Candida* suşu çalışmaya dahil edilmiş ve retrospektif olarak incelenmiştir. *Candida* türlerinin tiplendirilmesi ve antifungal duyarlılığının tespitinde konvansiyonel yöntemlerin yanında VITEK 2 Compact System (BioMérieux, Fransa) kullanılmıştır.

**Bulgular:** Çalışmamızda laboratuvara gönderilen örneklerin servislere göre dağılımı incelendiğinde; 121'i (%46) yoğun bakım ünitesi, 68'i (%26) dahiliye yoğun bakım ünitesi, 28'i (%11) dahiliye servisi, 11'i (%4) pediatri servisi, 3'ü (%1) yenidoğan yoğun bakım ünitesi, 11'i (%4) üroloji servisi, 7'si (%3) kadın doğum servisi, kalan %9'luk kısmının da diğer servislerden kaynaklandığı saptanmıştır. Çalışmaya alınan izolatların 158'i *C. albicans*, 62'si *C. tropicalis*, 15'i *C. parapsilosis*, 13'ü *C. kefyr*, 6'sı *C. glabrata*, 4'ü *C. lusitaniae*, 3'ü *C. krusei*, 1'i *C. dubliniensis*, 1'i *C. famata*, 1'i *C. norvogensis* olarak saptanmıştır.

İzolatların flusitozin, flukonazol, vorikonazol, amfoterisin B' ye karşı direnç oranları sırasıyla; %1.5, %1.1, %0.4, %0.8 olarak saptanmıştır. Flukonazolde görülen direnç oranı bu antifungale doğal dirençli olduğu bilinen *C. krusei*' den kaynaklanmaktadır.

**Sonuç:** Kandidüri etkeni olarak hastanemizde en sık *C. albicans* ve *C. tropicalis* türleri izole edilmiştir. Her hastanenin *Candida* türleri tanımlaması ve antifungal duyarlılık testlerinin akılcı tedavi seçimi, direnç oranlarının kontrol altında tutulması için yapılması gerektiği düşünölmüştür.

**Anahtar Kelimeler:** candida, antifungal duyarlılık

## Çeşitli Antifungallerin Değişen Konsantrasyonlarda *Candida albicans* Suşlarının Yüze Adezyonunu Engellemesinin Araştırılması

Mayram Tüysüz<sup>1</sup>, Sibel Döşler<sup>1</sup>, Neşe İnan<sup>2</sup>, Gülten Ötük<sup>1</sup>

<sup>1</sup>İstanbul Üniversitesi Eczacılık Fakültesi, Farmasötik Mikrobiyoloji Ana Bilim Dalı, İstanbul

<sup>2</sup>İstanbul Bilim Üniversitesi Tıp Fakültesi, Mikrobiyoloji Ana Bilim Dalı, İstanbul

**Amaç:** Deri, müköz membranlar ve gastrointestinal sistemin normal flora elemanları olan *Candida* cinsi mantarlar yüze ve ciddi sistemik enfeksiyonlar oluşturabilen fırsatçı mikroorganizmalardır. Biyofilm oluşumu, *Candida*'ların en önemli virulans faktörlerindedir. Çalışmamızda, biyofilm oluşumunun ilk aşaması olan, *Candida albicans*'ların yüze adezyonunun çeşitli antifungaller tarafından engellenmesi araştırılmıştır.

**Yöntem:** Grup Florence Nightingale Hastaneleri, onkoloji ve yoğun bakım ünitelerindeki hastaların kan kültürlerinden izole edilmiş ve biyofilm oluşturma özellikleri modifiye mikroplak yöntem ile belirlenmiş olan 4 klinik ve bir standart *C.albicans* suşuna karşı çeşitli antifungallerinin minimal inhibitör konsantrasyon (MİK) değerleri mikrodilüsyon yöntemi ile saptanmıştır. *C.albicans*'ların yüze adezyonunun engellenmesi ise antifungallerin 1x, 1/10x ve 1/100x MİK konsantrasyonlarında 2., 4. ve 6. saatlerin sonunda mikroplak okuyucu yardımıyla tespit edilmiştir.

**Bulgular:** Antifungal duyarlılık deneyi sonucunda elde edilen MİK değerleri amfoterisin B, flukonazol, itraconazol, anidulafungin ve kaspofungin için sırasıyla 0,25-1, 0,25-0,5, 0,125-0,5, 0,06-8 ve 0.0005-0,125 µg/ml aralığında bulunmuştur. Adezyonun ve dolayısıyla biyofilm oluşumunun engellenme oranlarının, çalışılan süre ve konsantrasyona bağlı olarak değişmekle birlikte amfoterisin B için %89-(-62), flukonazol için %57-(-68), itraconazol için %54-(-52), anidulafungin için %79-(-43) ve kaspofungin için %79-(-31) aralığında olduğu belirlenmiştir.

**Sonuç:** Hemokültürlerden izole edilen *Candida* suşlarının yüze adezyonunun engellenmesinin süre ve konsantrasyona bağlı olarak değiştiği, inhibisyonun MİK konsantrasyonunda en yüksek, 1/100xMİK'de ise en düşük oranda (- değerlerde) olduğu tespit edilmiştir. Bu sonuçlar antifungal-lerin MİK veya 1/10 MİK konsantrasyonlarda hücrelerin yüze yapışmasını dolayısıyla da biyofilm oluşturmalarını engelleyebildiklerini göstermiştir.

**Anahtar Kelimeler:** *Candida albicans*, biyofilm, adezyon

## Yoğun Bakım Ünitesinden Gönderilen Çeşitli Klinik Örneklerde Saptanan Stafilkok Suşlarında Metisilin Direnci Sıklığının Araştırılması

**Elif Kaş, Emel Çalışkan, Gülsüm Biten Güven, Asiye Altınöz Aytaç**

*Keçiören Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Ankara*

**Amaç:** Stafilkok infeksiyonları yoğun bakım üniteleri (YBÜ)nde sık görülen ve artan metisilin direnci nedeniyle de tedavisinde güçlükler yaşanabilen infeksiyonlardır. Bu çalışmada laboratuvarımıza hastanemizin yoğun bakım ünitelerinden gönderilen çeşitli klinik örneklerde saptanan *Staphylococcus aureus* ve Koagülaz negatif stafilkok (KNS) suşlarının metisilin direnci araştırılmıştır.

**Yöntemler:** Keçiören Eğitim ve Araştırma Hastanesi Mikrobiyoloji Laboratuvarı'na Ocak 2013–Ocak 2014 tarihleri arasında, yoğun bakım ünitelerinden gönderilen çeşitli klinik örneklerde saptanan *S. aureus* ve KNS suşlarının tanımlanmasında, konvansiyonel yöntemler ve/veya VİTEK 2 Compact System (BioMérieux, Fransa) otomatize identifikasyon sistemi kullanılmıştır. Metisilin duyarlılıkları ise 30 µg'lık sefoksitin diski (Bioanalyse, Türkiye) ve/veya VİTEK 2 Compact System ile çalışılmıştır.

**Bulgular:** Toplam 482 örnekte üreme saptanmış olup, aynı hastaya ait birden fazla örnek çalışmaya dahil edilmemiştir. Örneklerin 106'sında *Staphylococcus spp.* saptanmış olup, diğer mikroorganizmalar sırasıyla; *E.coli*(92), *Klebsiella spp.*(80), *Pseudomonas aeruginosa* (63), *Candida spp.* (48), *Acinetobacter baumannii*(37), *Serratia marcescens*(15), *Enterococcus spp.*(10), *Enterobacter spp.* (8), *Stenotrophomonas maltophilia*(6), *Streptococcus pneumoniae* (6), *Proteus spp* (5), *Achromobacter denitrificans* (4), *Morganella morganii* (2) olarak bulunmuştur. Stafilkok suşlarının metisilin direnç oranları Tablo 1'de gösterilmiştir.

**Sonuç:** Çalışmamızda YBÜ'de metisilin direnci toplamda %63 olarak saptanmış olup, KNS suşlarındaki direnç oranı *S. aureus* suşlarından anlamlı olarak yüksek bulunmuştur. Bu nedenle yoğun bakım ünitelerinde kullanılan glikopeptid oranını azaltabilmek için stafilkoklarda tür düzeyinde ayırma gidilmesi ve antibiyogram sonucuna göre tedavinin düzenlenmesi gerektiği düşünülmüştür.

**Anahtar Kelimeler:** metisilin direnci, stafilkok, yoğun bakım

**Tablo 1.** Stafilkok suşlarının metisilin direnç oranları

	<i>metisilin direnci</i>	<i>metisilin direnci</i>
	<i>KNS</i>	<i>S. aureus</i>
Dahili yoğun bakım	13 (%93)	3 (%33)
Cerrahi yoğun bakım	43 (%83)	8 (%26)
Toplam	56 (%85)	11 (%28)



## İdrar Kültürlerinde Üreyen *E.coli* İzolatlarında Antibakteriyel Direnç Oranlarındaki 3 Yıllık Veriler

**Fulya Bayındır Bilman<sup>1</sup>, Mine Turhanoglu<sup>2</sup>, Arzu Onur<sup>2</sup>, Şafak Kaya<sup>3</sup>**

<sup>1</sup>*İzmir Menemen Devlet Hastanesi, Mikrobiyoloji Laboratuvarı, İzmir*

<sup>2</sup>*Diyarbakır Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Mikrobiyoloji Kliniği, Diyarbakır*

<sup>3</sup>*Diyarbakır Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Enfeksiyon Hastalıkları Kliniği, Diyarbakır*

**Amaç:** Yıllar içinde üriner sistem enfeksiyonlarında en sık karşılaştığımız etken olan *Escherichia coli*, eskiden yaygın kullanılan antibiyotiklere karşı duyarlı iken günümüzde artık dirençli suşlar olarak izole edilmeye başlanmıştır. Bu nedenle direnç ile ilgili sürveyans verilerinin dikkatli bir şekilde takibi gerekmektedir.

**Yöntem:** Diyarbakır Eğitim ve Araştırma Hastanesi poliklinik ve kliniklerinde Ocak 2011-Haziran 2013 tarihleri arasında tedavi görmüş 1072 hastanın idrar kültürlerinden izole edilmiş olan *E.coli* izolatları retrospektif olarak değerlendirilmiştir. Bakterilerin tanımlanması konvansiyonel yöntemlerin yanında Vitek 2 otomatize sistemi (bioMerieux, Fransa) ile antibiyotik duyarlılıkları da Kirby-Bauer disk difüzyon yöntemi ve yine Vitek 2 otomatize sistemi ile yapılmıştır.

**Bulgular:** İdrar kültürü yapılmış olan hastaların yaş gruplarına bakıldığında 26'sı 1-15 yaş arası, 738'i 15-65 yaş arası, 308'i ise 65 yaş üzerindedir. *E.coli* izolatlarının 662'si poliklinik hastalarında, 410'u klinikler ve yoğun bakımlarda tedavi görmekte olan hastaların idrar kültürlerinde üremiştir. İzolatlar en çok amikasin, imipenem, meropenem, ertapenem, nitrofurantoin ve fosfomisine duyarlı bulunurken, ampicilin, seftriakson ve trimetoprim/sulfametoksazol'e karşı direnç dikkat çekmiştir.

**Sonuç:** Ülkemiz koşullarında, sık karşılaştığımız üriner sistem enfeksiyonlarında siprofloksasin veya diğer kinolonlar gibi geniş spektrumlu antibiyotiklerin komplike enfeksiyonların tedavisi için saklanması ve nonkomplike üriner sistem enfeksiyonlarının birinci basamak ampirik tedavisinde fosfomisinin ve nitrofurantoin'in kullanılmasının akılcı olacağı sonucuna varılmıştır.

**Anahtar Kelimeler:** *E.coli*, üriner sistem enfeksiyonları, antibakteriyel direnç

**Tablo 1.** İdrar kültürlerinde üreyen *E.coli* izolatlarında antibiyotiklere karşı direnç oranları.

<b><i>E.coli</i> n=1072</b>	<b>2011 (n=294) Dirençli izolat sayısı (%)</b>	<b>2012 (n=393) Dirençli izolat sayısı (%)</b>	<b>2013 (n=385) Dirençli izolat sayısı (%)</b>
Ampisilin	203 (69)	266 (68)	178 (46)
Amoksisilin/klavulonik asit	85 (29)	139 (35)	88 (23)
Sefoksitin	56 (19)	64 (16)	31 (8)
Seftriakson	160 (54)	227 (58)	133 (35)
Seftazidim	89 (30)	151 (38)	123 (32)
Sefepim	55 (19)	55 (14)	40 (10)
Fosfomisin	-	4 (1)	-
Nitrofurantoin	12 (4)	27 (7)	8 (2)
Siprofloksasin	83 (28)	180 (46)	149 (39)
Gentamisin	87 (30)	103 (26)	86 (22)
Amikasin	2 (0.6)	9 (2)	4 (1)
İmipenem	9 (3)	1 (0.2)	5 (1.2)
Meropenem	9 (3)	2 (0.5)	4 (1)
Ertapenem	7 (2.4)	3 (0.7)	-
Trimetoprim/sulfametoksazol	118 (40)	203 (52)	166 (43)

## Çeşitli Klinik Örneklerden İzole Edilen *Staphylococcus aureus* Suşlarının Antibiyotiklere Direnç Oranları

**Hatice Türk Dağı, Ayşe Rüveyda Uğur, İnci Tuncer**

*Selçuk Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Konya*

*Staphylococcus aureus* insanların deri ve burunlarında flora elemanı olarak bulunabilen, hastane ve toplumsal kaynaklı enfeksiyonlara neden olan önemli bir insan patojenidir. Antibiyotik kullanımının oluşturduğu seçici baskı stafilokoklarda çok kısa sürede direnç gelişmesine neden olmuştur. Bu çalışmanın amacı çeşitli klinik örneklerden izole edilen *S. aureus* suşlarının antibiyotik direnç oranlarını araştırmaktır.

Selçuk Üniversitesi Tıp Fakültesi Mikrobiyoloji Laboratuvarı'nda izole edilen *S. aureus* suşlarının antibiyotiklere direnç oranları retrospektif olarak incelenmiştir. Bakteri identifikasyonu ve antibiyotik duyarlılık testi VITEK 2 (bioMerieux, Fransa) otomatize sistemi kullanılarak yapılmıştır.

Bu çalışmada 2009-2013 yıllarında çeşitli klinik örneklerden 427 *S. aureus* suşu izole edilmiştir. Çalışmaya alınan *S. aureus* suşları en çok Ortopedi (%19.9), İç hastalıkları (%16.9) ve Enfeksiyon Hastalıkları (%13.4) kliniklerine başvuran hastalardan ve en sık yara (%45), kan (%12.4) ve drenaj sıvısı (%9.8) örneklerinden izole edilmiştir. 427 *S. aureus* suşununun 76'sında (%17.8) metisilin direnci saptanmıştır. Vankomisin, teikoplanin ve tigesikline direnç tespit edilmemiştir. Diğer antibiyotiklere direnç oranları; Penisiline %86.2, tetrasikline %23.4, eritromisine %22.7, siprofloksasine %16.4, levofloksasine %13.1, rifampine %12.9, fusidik aside %11.2, gentamisine %9.1, moksifloksasine %8.6, fosfomisine %8.4, trimetoprim/sülfametoksazole %4.2, nitrofurantoin ve mupirosine %1.9 ve linezolidde %1.4 olarak belirlenmiştir. 24 (%5.6) suşta yapısal, 21 (%4.9) suşta indüklenebilir klindamisin direnci tespit edilmiştir.

Sonuç olarak, çalışmamızda *S. aureus* suşlarında vankomisin, teikoplanin ve tigesikline direnç saptanmamıştır. Penisiline direnç oranı yüksek iken metisiline ve diğer antibiyotiklere direnç oranları ise düşüktür.

**Anahtar Kelimeler:** Antibiyotik, direnç, *Staphylococcus aureus*

## Çeşitli Klinik Örneklerden İzole Edilen *Serratia marcescens* Suşlarının Antibiyotiklere Duyarlılık Oranları

**Hatice Türk Dağı, Feysa Alp, İnci Tuncer**

*Selçuk Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Konya*

*Serratia marcescens* yatan hastalarda üriner sistem, solunum sistemi, yara, septik artrit ve peritonit gibi enfeksiyonlara neden olan nozokomiyal bir patojendir. *S. marcescens* genetik direnç kazanma özelliği sayesinde antibiyotiklerin çoğuna direnç geliştirmektedir. Ayrıca antibiyotiklerin gelişigüzel ve ampirik kullanılması dirençli suşların seçimine neden olmaktadır. Bu çalışmanın amacı çeşitli klinik örneklerden izole edilen *S. marcescens* suşlarının antibiyotiklere duyarlılık oranlarını saptamaktır.

Bu çalışmada 2009-2013 yıllarında çeşitli klinik örneklerden izole edilen *S. marcescens* suşlarının antibiyotiklere duyarlılık oranları retrospektif olarak incelenmiştir. Bakteri identifikasyonu ve antibiyotik duyarlılık testi VITEK 2 (bioMerieux, Fransa) otomatize sistemi kullanılarak yapılmıştır.

Çalışmaya alınan *S. marcescens* suşları en çok Göğüs Cerrahisi (%34.5) ve Reanimasyon yoğun bakım ünitesi (%15.5) ve Göğüs Hastalıkları (%10.4) kliniklerinde yatan hastalardan ve en sık drenaj sıvısı (%27.6), bronkoalveolar lavaj sıvısı (%20.7) ve yara (%20.7) örneklerinden izole edilmiştir. İzole edilen suşların antibiyotiklere duyarlılık oranları; meropenem %96.6, imipenem %91.4, amikasin %93.1, siprofloksasin %86.2, sefepim %69, gentamisin %65.5, seftazidim %56.9, seftriakson %55.2, trimetoprim/sülfametoksazol %62.1 ve piperasilin-tazobaktam %50 olarak saptanmıştır.

Sonuç olarak, çalışmamızda meropenem ve amikasinin *S. marcescens* suşlarına diğer antibiyotiklerden daha etkili olduğu, ancak *Enterobacteriaceae* için son seçenek olarak kabul edilen meropenem bile direnç gelişmeye başladığı belirlenmiştir. Hastane florası ile ilgili bilgi eksikliği ve antimikrobiyal terapötiklerin uygun kullanılmaması antimikrobiyal dirence ve dirençli suşların seçilmesine yol açabilir. Özellikle bu tür direnç kazanabilen bakterilerin duyarlılık oranlarının bilinmesi ve takip edilmesi gereklidir.

**Anahtar Kelimeler:** Antibiyotik, duyarlılık, *Serratia marcescens*

## Hacettepe Üniversitesi Merkez Laboratuvarına Gönderilen Alt Solunum Yolu Örneklerinden İzole Edilen *Streptococcus pneumoniae* Suşlarında Antibiyotik Direncinin CLSI ve EUCAST Rehberlerine Göre Karşılaştırılması (2012-2013)

Özben Özden, Salih Maçın, Yakut Akyön Yılmaz, Deniz Gür

Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Mikrobiyoloji Ana Bilim Dalı, Ankara

*S.pneumoniae* başta bakteriyel pnömoni olmak üzere sinüzit, menenjit ve otitis media gibi toplum kaynaklı enfeksiyonların en sık nedenlerindedir. Bu etkene bağlı enfeksiyonların tedavisinde tercih edilen antibiyotiklere karşı direncin artmakta olduğu gözlenmektedir.

**Amaç:** Bu çalışmada alt solunum yolu örneklerinden izole edilen *S. pneumoniae* suşlarının çeşitli antibiyotiklere direnç oranları araştırılmış ve sonuçlar The Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) ve The European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing (EUCAST) rehberlerinde belirtilen sınır değerleri esas alınarak kıyaslanmıştır.

**Gereç ve Yöntem:** Çalışmaya 01.01.2012 ile 01.01.2014 tarihleri arasında Hacettepe Üniversitesi Merkez Laboratuvarında alt solunum yolu örneklerinden izole edilen 82 adet *S. pneumoniae* suşu dahil edilmiştir. Konvansiyonel yöntemlerle tanımlanan suşların antibiyotik duyarlılık testleri %5 koyun kanlı Müller - Hilton agar kullanılarak yapılmıştır (EUCAST'ın önerdiği MH-F besiyeri kullanılmadan). Eritromisin, klindamisin, tetrasiklin, levofloksasin, rifampin, vankomisin, trimetoprim-sülfometoksazol için disk difüzyon yöntemi, penisilin için E test uygulanmıştır. Değerlendirme CLSI ve EUCAST rehberlerinde belirtilen direnç sınır değerleri esas alınarak yapılmıştır.

**Bulgular:** Çalışmada balgam (45), derin trakeal aspirasyon (DTA) (12), bronş alveoler lavaj (BAL) (25) örnekleri değerlendirilmiştir. Antibiyotik direnç sınırları orta düzeyde olan suşlar dirençli olarak kabul edilmiştir.

EUCAST rehberinde verilen önerilere göre;

1.2 g x 4 dozu uygulanıyorsa, MİK  $\leq 0.5$  mg/L olan suşlar duyarlı kabul edilmelidir. Bu kritere göre penisilin direnci %25.6

2.4 g x 4 veya 1.2 g x 6 dozu uygulanıyorsa, MİK  $\leq 1$  mg/L olan suşlar duyarlı kabul edilmelidir. Bu kritere göre; %18.2

2.4 g x 6 dozu uygulanıyorsa, MİK  $\leq 2$  mg/L olan suşlar duyarlı kabul edilmelidir. Bu kritere göre %1.2 penisilin direnci bulunmuştur.

Çalışmamızda CLSI ve EUCAST kriterleri karşılaştırıldığında; tetrasiklin direnci EUCAST rehberi esas alındığında CLSI rehberine göre daha yüksek (%50-%42.6), TMP/SMX direnci ise CLSI kriterlerine göre değerlendirildiğinde daha yüksek bulunmuştur (%64.6-%56). Penisilin oral için sonuçlar (%58.5) uyumlu bulunmuştur.

**Sonuç:** Çalışmamızda CLSI ve EUCAST kriterleri karşılaştırıldığında TMP/SMX ve tetrasiklin dışındaki diğer antibiyotiklerde uyumlu sonuçlar bulunmuştur.

**Anahtar Kelimeler:** *Streptococcus pneumoniae*, CLSI, EUCAST

**Tablo 1. S. pneumoniae** suşlarında antibiyotik direnç oranlarının karşılaştırılması

	<i>EUCAST</i>		<i>CLSI</i>	
	<i>R</i> <	<i>n</i> (%)	<i>R</i> <	<i>n</i> (%)
Oral penisilin(mg/L)	0.06-2	48 (%58.5)	0.06-2	48 (%58.5)
Parenteral penisilin (mg/L)	a	a	2-8	1 (%1.2)
Eritromisin (mm)	19-22	39 (%47.5)	15-21	39 (%47.5)
Klindamisin (mm)	19	30 (%36.5)	15-19	30 (%36.5)
Tetrasiklin (mm)	22	41 (%50)	18-23	35 (%42.6)
Levofloksasin (mm)	17	3 %3.6	13-17	3 (%3.6)
Rifampisin (mm)	17-22	2 (%2.4)	16-19	2 (%2.4)
Trimetoprim-Sülfametoksazol (mm)	15-18	46 (%56)	15-19	53 (%64.6)
Vankomisin (mm)	16	0 (%0)	16-17	0 (%0)

a: EUCAST da parenteral penisilin için sınır değerleri belirtilmemiştir.

## Kan Örneklerinden İzole Edilen Stafilokok Suşlarının İndüklenebilir Klindamisin Direncinin Araştırılması

**Merve Eylül Bozkurt, Nurten Altanlar, Ahmet Akin**

*Ankara Üniversitesi Eczacılık Fakültesi, Farmasötik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Ankara*

**Amaç:** Stafilokok kaynaklı infeksiyonların tedavisinde kullanılmakta olan Makrolid-Linkozamid-Streptogramin B (MLS<sub>B</sub>) grubu antibiyotiklerin etki mekanizmalarının benzerlik göstermesi, bu antibiyotiklere karşı çapraz direnç gelişimine neden olabilmektedir. Bu çalışmada kan örneklerinden izole edilen stafilokok suşlarında yapısal (yMLS<sub>B</sub>) ve indüklenebilir (iMLS<sub>B</sub>) klindamisin direncinin fenotipik olarak araştırılması amaçlanmıştır.

**Yöntem:** Haziran 2013- Şubat 2014 tarihleri arasında Özel Ankara Lokman Hekim Etlik Hastanesi Laboratuvarı'ndan alınan kan örneklerinden izole edilen 86 *Staphylococcus aureus* (*S. aureus*) suşu çalışma kapsamına alınmıştır. Metisilin direnci sefoksitin 30 µg (Oxoid) diski kullanılarak, indüklenebilir klindamisin direnci D-test yöntemi ile EUCAST (European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing) standartlarına göre disk difüzyon ile değerlendirilmiştir. Klindamisin diskinin etrafında oluşan inhibisyon zonunun eritromisin diskine bakan tarafında bir küntleşme olması iMLS<sub>B</sub> direnci; eritromisin ve klindamisin diskinin çevresinde inhibisyon zonunun oluşmaması yMLS<sub>B</sub> direnci; eritromisine dirençli, klindamisine duyarlı olup indüklenebilir direnç göstermeyen kökenler makrolid streptogramin B fenotipi (MSB fenotipi- efluks) olarak değerlendirilmiştir.

**Bulgular:** 86 *S. aureus* klinik izolatının 33'ü metisilin dirençli (MRSA), 53'ü metisilin duyarlı (MSSA) olarak saptanmıştır. 33 MRSA izolatının 11'inde iMLS<sub>B</sub> ve 4'ünde yMLS<sub>B</sub> direnci saptanırken, 4 izolatta ise MSB fenotipi belirlenmiş, 14 MRSA izolatı eritromisin ve klindamisine duyarlı bulunmuştur. 53 MSSA izolatının 3'ünde D test pozitifliği gözlenmiştir.

**Sonuç:** Özellikle MRSA suşlarında iMLS<sub>B</sub> direncinin görülmesi, olası tedavi başarısızlıklarının önüne geçilmesi amacıyla, eritromisin direnci tespit edilmesi durumunda bu suşların MLS<sub>B</sub> direnci yönünden de araştırılması gerekliliğini ortaya koymaktadır.

**Anahtar Kelimeler:** Disk difüzyon, MLS<sub>B</sub> direnci, MRSA

## Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi'nde 2012-2013 Yıllarında Klinik Örneklerden Soyutlanan Vankomisin Dirençli Enterokokların Değerlendirilmesi

Feriha Çilli, Emine Koçman, Şöhret Aydemir, Alper Tünger

Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, İzmir

Uygulanan enfeksiyon kontrol önlemlerine karşın vankomisin dirençli enterokok (VRE) salgınlarının kontrolü oldukça zordur. Hastanemizde son iki yılda soyutlanan VRE suşlarının dağılım ve direnç oranlarının araştırılması amaçlanmıştır.

Çalışmada Ocak 2012-Aralık 2013 tarihleri arasında Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı Bakteriyoloji Laboratuvarında soyutlanan 140 VRE suşu değerlendirilmiştir. Her hastadan bir suş değerlendirmeye alınmıştır. Soyutlanan bakterilerin tanımlaması konvansiyonel yöntemler/ VITEK 2 (Biomerieux, Fransa) veya VITEK MS (Biomerieux, Fransa) otomatik sistemleriyle yapılmıştır. CLSI önerileri doğrultusunda disk difüzyon yöntemiyle penisilin, gentamisin, teikoplanin, levofloksasin, vankomisin, tetrasiklin, streptomisin, linezolid, ve eritromisin duyarlılıkları incelenmiştir. Tigesiklin için değerlendirme EUCAST sınır değerlerine göre yapılmıştır. Disk difüzyon yönteminde saptanan vankomisin direnci E-test yöntemi ile doğrulanmıştır.

VRE suşları en sık İç Hastalıkları Anabilim Dalı (%27,8) ve Anesteziyoloji Yoğun Bakım Birimi'nden gönderilen örneklerden (%15) soyutlanmıştır. En sık rastlanan tür *Enterococcus faecium* (%99,3), en sık VRE soyutlanan örnekler kan (%32,9) ve idrar (%50) olarak bulunmuştur. Direnç oranları 2012 ve 2013 yıllarında sırasıyla tetrasiklin için %83,3 ve %94,8, gentamisin için %62,5 ve %70,3, streptomisin için %98,4 ve %98,7 olarak bulunmuştur. Soyutlanan VRE suşlarının tümü penisilin teikoplanin, ve levofloksasine karşı dirençli bulunmuştur. Test edilen antimikrobiyal ajanlar arasında etkinliği en yüksek olanlar linezolid ve tigesiklin olarak belirlenmiştir.

Bulgularımız hastanemizde VRE prevalansının özellikle yoğun bakım birimlerinde yatan kritik hastalarda yüksek olduğunu göstermektedir. VRE salgınlarının kontrolünde başarı sağlanabilmesi için kontrol önlemlerinin ve sürveyans çalışmalarının kesintisiz uygulanması, ve akılcı antibiyotik kullanımı önemlidir.

**Anahtar Kelimeler:** vankomisin dirençli enterokok, antimikrobiyal direnç



## ***Acinetobacter baumannii* Suşlarının Antimikrobiyal Direnç Profilleri: Dört Yıllık Değerlendirme**

**Gülsüm Biten Güven<sup>1</sup>, Elif Kaş<sup>1</sup>, Emel Çalışkan<sup>1</sup>, Ayşe Dede<sup>2</sup>, Asiye Altınöz Aytaç<sup>1</sup>, Tümer Güven<sup>3</sup>**

<sup>1</sup>Keçiören Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Mikrobiyoloji Laboratuvarı, Ankara

<sup>2</sup>Buldan Göğüs Hastalıkları Hastanesi, Mikrobiyoloji Laboratuvarı, Denizli

<sup>3</sup>Yıldırım Beyazıt Üniversitesi, Enfeksiyon Hastalıkları ve Klinik Mikrobiyoloji Kliniği, Ankara

**Amaç:** Bu çalışmada Keçiören Eğitim ve Araştırma Hastanesi'nde yatan hastaların çeşitli klinik örneklerinden izole edilen *A. baumannii* suşlarının antimikrobiyal direnç profillerini belirlemek ve etkin tedavi protokollerine katkı sağlamak amaçlanmıştır.

**Yöntemler:** Bu çalışmada 1 Ocak 2010-31 Aralık 2013 tarihleri arasında Ankara Keçiören Eğitim ve Araştırma Hastanesi Mikrobiyoloji Laboratuvarı'na gönderilen yatan hastalara ait klinik örneklerden izole edilen 226 *A.baumannii* suşunun antimikrobiyal direnç oranları retrospektif olarak incelenmiştir. Konvansiyonel kültür çalışmalarını takiben tüm izolatların tür düzeyinde identifikasyon ve antibiyotik duyarlılıkları VITEK 2 Compact (BioMerieux/France) otomatize sistem ile belirlenmiştir.

**Bulgular:** İzolatların klinik örneklerle göre dağılımı; 68'i (%30) kan, 75'i(%33) trakeal aspirat, 46'sı (%20) yara, 23'ü (%10) idrar, sekizi (%3) balgam, altısı (%2) diğer kültürler şeklindedir. İzole edilen suşların 168'i (%74) yoğun bakım ünitelerinde, 58'si (%26) çeşitli kliniklerde yatan hastaların örneklerinden elde edilmiştir. 2010, 2011, 2012 ve 2013 yıllarındaki yoğun bakım hastalarına ait suşların tüm yatan hastalara ait suşlara oranı sırası ile; %85, %71, %74 ve %60 şeklindedir. Antimikrobiyal direnç oranlarının yıllara göre dağılımı tabloda verilmiştir. Değerlendirmede; karbapenem grubu dışındaki diğer beta-laktamlar ve kinolonlardan sonra ampisilin/sulbaktam ve karbapenemlerdeki direnç oranlarının yüksek olduğu saptanırken, trimetoprim-sülfametoksazol ve aminoglikozidlerde ise en düşük olduğu görülmüştür.

**Sonuç:** Bu veriler ışığında, çoklu dirençli *A. baumannii* suşlarında antimikrobiyal direnç oranlarının çok yüksek olması ve merkezlere göre farklılık göstermesi nedeniyle, ampirik tedavilerin güncel direnç/duyarlılık profillerine göre belirlenmesi gerekmekte, bakteri identifikasyonu ve duyarlılık çalışmaları doğrultusunda tedavi takibinin sağlanması büyük önem taşımaktadır.

**Anahtar Kelimeler:** *Acinetobacter baumannii*, antimikrobiyal direnç

**Tablo 1.** *A.baumannii* suşlarının yıllara göre direnç oranları (%)

	<b>2010</b> <b>(n:75)</b>	<b>2011</b> <b>(n: 49)</b>	<b>2012</b> <b>(n: 57)</b>	<b>2013</b> <b>(n: 45)</b>
Gentamisin	35	43	82	66
Amikasin	39	63	82	62
Trimetoprim-sülfametoksazol	84	79	46	60
Ampisilin -sulbaktam	91	88	86	78
İmipenem	81	84	86	78
Meropenem	86	88	88	78
Siprofloksasin	88	92	88	80
Levofloksasin	92	92	88	82
Piperasilin-tazobaktam	95	94	89	80
Seftazidim	95	94	89	80
Seftriakson	96	98	96	95
Sefepim	92	92	89	80

## Genişlemiş Spektrumlu Beta-Laktamaz İçeren Gram-Negatif Enterobakterilerde blaCTX-M Gen Gruplarının Araştırılması

İlkay Bahçeci, Osman Birol Özgümüş

Recep Tayyip Erdoğan Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Rize

Son yıllarda GSBL üreten Enterobacteriaceae' ler de en sık direnç genlerinden biri olarak tanımlanan blaCTX-M enzim tipini ve subgruplarını tanımlayarak bölgemiz ve ülkemizdeki epidemiyolojik verilere katkıda bulunmayı amaçladık.

Bu çalışmada poliklinik, servis ve yoğun bakım ünitelerinden gelen çeşitli klinik örneklerden tarama testi sonuçlarına göre genişlemiş-spektrumlu beta-laktamaz (GSBL) ürettiği tespit edilmiş 276 suş çalışma kapsamında incelendi. GSBL üretimi kombine disk difüzyon yöntemi ve çift disk sinerji testi ile doğrulandı. Antimikrobiyal hassasiyet testleri disk difüzyon yöntemiyle yapıldı. Suşlarda blaCTX-M beta-laktamaz direnç genleri, iki farklı primer seti içeren, multipleks polimeraz zincir reaksiyonu (PZR) ile araştırıldı. İzolatların 206 (%74,6)'sı *E. coli* iken 61 suş (%22,2) *Klebsiella spp.* olarak saptandı. Poliklinik ve servislerden gelen izolat oranları eşit olarak tespit edildi. Antimikrobiyal hassasiyet duyarlılık testlerinde ise 3. kuşak sefalosporinlere %90'ın üzerinde direnç saptandı. Kinolonlardan siprofloksasine direnç ve trimetoprim/sulfametaksazole direnç %50'nin üzerinde idi. Karbapenem dirençli izolata rastlanmadı. Suşlardan 194 tanesinde (%70,2) tanesinde blaCTX-M beta-laktamaz direnç genleri saptanmıştır. En sık saptanan CTX-M grubu 155 suş (%79,8) ile blaCTX-M-1 olurken %16 blaCTX-M-2, %4 civarında blaCTX-M-9 grupları belirlenirken, blaCTX-M-8 grubuna hiç rastlanmamıştır.

Bölgemizde sık rastlanan blaCTX-M beta-laktamaz enzim gruplarının tiplendirmeleri DNA dizi analizleriyle ortaya konarak moleküler epidemiyolojisi planlanmaktadır.

**Anahtar Kelimeler:** Genişlemiş Spektrumlu Beta-laktamaz, blaCTX-M, Enterobacteriaceae

## Üriner Sistem Enfeksiyonlarından İzole Edilen *E. coli*'lerde Fosfomisin, Nitrofurantoin ve Siprofloksasin Direnç Oranları

Ömer Kurt<sup>1</sup>, Hayati Güneş<sup>2</sup>, Abdullah Gümüş<sup>2</sup>, Aynur Eren Topkaya<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Namık Kemal Üniversitesi Tıp Fakültesi Üroloji Anabilim Dalı, Tekirdağ

<sup>2</sup>Namık Kemal Üniversitesi Tıp Fakültesi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Tekirdağ

**Amaç:** Üriner sistem enfeksiyonları (ÜSE), toplum ve hastane kökenli enfeksiyonlar arasında ilk sırada yer alan ve yaygın olarak antibiyotik kullanımını gerektiren enfeksiyonlardır. En sık izole edilen etken *E. coli*'dir. Tedavide antibiyotiklerin uygunsuz kullanımı, artan antibiyotik direnci ve tedavi başarısızlıklarına yol açmış, bu durum ampirik tedavide başta fosfomisin olmak üzere yeni tedavi seçeneklerini gündeme getirmiştir. Bu çalışmada, hastanemizde ÜSE tanısı konan hastalardan izole edilen *E. coli*'lerin siprofloksasin, nitrofurantoin ve fosfomisine karşı direnç oranlarının karşılaştırılması amaçlanmıştır.

**Materyal-Method:** Ocak 2012- Mart 2014 tarihleri arasında, laboratuvarımıza gönderilen idrar kültürlerinden izole edilen *E. coli*'lerden 688'inde siprofloksasin, 846'sında nitrofurantoin ve 801'inde fosfomisin için duyarlılık testi yapılmıştır. Hastalardan uygun koşullarda alınmış orta akım idrar örneklerinden %5 koyun kanlı ve EMB agar besiyerlerine ekim yapılmıştır. 37°C'de 18-24 saat inkübasyonu takiben anlamlı üreme saptanan kültürlerde üreyen bakteriler konvansiyonel yöntemlerle tanımlanmıştır. Bakterilerin adı geçen ilaçlara direnç durumları, CLSI önerileri doğrultusunda Kirby-Bauer disk difüzyon yöntemi ile Mueller Hinton agar'da ve 37°C'de, 18-24 saatlik inkübasyonu takiben değerlendirilmiştir. Orta derecede duyarlı saptananlar dirençli olarak değerlendirilmiştir.

İzolatların siprofloksasin, nitrofurantoin ve fosfomisine karşı direnç oranları sırasıyla %36,3(250/688), %5,4 (46/846) ve %4,6 (37/801) olarak saptanmıştır.

**Sonuç:** *E. coli*'lerde sık kullanılan siprofloksasine karşı direncin yükselmeye başlamış olması, bu ilacı kullanırken daha dikkatli olmamız gerektiğini göstermektedir. Yeni kullanılmaya başlanmış bir ilaç olan fosfomisin ve üriner antiseptik olarak kullanılan nitrofurantoinin direnç oranlarının düşük olması da bu ilaçların uygun endikasyonlarda halen güvenli olarak kullanılabileceğini göstermektedir.

**Anahtar Kelimeler:** *E. coli*, direnç, antibiyotik

## Candida Suşlarında Biyofilm Oluşturma Özelliği

**Mayram Tüysüz<sup>1</sup>, Neşe İnan<sup>1</sup>, Aslıhan Demirel<sup>2</sup>, Kezban Nur Pilancı<sup>3</sup>, Dilek Mamçu<sup>4</sup>, Emine Sönmez<sup>2</sup>, Ayşe Arısoy<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>*İstanbul Bilim Üniversitesi, Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, İstanbul*

<sup>2</sup>*İstanbul Bilim Üniversitesi, Enfeksiyon Hastalıkları ve Klinik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, İstanbul*

<sup>3</sup>*İstanbul Bilim Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Onkoloji Bilim Dalı, İstanbul*

<sup>4</sup>*Gayrettepe Florence Nightingale Hastanesi, Enfeksiyon Hastalıkları ve Klinik Mikrobiyoloji, İstanbul*

**Amaç:** Biyofilm oluşumu, Candida patogeneğinde klinik açıdan önemli virülans faktörlerinden biridir. Bu çalışmada; özellikle onkoloji hastalarından izole edilen Candida suşlarının identifikasyonu ve biyofilm oluşturma özellikleri incelenmiş ve izole edilen suşların aynı/farklı kökenli olup olmadıklarının saptanması amaçlanmıştır.

**Yöntem:** Mart-Mayıs 2013 tarihlerinde Gayrettepe Florence Nightingale Hastanesi Yoğun Bakım ve Onkoloji servislerinde yatarak izlenen 14 hastanın çeşitli muayene maddelerinden izole edilen 35 Candida suşunun identifikasyonları Vitek (bioMerieux) otomatize identifikasyon sistemi ile gerçekleştirilmiştir. Biyofilm oluşturma özellikleri ise modifiye mikroplak yöntemi ile araştırılmıştır.

**Bulgular:** Mart-Mayıs 2013 tarihleri arasında yoğun bakım ve onkoloji servislerinde çoğunlukta altta yatan solid organ kanseri bulunan hastalarda Candida enfeksiyonlarının artması dolayısıyla bu hastalara ait çeşitli muayene maddelerinden izole edilen 35 Candida suşu incelenmiştir. İzole edilen suşlarla ilgili hasta bilgileri, identifikasyon ve biyofilm sonuçları Tablo 1'de gösterilmiştir.

**Sonuç:** Önemli virülans faktörlerinden biri olan biyofilm oluşturma yeteneği açısından Candida türleri arasında farklılıklar vardır. Bulgularımıza göre, aynı zaman diliminde hastanemizde yatarak izlenen 14 hastadan alınan çeşitli muayene maddelerinden izole edilen 35 Candida suşunda aynı hastalar için benzer identifikasyon ve biyofilm sonuçlarına rastlanmış, farklı hastalardan izole edilen suşlarda ise farklı biyofilm özellikleri saptanmıştır. Bu nedenle bu dönemde gözlenen, özellikle Candida albicans enfeksiyonlarının hastane enfeksiyonu salgını değil sporadik olgular olduğuna karar verilmiştir. Sonuç olarak, Candida suşlarının fenotipik olarak ayırımında diğer özelliklerinin yanı sıra biyofilm özelliklerinin araştırılmasının da tanımlamada yardımcı olabileceği düşünülmüştür.

**Anahtar Kelimeler:** Candida, biyofilm, onkoloji

**Tablo 1.** Candida suşlarına hasta bilgileri, identifikasyon ve biyofilm sonuçlarının dağılımı

Suş	Hasta	Servis	Yaş	Tam	Materyal	Vitek sonucu	Biyofilm sonucu
1	GT	5.Kat	65	Kolon Kanseri	Periferik kan	<i>C.albicans</i>	+
2					Port kan	<i>C.albicans</i>	+
3					İdrar	<i>C.albicans</i>	+
4	SO	YBU	71	Beyin Kanseri	Kan	<i>C.albicans</i>	+
5					Balgam	<i>C.albicans</i>	+
6					Port kan	<i>C.albicans</i>	+
7	FFT	5.Kat	67	Akciğer Kanseri	İdrar	<i>C.albicans</i>	++
8					İdrar	<i>C.albicans</i>	++
9	PA	3.Kat	68	Meme Kanseri	Port kan	<i>C.albicans</i>	++
10					İdrar	<i>C.albicans</i>	++
11					İdrar	<i>C.albicans</i>	++
12	RA	3.Kat	72	Over Kanseri	İdrar	<i>C.albicans</i>	+++
13					İdrar	<i>C.albicans</i>	+++
14	ŞD	2.Kat	81	Aort yetersizliği	Kan	<i>C.albicans</i>	++
15					İdrar	<i>C.albicans</i>	++
16	HG	5.Kat	58	Meme Kanseri	Kan	<i>C.albicans</i>	+
17					Port kan	<i>C.albicans</i>	++
18					İdrar	<i>C.albicans</i>	+
19	MG	5.Kat	58	Baş-boyun Kanseri	Port kan	<i>C.parapsilosis</i>	++
20					Kan	<i>C.parapsilosis</i>	+++
21					İdrar	<i>C.parapsilosis</i>	+++
22					Balgam	<i>C.parapsilosis</i>	+++
23	ZT	2.Kat	44	Over Kanseri	İdrar	<i>C.glabrata</i>	++
24					ETA	<i>C.glabrata</i>	++
25					Kan	<i>C.glabrata</i>	+
26	PK	YBU	52	Kraniostomi	İdrar	<i>C.albicans</i>	+
27					İdrar	<i>C.albicans</i>	+
28	RM	4.Kat	92	Endometrium Kanseri	İdrar	<i>C.krusei</i>	++
29					ETA	<i>C.krusei</i>	++
30	MK	5.Kat	72	Akciğer Kanseri	İdrar	<i>C.albicans</i>	-
31					İdrar	<i>C.albicans</i>	++
32	BT	5.Kat	64	Akciğer Kanseri	Balgam	<i>C.albicans</i>	+++
33					Balgam	<i>C.albicans</i>	+++
34	ZMD	6.Kat	45	Postop.Gastrektomi	Kan	<i>C.albicans</i>	+
35					CVP kateter	<i>C.albicans</i>	++
Standart Suş						<i>C.albicans</i> SC5354	++

## İstanbul Üniversitesi Kardiyoloji Enstitüsü Yoğun Bakım Ünitelerinde Yatan Hastalardan İzole Edilen *Candida* İzolatlarının Tür Dağılımı

**Emine Küçükateş<sup>1</sup>, Nazmi Gültekin<sup>2</sup>, Esra Kaplan<sup>1</sup>, Şehri Şengün<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>İstanbul Üniversitesi Kardiyoloji Enstitüsü, Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji Laboratuvarı, Haseki, İstanbul

<sup>2</sup>İstanbul Üniversitesi Kardiyoloji Enstitüsü, Kardiyoloji Anabilim Dalı, Haseki, İstanbul

**Giriş:** Fungal mikroorganizmalar yoğun bakım birimlerinde yaşamı tehdit eden infeksiyon etkenleri arasındadır. *Candida* türleri fırsatçı mantar patojenlerinin en yaygın olanıdır. Modern tedavi yaklaşımlarının gelişmesi, yoğun bakım ünitelerinde yatan hasta sayısının artması, geniş spektrumlu antibiyotiklerin kullanımı, ve hastalara uygulanan invaziv işlemlere bağlı olarak *Candida* infeksiyonları artış göstermektedir.

**Materyal-Metod:** Çalışmamızda, Ocak 2012 ve Aralık 2013 tarihleri arasında İstanbul Üniversitesi Kardiyoloji Enstitüsü Koroner ve Cerrahi yoğun bakım ünitelerinde yatan hastalardan izole edilen *Candida* türleri incelenmiştir. Saf kültür olarak izole edilen mayalar konvensiyonel metodlarla (koloni morfolojisi, germ tüp oluşumu, mısır unlu agarda mikroskopik görünümü gibi) ve kromojenik besiyerindeki koloni rengine göre değerlendirilerek tür düzeyinde tanımlanmıştır. Şüpheli izolatların API ID 32 C (BioMerieux, France) kiti ile doğrulaması yapılmıştır.

**Bulgular:** 32 hastaya ait 47 materyalde (yara, santral venöz kateter, yara, apse, idrar, balgam, kan, endotrakeal aspirasyon) *Candida* cinsi mayalar elde edildi. Tür tanımlaması sırasında yedi örnekte üreme olmadı. Klinik örneklerin çoğunluğu balgam (%42.5) ve idrar (%22.5)dan oluşmakta idi. En sık izole edilen *Candida albicans* 28 (%70) idi. Bunu *Candida tropicalis* 6 (%15), *Candida glabrata* 3 (%7.5), *Candida parapsilosis* 1 (%2.5), *Candida kefyr* 1 (%2.5) ve *Candida lusitaniae* 1 (%2.5) izledi.

**Sonuç:** Ünitimizde en sık izole edilen maya *Candida albicans* idi ve sıklıkla balgam örneklerinde izole edildi.

**Anahtar Kelimeler:** *Candida*, yoğun bakım ünitesi, tür tanımı

## Türkiye’de Bir Eğitim ve Araştırma Hastanesinde İzole Edilen *Klebsiella pneumoniae* Türlerinde Karbapenem Direnç Genlerinin Dağılımı

Vesile Yazıcı<sup>1</sup>, Bülent Bozdoğan<sup>2</sup>, Canan Balcı<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Kocaeli Derince Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Laboratuvarı, Kocaeli

<sup>2</sup>Adnan Menderes Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Aydın

<sup>3</sup>Kocaeli Derince Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Anestezi Kliniği, Kocaeli

Karbapenemler, günümüzde ESBL oluşturan ve çoklu ilaç direncinin *Klebsiella pneumoniae* suşlarında artış göstermesi nedeni ile sıklıkla tedavi seçeneği olarak kullanılmaktadır. Ancak tedavide karbapenemlerin kontrolsüz kullanımı direnç sorununu da beraberinde getirmiştir. Çalışmamızda *K. pneumoniae* suşlarında karbapenem direnç genlerinin dağılımının araştırılması amaçlanmıştır.

Çalışmaya Nisan 2011 ve Haziran 2011 tarihleri arasında çeşitli kültürlerden izole edilen toplam 32 adet *Klebsiella* türü çalışmaya dahil edilmiştir. Bakterilerin tanımlanması konvansiyonel yöntemler ve otomatize Vitek 2.0 sistemi (BioMérieux, Fransa) kullanılarak yapılmıştır. Üçü anestezi, biri ortopedi servisinden bir trakeal aspirat, iki idrar, biri yara-doku örneğinden izole edilen karbapeneme azalmış duyarlılığı saptanan dört *K. pneumoniae* suşu için ayrıca karbapenem direncinin doğrulanması amacı ile Modifiye Hodge ve agar mikrodilüsyon yöntemi kullanılmıştır. Beta-laktamaz genlerini belirlemek amacıyla spesifik primerler kullanılarak blaOXA-23-like, blaOXA-24-like, blaOXA-51-like, blaOXA-58-like, blaOXA-48-like, blaKPC-like, blaNDM-like, blaIMP-like, blaGES-like, blaVİM-like, blaSPM-like, blaAIM-like, blaGIM-like, blaBIC-like, blaSIM-like, blaDİM-like varlığını saptamak üzere PCR yapılmıştır.

Karbapenem dirençli olarak saptanan dört *K. pneumoniae* suşundan birinde OXA-48-like, OXA-58-like ve OXA-51-like birlikte saptanırken, ikisinde OXA-48-like geni belirlendi. Bir izolatta ise herhangi bir gen varlığı saptanamadı. Karbapenem dirençli *K. pneumoniae* klinik önemi dünya çapında artan bir sorundur. Ayrıca *Klebsiella* enfeksiyonlarının tedavisinde in vitro duyarlılık profillerinin sürekli takip edilerek, direnç gen dağılımlarının belirlenmesi ve akılcı tedavi protokollerinin belirlenmesi gerekmektedir.

**Anahtar Kelimeler:** Karbapenemaz, *Klebsiella pneumoniae*

**Tablo 1.** Karbapenem MIC değerleri, Modifiye Hodge Test Sonuçları ve dört *Klebsiella pneumoniae* izolatında PCR ile saptanan direnç genleri

İzolatlar	MIC (µg/ml) Değerleri	Hodge Testi	OXA-48-like	OXA-58-like	OXA-51-like	Saptanan Gen sayıları
K2	16/16	Pozitif	+	+	+	3
K3	1/1	Pozitif				
K4	128/64	Pozitif	+			1
K5	1/2	Pozitif	+			1



## Klebsiella pneumoniae Kökenli blaOXA-48 Genine Ait Yeni Bir Alelin Belirlenmesi

**Azer Özad Düzgün<sup>1</sup>, Cemal Sandallı<sup>2</sup>, Meryem Iraz<sup>3</sup>, Ayşegül Saral<sup>4</sup>, Fatma Çalık<sup>2</sup>, Ayşegül Çopur Çiçek<sup>5</sup>**

<sup>1</sup>Gümüşhane Üniversitesi Mühendislik ve Doğa Bilimleri Fakültesi, Genetik ve Biyomühendislik Bölümü, Gümüşhane

<sup>2</sup>Recep Tayyip Erdoğan Üniversitesi Fen-Edebiyat Fakültesi, Biyoloji Bölümü, Rize

<sup>3</sup>Bezmiâlem Vakıf Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, İstanbul

<sup>4</sup>Artvin Çoruh Üniversitesi Fen-Edebiyat Fakültesi, Biyoloji Bölümü, Artvin

<sup>5</sup>Recep Tayyip Erdoğan Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Rize

OXA-48 ilk kez Türkiye'den bildirilmiş, daha sonra Orta Asya, Avrupa ve Amerika da bildirimleri olmuştur. Şimdiye kadar aminoasit değişimine göre OXA-48'in 7 varyantı tespit edilmiştir. (OXA-48, OXA-162, OXA-163, OXA-181, OXA-204, OXA-232 ve OXA-199). Bu çalışmanın amacı daha önce PZR yöntemi ile tespit edilmiş olan 32 OXA-48 geninin tüm nükleotid sıralarının tespit edilmesi, şimdiye kadar var olan varyantları ile karşılaştırılması ve yeni alel olma olasılıklarının araştırılmasıdır.

37 *K. pneumoniae* suşundan total DNA izolasyonu yapıldı. Oligonükleotidler kullanılarak PZR'ler gerçekleştirilmiş ve 32 OXA-48 pozitif suş tespit edilmiştir. Amplikasyonun gerçekleştiği tüm örnekler pGEM-T Easy vektörüne aktarıldı. Ligasyon reaksiyonu toplam 10 µl de 16°C'de 16 saat gerçekleştirildi. PZR ürününü taşıyan pGEM-T easy vektörü, *E. coli* DH5α kompetent hücrelerine transforme edildi. Daha Sonra hücreler IPTG ve XGal içeren ampisilinli petriyelerde mavi-beyaz renk oluşumuna bakılarak ayrıldı. Beyaz hücreden plazmit izole edildi ve EcoRI restriksiyon endonükleaz enzimi ile kesildi, PZR ürünü ile yan yana %1'lik agaroz jelde yürütüldü ve pozitif olanlar belirlendi. Pozitif olduğu doğrulanan plazmitleri içeren rekombinant hücreler tekrar büyütülerek plazmit DNA purifikasyon kiti kullanılarak izole edildi ve DNA sekans analizine gönderildi.

32 OXA-48 geni klonlanmış ve sekans analizine gönderilmiştir. 32 örneğin 7 tanesinin sonucu biyoinformatik programlar kullanılarak blaOXA-48 genine benzerlik ve farklılık oranları belirlenmiştir. 7 örnekten 6 tanesinin aminoasit sırası blaOXA-48'in aminoasit sırası ile karşılaştırıldığında %100 benzerlik gösterirken 1 tanesi %99 benzerlik göstermiştir. Bu farklılık OXA-48'in 250. aminoasidin de görülmüştür. 250. aminoasit orijinal OXA-48 de arjinin aminoasidi iken farklılık görülen örnekte 250. aminoasidin serin olduğu tespit edilmiştir (Arg250Ser). Sonuç olarak çalışılan 7 OXA-48 pozitif örnekten bir tanesinin yeni alel olduğu tespit edilmiştir.

**Anahtar Kelimeler:** Alel, OXA-48

## Seftazidim Dirençli *Pseudomonas aeruginosa* İzolatlarında Beta Laktamazların Moleküler Epidemiyolojisi

Halil Er<sup>1</sup>, Mustafa Altındis<sup>2</sup>, Gülşah Aşık<sup>3</sup>, Cengiz Demir<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Muş Devlet Hastanesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Lab., Muş

<sup>2</sup>Sakarya Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Sakarya

<sup>3</sup>Afyon Kocatepe Üniversitesi, Tıp Fakültesi Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Afyon

*Pseudomonas aureginosa* doğada yaygın olarak bulunmakta ve fırsatçı patojen enfeksiyonlara neden olmaktadır. Sağlıklı bireylerde perine, dış kulak yolu, aksilla, alt gastrointestinal sistem gibi nemli alanlarda kolonize olabilir. Mekanik ventilasyon altındaki erişkinler veya nötropenik hastalar, özellikle geniş spektrumlu antibiyotik tedavisi sırasında veya sonrasında *P.aeruginosa*'ya bağlı ventilatör kaynaklı veya diğer pnömoniler açısından büyük risk altındadırlar.

Bu çalışmada, Afyon Kocatepe Üniversitesi Tıp Fakültesi hastanesinde yatmakta olan hastalardan izole edilen *P.aeruginosa* suşlarının antibiyotik duyarlılıklarının tespit edilmesi, PER, GES, KPC, VIM, IMP ve OXA gibi direnç enzimlerinin fenotipik ve genotipik olarak saptanması amaçlanmıştır.

Çalışmaya alınan 195 *P.aeruginosa* örneğinin antibiyotik direnç oranları seftazidime %100, gentamisine %11,8, tobramisine %6,2, piperasilin %44,1, amikasinine %8,7, aztroenama %60,5, sefepime %50,2, siprofloksasine %26,2, levofloksasine %31,3, imipeneme %48,2, meropeneme %47,2, tazobaktam-piperasiline %90,8 ve ofloksasine %47,2 şeklinde tespit edilmiştir. Çift disk induksiyon yöntemi ile 195 suştan 174'ünde indüklenebilir beta laktamaz tespit edilmiştir. Çift disk sinerji yöntemi ile taranan 195 örneğin 60'ında GSBL pozitifliği saptanmıştır. 52 suşta MBL E test ile metallo beta laktamaz enzimi fenotipik olarak tespit edilmiştir. Moleküler çalışmalar ve dizi analizleri sonucunda 5 izolatta OXA-10, 4 izolatta OXA-14, 4 izolatta VIM-2, 2 izolatta IMP-1, 26 izolotta GES-1 ve 87 izolotta ABC transporter permease geni saptanmıştır. PER ve KPC enzimlerine rastlanmamıştır.

Beta laktamazların ve bu beta laktamazları kodlayan genleri taşıyan kökenlerin saptanması enfeksiyon hastalıklarının tedavisinde kullanılacak antibiyotiklerin seçiminde, tedavinin takibinde, enfeksiyon hastalıklarının önlenmesinde ve enfeksiyon kontrol programlarının geliştirilmesinde yol gösterici olacaktır.

**Anahtar Kelimeler:** *Pseudomonas aeruginosa*, Seftazidim Direnci, İBL

## Karbapenemaz Genlerinin(KPC, OXA-48, VIM ve NDM) Hızlı Tanısı; Check-Direct CPE Testi

**Mustafa Altındis<sup>1</sup>, Abdullah Kılıç<sup>2</sup>, Mehmet Baysallar<sup>2</sup>**

<sup>1</sup>Sakarya Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Sakarya

<sup>2</sup>GATA Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Ankara

Karbapenem dirençli *Enterobacteriaceae* enfeksiyonlarındaki artış halk sağlığı için önemli bir tehdit oluşturmaktadır. Çünkü bu bakterilerin enfeksiyonlarında kullanılabilir sınırlı sayıda antibiyotik vardır ve mortalitesi yüksektir. Karbapenemaz üreten bakterilerin yayılmasını önlemek için, bu bakterileri taşıyan hastaların hızlı ve doğru tanımlanması son derece önemlidir. Check-Direct CPE testi (Check-Points, Netherlands), karşılaşılan en yaygın *Enterobacteriaceae* karbapenemaz genlerini (blaKPC, blaOXA-48, blaVIM ve blaNDM) rektal swap yada kültürden iki saat gibi kısa bir sürede saptaması ve arasındaki ayrımı yapması için geliştirilmiş yeni bir multipleks real-time PCR yöntemidir. Bu çalışmada *Enterobacteriaceae* suçlarında karbapenem direnci oluşturan genlerin bu yeni hızlı sistemle araştırılması amaçlanmıştır.

Çalışmaya, GATA hastanesi çeşitli klinik örneklerinden izole edilmiş, tanımlama ve antibiyotik duyarlılık testleri Phoenix TM 100 (Becton Dickinson, ABD) otomatize sistemi kullanılarak yapılmış, en az bir karbapenem dirençli (ertapenem, imipenem ve meropenem) %10'luk skim milk solüsyonunda -80°C'de saklanan 44 *Enterobacteriaceae* (40 *Klebsiella pneumoniae*, 4 *E.coli*) izolatu alınmıştır. Real-time PCR çalışması için, koyun kanlı agara ekim sonrası saf üreyen kolonilerden 0.5-1 McFarland süspanisyon hazırlanarak üretici firmanın tavsiyeleri doğrultusunda DNA ekstraksiyonu yapılmış, elde edilen 10 µl DNA örneği real-time PCR (Applied Biosystems® 7500) çalışması için kullanılmıştır.

Çalışma sonucunda tüm izolatların sadece Türkiye'de yaygın olarak bulunan OXA-48 karbapenemaz geni içerdiği saptanmıştır.

Sonuç olarak, bu yeni multipleks RT-PCR sistemi, klinik olarak önemli olan yaygın karbapenemaz genlerinin saptanmasında hızlı ve güvenilir bir yöntem olabilir.

**Anahtar Kelimeler:** Karbapenemazlar, *Enterobacteriaceae*, *K.pneumoniae*

## Ayaktan ve Yatan Hastalarda Üriner Sistem İnfeksiyonlarından İzole Edilen *E. coli* suşlarının Antibiyotik Duyarlılıkları

**Neval Ağuş, M. Cem Şirin, Nisel Yılmaz, Sevgi Yılmaz Hancı, Yeşer Karaca Derici, Pınar Şamlioğlu, Arzu Bayram**

*İzmir Tepecik Eğitim ve Araştırma Hastanesi, İzmir*

Üriner sistem infeksiyonları en sık görülen infeksiyonlardan olup *Escherichia coli* (*E. coli*) en sık izole edilen etkidir. Değişik çalışmalarda ve bölgelerde *E. coli*'ye karşı değişen oranda antibiyotik direnci bildirilmektedir. Bu çalışmada 01.01.2013-31.12.2013 tarihleri arasında hastanemiz poliklinik ve servislerinden Mikrobiyoloji Laboratuvarı'na gönderilen idrar örneklerinden izole edilen *E. coli* suşlarının antibiyotik duyarlılık durumlarının değerlendirilmesi amaçlanmıştır.

İzole edilen mikroorganizmaların identifikasyonu konvansiyonel yöntemler veya VITEK 2 otomatik bakteri identifikasyonu cihazı (Biomerieux, Fransa) ile yapılmıştır. Suşların antibiyotiklere karşı duyarlılıkları Kirby-Bauer disk difüzyon yöntemi veya VITEK 2 otomatik sistemi ile araştırılmıştır. Orta duyarlı olarak saptanan suşlar dirençli olarak kabul edilmiştir. Genişlemiş spektrumlu beta laktamaz (GSBL) varlığının saptanması için çift disk sinerji yöntemi kullanılmıştır.

Çalışmaya dahil edilen 5348 *E. coli* suşunun 4478'i poliklinik hastalarından, 870'i yatan hastalardan izole edilmiştir. *E. coli* suşlarının antibiyotik direnç ve GSBL oranları tabloda gösterilmiştir. Ayaktan ve yatan hastalarda imipenem, meropenem, amikasin, fosfomisin ve nitrofurantoin *E.coli*'ye karşı en etkili antibiyotikler olarak bulunmuştur. Oral olarak kullanılabilmesi nedeniyle özellikle ayaktan hastalarda ampirik tedavide tercih edilen ampisilin, ampisilin sulbaktam, ko-trimoksazol, siprofloksasin gibi antibiyotiklere ise yüksek oranda direnç saptanmıştır. Yatan hastalardaki antibiyotik direnç oranlarının ayaktan hastalara göre daha yüksek olduğu gözlenmiştir.

Sonuç olarak bulgularımız üriner sistem infeksiyonlarında ampirik tedavi uygulamak yerine antibiyotik duyarlılığının belirlenerek ona göre tedaviye başlanmasının tedavi başarısını arttırmak, gereksiz antibiyotik kullanımını önlemek ve antibiyotik direnç hızını azaltmak açısından en uygun yol olacağı bir kez daha göstermiştir.

**Anahtar Kelimeler:** antibiyotik duyarlılığı, *E. coli*, üriner sistem infeksiyonu

**Tablo 1.** Ayaktan ve yatan hastalarda *E. coli* antibiyotik direnç oranları (%)

Antibiyotikler	Ampisilin	Ampisilin-sulbaktam	Amoksisilin klavulanat	Piperasilin-tazobaktam	Sefazolin	Sefuroksim	Seftraksom	Seftrazidim	Sefoperazon-sulbaktam	Sefepim	Gentamisin	Amikasin	Ko-trimoksazol	Siprofloksasin	Nitrofurantoin	Fosfomisin	Imipenem	Meropenem	GSBL
Ayaktan (direnç)	66	45	29	14	60	34	28	21	11	13	27	1	48	36	6	1.8	0.1	0.1	25
Yatan (direnç)	78	62	45	16	68	51	45	36	16	23	41	3	57	49	8	3.4	0.4	0.5	38

## Karbapenem Dirençli *Klebsiella pneumoniae* İzolatlarının Genotipik Özelliklerinin Araştırılması

**Gülşah Aşık, Recep Keşli, Cengiz Demir, Özlem Yoldaş, Özgül Çetinkaya**

*Afyon Kocatepe Üniversitesi Tıp Fakültesi, Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Afyonkarahisar*

Karbapenemazlar en güçlü hidrolitik aktiviteye sahip  $\beta$ -laktamazlardır ve KPC, NDM, OXA-48 yanında VIM, IMP gibi metallo  $\beta$ -laktamazları içerirler. Bu çalışmada, hastanemizde özellikle son 4 ay içerisinde hızlı bir artış trendi izleyen karbapenem dirençli *K. pneumoniae* (CRKP) suşlarının izole edilmesi üzerine, dirençten sorumlu karbapenemazların genotipik olarak araştırılması amaçlanmıştır.

Çalışmaya, Aralık 2013 ve Mart 2014 tarihleri arasında Afyon Kocatepe Üniversitesi Hastanesi'nde yatarak tedavi edilen hastalara ait, rutin kapsamında Mikrobiyoloji Laboratuvarına gönderilen çeşitli klinik örneklerden izole edilen 22 CRKP suşu dahil edildi. Bakteri tanımlaması ve antibiyotik duyarlılık testleri geleneksel yöntemler ve otomatize sistemler ile (Phoenix, BD) gerçekleştirildi. Suşların 23s rRNA bölgesi ve KPC, VIM, IMP, NDM ve OXA-48 karbapenemazları kodlayan gen bölgeleri Polimeraz Zincir Reaksiyonu yöntemi ile araştırıldı.

*K. pneumoniae* suşları başlıca kan (n=5), yara yeri (n=7), balgam (n=4), trakeal aspirat (n=1) ve idrar (n=5) örneklerinden izole edildi. İzolatların tümünde ertapenem direnci ve 3'ü dışında imipenem ve meropenemden en az birine direnç ya da azalmış duyarlılık tespit edildi. İzolatların tümünde OXA-48 geni tespit edilirken, 6'sında VIM, 4'ünde VIM ve IMP karbapenemaz genlerinin birlikte bulunduğu gözlemlendi.

Karbapenem direnci, dünya çapında olduğu gibi hastanemizde de antibiyotik direncinde başlıca sorun olma yolunda hızla ilerlemektedir. Karbapenemaz üreten suşlarla oluşan enfeksiyonlarda terapötik olanaklar sınırlı olduğundan, çoklu direnç paternine sahip suşların tanımlanması birincil önem taşır. Direnç genlerinin genotipik düzeyde saptanması, dirençli izolatların yayılımı ve direnç aktarımlarının önlenmesi açısından önemli rol oynar. Bu çalışma ile hastanemizde izole edilen CRKP suşlarında karbapenemaz üretiminin oldukça yüksek oranlarda gözlemlendiği ve dirençten sorumlu temel mekanizmanın OXA-48 üretimi olduğu söylenebilir.

**Anahtar Kelimeler:** Karbapenem direnci, *K. pneumoniae*, karbapenemazlar

## Yoğun Bakım Ünitelerinden İzole Edilen *Acinetobacter baumannii* ve *Pseudomonas aeruginosa* Suşlarının Antibiyotik Duyarlılıkları

M. Cem Şirin, Neval Ağuş, Nisel Yılmaz, Yeşer Karaca Derici, Sevgi Yılmaz Hancı, Pınar Şamlıoğlu, Arzu Bayram

İzmir Tepecik Eğitim ve Araştırma Hastanesi, İzmir

*Acinetobacter baumannii* ve *Pseudomonas aeruginosa* özellikle yoğun bakım ünitelerinde infeksiyonlara neden olan ve antibiyotik dirençleri nedeniyle ciddi sorunlar oluşturan bakteri türleridir. Bu çalışmada 01.01.2013-31.12.2013 tarihleri arasında hastanemiz yoğun bakım ünitelerinde (YBÜ) yatan hastaların çeşitli klinik örneklerinden izole edilen *Acinetobacter baumannii* ve *Pseudomonas aeruginosa* suşlarının antibiyotik direnç oranlarının saptanması amaçlanmıştır.

İzole edilen suşların identifikasyonu ve antibiyotik duyarlılık testleri VITEK 2 otomatize sistemi (Biomérieux, Fransa) ile yapılmıştır. Orta duyarlı olarak saptanan suşlar dirençli olarak kabul edilmiştir. Kolistine dirençli bulunan suşlar E-test yöntemiyle (Biomerieux) de test edilmiştir.

İncelenen 307 *Acinetobacter baumannii* suşunun 155'i (%51) solunum yolu (trakeal aspirat, balgam, bronkoalveolar lavaj), 59'u (%19) kan, 49'u (%16) yara, 30'u (%10) idrar, 14'ü (%4) kan kateter örneklerinden izole edilmiştir. 199 *Pseudomonas aeruginosa* suşunun 101'i (%51) solunum yolu (trakeal aspirat, balgam, bronkoalveolar lavaj), 31'i (%15) yara, 29'u (%14) idrar, 24'ü (%12) kan, 7'si (%4) kan kateter, 7'si (%4) BOS örneklerinden izole edilmiştir. Suşların antibiyotik direnç oranları tabloda gösterilmiştir. *Acinetobacter baumannii* suşlarının antibiyotik direnç oranlarının *Pseudomonas aeruginosa* suşlarınıninkine göre daha yüksek olduğu bulunurken, her iki bakteri türü için kolistinin halen en etkili antibiyotik olduğu saptanmıştır.

Hastanemiz YBÜ'lerinden gönderilen çeşitli klinik örneklerden izole edilen *Acinetobacter baumannii* ve *Pseudomonas aeruginosa* suşlarının birçok antibiyotiğe karşı yüksek oranda ve çoklu direnç geliştirdiklerinin gözlenmesi, antibiyotiklerin daha bilinçli ve kontrollü kullanılıp bu doğrultuda infeksiyon kontrol önlemlerinin alınması gerektiğini göstermiştir.

**Anahtar Kelimeler:** *Acinetobacter baumannii* ve *Pseudomonas aeruginosa*, antibiyotik duyarlılığı, yoğun bakım ünitesi

**Tablo 1.** *A. baumannii* ve *P. aeruginosa* suşlarının antibiyotik direnç oranları (%)

Antibiyotikler	Piperasilin-tazobaktam	Sefazidim	Sefoperazon-sulbaktam	Sefepim	Gentamisin	Amikasin	Ko-trimoksazol	Siprofloksasin	Tigesiklin	İmpenem	Meropenem	Kolistin
<i>Acinetobacter baumannii</i>	100	100	98	100	75	77	47	100	85	99	99	0.4
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	62	41	43	37	28	24	-	39	-	45	45	5

## Yara Kùltürlerinde Üreyen Stafilokoklarda Sürveyans Verileri

**Fulya Bayındır Bilman<sup>1</sup>, Mine Turhanoğlu<sup>2</sup>, Arzu Onur<sup>2</sup>**

<sup>1</sup>*İzmir Menemen Devlet Hastanesi, Mikrobiyoloji Laboratuvarı, İzmir*

<sup>2</sup>*Diyarbakır Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Mikrobiyoloji Kliniği, Diyarbakır*

**Amaç:** Hastane kaynaklı enfeksiyonlar arasında üriner sistem enfeksiyonlarından sonra ikinci sıklıkta karşılaşılan enfeksiyon türü olan yara yeri enfeksiyonları özellikle cerrahi müdahale yapılan hastalar için önemli mortalite ve morbidite nedenleri arasında yer almaktadır. Yara enfeksiyonlarında kültürde üreyen bakteriler arasında stafilokoklar, en sık karşılaşılan etkenlerdendir. Bu çalışmada Diyarbakır Eğitim ve Araştırma Hastanesi'nde hastaların yara kültürlerinden izole edilen stafilokoklar ve antibiyotik direnç profilleri irdelenmiştir.

**Yöntem:** Çalışmada Diyarbakır Eğitim Araştırma Hastanesi'nde yoğun bakım, yanık üniteleri ve kliniklerde 2010-2013 yılları arasında tedavi gören hastalarda Klinik Mikrobiyoloji laboratuvarına gönderilen yara yeri kültürleri retrospektif olarak taranmıştır. Üreme saptanan plaklar işleme alınarak konvansiyonel yöntemlerle değerlendirilmiş ve gerektiğinde otomatize sistemlerle (Vitek 2, bioMerieux, Fransa) mikroorganizma identifikasyonu ve antibiyogramı gerçekleştirilmiştir. Antibiyotik duyarlılık testleri Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) önerileri doğrultusunda değerlendirilmiştir. İzole edilen stafilokok suşlarında, Kirby-Bauer disk difüzyon yöntemi ile metisilin direncini saptamada 30 µg sefoksitin diski (Oxoid) kullanılmıştır.

**Bulgular:** Yara yeri kültürlerinde 309 hastada *Staphylococcus spp* izole edilmiş olup, bu bakterilerin 119(%39)'u *S. aureus*, 106(%34)'sı *S.epidermidis* ve 84(%27)'ü diğer Koagülaz Negatif Stafilokoklar idi. İzolatların 181(%59)'inde metisilin direnci saptanırken, vankomisin, teikoplanin ve linezolid direnci görülmemiştir.

**Sonuç:** Metisiline dirençli *S. aureus* suşlarının ve koagülaz negatif stafilokokların hastane enfeksiyonlarında büyük pay sahibi olduğu ve metisilin direncinde bölgesel farklılıkların görülebildiği bilgisi ışığında verilerimizin değerlendirilmesi ve kısıtlı antibiyotik kullanımı ilkelerini uygulamamız önem taşımaktadır.

**Anahtar Kelimeler:** Koagülaz negatif stafilokok, *S. aureus*, yara kültürleri



**Tablo 1.** İzole edilen Stafilokoklarda antibiyotik direnç profili n(%)

	<i>S. aureus</i>	<i>S.epidermis</i>	<i>KNS</i>
Penisilin	72(61)	53(50)	50(60)
Eritromisin	19(16)	44(41)	47(56)
Klindamisin	14(12)	30(28)	31(37)
İndüklenabilir Klindamisin direnci	9(8)	27(26)	26(31)
Sefoksitin	34(29)	81(76)	66(79)
TM/SXT	6(5)	10(9)	30(36)
Vankomisin	-	-	-
Teikoplanin	-	-	-
Fusidik asit	5(4)	14(13)	15(18)
Linezolid	-	-	-
Toplam	119(39)	106(34)	84(27)

**KNS:** Koagülaz Negatif Stafilokok **TM/SXT:** Trimetoprim/sulfametoksazol

## İdrar Kültüründen İzole Edilen *E.coli* ve *Klebsiella spp.* Kökenlerinin Antibiyotik Duyarlılıkları

Ayşe İstanbullu Tosun<sup>1</sup>, Mesut Yılmaz<sup>1</sup>, Hatice Şen<sup>2</sup>, Leyla Sirekbasan<sup>2</sup>, Ezgi Gözün Şaylan<sup>2</sup>, Cemile Gökçeagaçlı<sup>2</sup>, Hilal Özmen<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Medipol Üniversitesi, İstanbul

<sup>2</sup>Medipol Mega Hastaneler Kompleksi, İstanbul

**Giriş:** Üriner sistem infeksiyonu tüm dünyada önemli bir morbidite nedenidir. En sık Gram negatif çomaklar izole edilmekle birlikte bunların arasında da en sık izole edilen etken *E.coli*'dir. Son yıllarda geniş spektrumlu antibiyotik kullanımının artması ile birlikte bu mikroorganizmalarda da direnç artmaktadır.

**Yöntem:** Çalışmamızda hastanemiz laboratuvarına Haziran 2012- Şubat 2014 tarihleri arasında gelen 11916 idrar kültüründen en sık üretilen 3 Gram negatif mikroorganizma olan *E.coli* (1227), *Klebsiella spp* (283) ve *Enterobacter spp* (72) kökenlerinin sık kullanılan antibiyotiklere olan direnç durumlarını değerlendirdik. Gelen örnekler Chromagar Orientation medium (BD) besiyerine standart tek kullanımlık eküvyon ile ekildikten 24 saat sonra ilk değerlendirmeleri yapılmıştır. Her örnek için aynı zamanda Gram preparat da hazırlandı ve değerlendirilmiştir. İdrar yolu infeksiyonu etkeni olarak değerlendirilen bakterilere CLSI kriterlerine uygun olarak Kirby-Bauer disk difüzyon yöntemiyle duyarlılık çalışılmıştır. İzole edilen mikroorganizmaların antibiyotiklere direnç yüzdeleri aşağıdaki tabloda verilmiştir.

**Sonuçlar:** Ayaktan başvuran hastalardan izole edilen mikroorganizmaların direnç oranlarının yatan hastalardan izole edilen mikroorganizmaların direnç yüzdelerine göre oldukça fazla olduğu göze çarpmaktadır. Bunun da antibiyotik kullanım alışkanlıkları ile doğrudan ilişkili olduğu düşünülmektedir.

**Tablo 1.** Antibiyotik direnç yüzdeleri

	<b>E.coli</b>		<b>Klebsiella</b>	
	Ayaktan	Yatan	Ayaktan	Yatan
<b>Ampisilin</b>	57.60	74.60	97.03	100
<b>Ampisilin Sulbaktam</b>	27.73	46.49	39.00	58.02
<b>Amoksisilin Kalvulanik Asit</b>	12.30	18.72	16.95	25.00
<b>Seftriakson</b>	24.40	46.56	32.18	65.43
<b>Siprofloksasin</b>	25.22	48.85	15.45	38.16
<b>Levofloksasin</b>	24.70	48.24	14.63	34.72
<b>Amikasin</b>	0.58	1.61	3.47	8.43
<b>Gentamisin</b>	13.20	35.48	12.50	37.35
<b>Trimetoprim Sulfametoksazol</b>	37.69	60.11	34.16	51.81
<b>Nitrofurantoin</b>	1.71	1.20	21.97	36.49

**Anahtar Kelimeler:** *E.coli* *Klebsiella* İdrar

## Kolistin, Tigesiklin ve Tobramisin'in Tek Başlarına ve Kombinasyon Halinde Çeşitli Örneklerden İzole Edilen *Enterobacteriaceae* Türlerine Karşı İn-vitro Etkilerinin Araştırılması

**Emel Mataracı Kara<sup>1</sup>, Berna Özbek Çelik<sup>1</sup>, Mesut Yılmaz<sup>2</sup>**

<sup>1</sup>*İstanbul Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Farmasötik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, İstanbul*

<sup>2</sup>*İstanbul Medipol Üniversitesi Tıp Fakültesi Enfeksiyon Hastalıkları ve Klinik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, İstanbul*

**Amaç:** *Enterobacteriaceae* ailesi içinde *Escherichia coli* idrar yolu enfeksiyonları, *Klebsiella spp.* ve *Enterobacter spp.* ise pnömoni etkeni olarak sıklıkla ortaya çıkmakla birlikte tüm *Enterobacteriaceae* türleri kan dolaşımı, peritonit ve diğer intra-abdominal enfeksiyonlardan sorumlu olarak sıklıkla karşımıza çıkmaktadırlar. *Enterobacteriaceae* türlerinde artan antimikrobiyal direnç oranları önemli bir sorun olarak günümüzde dikkat çekmektedir. Özellikle genişlemiş spektrumlu beta-laktamazların varlığı, tedavide problem yaratmaktadır.

**Yöntem:** Bu nedenle çalışmamızda karbapenem dirençli olarak hastadan izole edilen 39 adet *Enterobacteriaceae* suşuna karşı kolistin, tigesiklin, tobramisin, siprofloksasin, meropenem, doripenem ve sefepimin minimum inhibitör konsantrasyonları (MİK) mikrodilüsyon yöntemiyle saptanmıştır. Bununla birlikte çalışmamızda, çeşitli klinik örneklerden izole edilen sekiz suşa (*E.coli*, *K.pneumoniae* ve *Enterobacter spp.*) karşı kolistin, tobramisin ve tigesiklinin ikili kombinasyonlarının etkinliği time-kill curve yöntemiyle araştırılmıştır.

**Bulgular:** Çalışmamızda kullanılan meropenem, doripenem, sefepim, tobramisin ve siprofloksasin antibiyotiklerinde test edilen *Enterobacteriaceae* suşlarına karşı %50'den fazla direnç oranları saptanmıştır. Çalışmamızda 1xMİK konsantrasyonda kolistin-tigesiklin kombinasyonu ile %50, kolistin- tobramisin kombinasyonu ile %75, tigesiklin- tobramisin kombinasyonu ile %62.5 sinerjistik etki saptandığı görülmüştür. 4xMİK konsantrasyonda ise çalışılan suşlara karşı kolistin-tigesiklin kombinasyonu ile %87.5, kolistin-tobramisin kombinasyonu ile %50, tigesiklin-tobramisin kombinasyonu ile %62.5 sinerjistik etki saptanmıştır.

**Sonuç:** Çalışmamızda elde ettiğimiz bulgularımızın *Enterobacteriaceae* türlerinin etken olduğu enfeksiyonların tedavisinde seçilebilecek antibiyotik kombinasyonları konusunda klinisyenlere yardımcı olacağı düşünülmektedir.

**Anahtar Kelimeler:** *Enterobacteriaceae*, Time-kill curve

## Stafilokok suşlarında Biyofilm Özelliğinin Araştırılması

**Duygu Öcal, İştar Dolapçı, Zeynep Ceren Karahan, Alper Tekeli**

Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Mikrobiyoloji Ana Bilim Dalı, Ankara

**Amaç:** Fenotipik ve genetik yöntemler ile invaziv olan ve olmayan farklı stafilokok türlerinin biyofilm oluşturma özelliklerinin araştırılması

**Yöntem:** Toplam 166 adet stafilokok, "Congo Red Agar" (CRA) ve 0,5µg/ml vankomisinli/vankomisinsiz %2 glukoz, %1,5 NaCl ilaveli CRA besiyerlerinde 37°C'de inkübe edilmiş, 24 ve 48. saatlerde siyah renkli koloni varlığı açısından değerlendirilmiştir. Biyofilm oluşmasında rol oynayan icaA, icaD ve IS256 genlerinin varlığı polimeraz zincir reaksiyonu ile araştırılmıştır. Sonuçlar Ki-kare ve Fisher's exact testi ile değerlendirilmiştir.

**Bulgular:** Suşların 74'ü (%44,6) metisiline dirençli *Staphylococcus aureus* (MRSA), 25'i (%15,1) metisiline duyarlı *S. aureus* (MSSA), 48'i (%28,9) metisiline dirençli koagülaz negatif stafilokok (MR-KNS), 19'u (%11,4) MS-KNS olarak tanımlanmıştır. Burun ile eş zamanlı kan kültüründe üreme tespit edilmeyen kateter izolatları invaziv olmayan (n:94); kan ve eş zamanlı gönderilen kan ve kateterden izole edilen suşlar ise invaziv izolatlar (n:72) olarak değerlendirilmiştir.

**Sonuç:** CRA besiyerinde 24 ve 48. saat sonuçları arasında fark tespit edilmemiştir. *S. aureus* için orijinal CRA besiyeri kullanımı daha uygun bulunmuş, KNS için üç farklı CRA besiyeri arasında belirgin fark saptanmamıştır. İnvaziv olan ve olmayan örneklerin biyofilm oluşturma oranları sırasıyla %84,7 ve %55,3'dür (p<0,001). CRA'da biyofilm oluşturma oranları KNS ve *S. aureus*'larda sırasıyla %40,3 ve %85,8'dir (p<0,001). MRSA ve MSSA'ların CRA'da pozitiflik oranları sırasıyla %95,9 ve %56'dır (p<0,001). icaA+icaD taşıyan suşlarda ve icaA+icaD +IS256 birlikteliğinde fenotipik biyofilm oluşturma oranları *S. aureus*'lar için sırasıyla %44,4 ve %96,2 (p<0,001); MSSA'lar için %30,8 ve %81,8 (p<0,05); invaziv olmayan izolatlar için %45,5 ve %84,4'dür (p<0,001). CRA'da pozitiflik oranları *S.epidermidis* ve diğer KNS'ler için sırasıyla %60 ve %31,9 (p<0,05); invaziv ve invaziv olmayan örneklerde sırasıyla %84,7 ve %55,3'dür (p<0,001).

**Anahtar Kelimeler:** Biyofilm, Congo red agar, Staflokokok

**Tablo 1.** Stafilokok suşlarının izolasyon bölgelerine göre dağılımı

	<i>İnvaziv izolatlar</i>	<i>İnvaziv izolatlar</i>	<i>İnvaziv izolatlar</i>	<i>İnvaziv olmayan izolatlar</i>	<i>İnvaziv olmayan izolatlar</i>	<i>Toplam</i>
<i>İzolatlar</i>	<i>Kan</i>	<i>Kateter</i>	<i>Kateterli Hasta Kanı</i>	<i>Kateter</i>	<i>Burun</i>	
MRSA	52	-	-	-	22	74
MSSA	-	-	-	-	25	25
S. epidermidis	-	5	5	9	1	20
S. haemolyticus	-	3	3	4	-	10
S. hominis	-	2	2	10	11	25
S. capitis	-	-	-	1	8	9
S. saprophyticus	-	-	-	-	2	2
S. warnerii	-	-	-	-	1	1
Toplam	52	10	10	24	70	166

## Çeşitli Gram Negatif Bakterilerin Biyofilm Oluşturma Özellikleri ve Biyofilmlerin Çeşitli Antibiyotik ve Antimikrobik Peptitler Tarafından İnhibisyonunun Araştırılması

Sibel Döşler<sup>1</sup>, Elif Karaaslan<sup>2</sup>

<sup>1</sup>İstanbul Üniversitesi Eczacılık Fakültesi, Farmasötik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, İstanbul

<sup>2</sup>Bezmi Alem Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, İstanbul

**Amaç:** Gram negatif bakteriler gerek sahip oldukları direnç mekanizmaları gerekse biyofilm oluşturma özellikleri nedeniyle hastane ve toplum kökenli birçok ciddi enfeksiyonun önde gelen etkenleridir. Biyofilm, canlı/sansız bir yüzeye tutunan ve bir matris içerisnde bulunan mikroorganizma topluluğu olup gerek bağışıklık sistemine gerekse antimikrobik maddelere karşı oldukça dirençlidir. Çalışmada kliniklerden izole edilmiş Gram negatif bakteri suşlarının biyofilm oluşturma özellikleri ile biyofilmlerin çeşitli antimikrobik maddeler tarafından inhibe edilmeleri araştırılmıştır.

**Yöntem:** Kliniklerden izole edilmiş 10'ar adet *P. aeruginosa*, *E. coli* ve *K. pneumoniae* suşunun biyofilm oluşturmaları kristal viyole ile boyama yöntemiyle belirlenmiştir. Hücrelerin yüzeye yapışma ve 24 saatlik biyofilm oluşumunun inhibisyonu, mikropalak içinde kontrole karşı MİK/subMİK konsantrasyonlardaki antimikrobik maddelerle muamele edilmiş biyofilmlerin optik dansitelerinin 600 nm'de yapılan ölçümleri ile belirlenmiştir.

**Bulgular:** 10'ar adet *P. aeruginosa* suşlarından 3'ünün kuvvetli, 6'sının orta, *E. coli* suşlarından 4'ünün kuvvetli, 5'inin orta, *K. pneumoniae* suşlarından 3'ünün kuvvetli, 4'ünün orta, kalan suşların ise zayıf biyofilm oluşturdıkları gözlenmiştir. Antimikrobik maddelerden amikasin, seftazidim, siprofloksasin, doripenem, kolistin ve melittinin *P. aeruginosa*, *E. coli* ve *K. pneumoniae* suşlarının yüzeye yapışmasını 1/10xMİK'de 1-4. saatler arasında sırasıyla %0-39, 13-49 ve 16-57 oranlarında 24 saatlik biyofilm oluşumunu ise MİK yada 1/10xMİK'de sırasıyla %17-73, 7-72 ve 10-72 oranlarında inhibe ettikleri belirlenmiştir.

**Sonuç:** Olgun biyofilmlerin eradike edilmesinde terapötik dozların çok üzerinde antibiyotik kullanılması gerekmekte olup, biyofilmin kaynaklı enfeksiyonların önlenmesinde, subMİK'deki antibiyotiklerle biyofilmlerin henüz oluşmadan engellenmesinin daha uygun olacağı düşünülmektedir.

**Anahtar Kelimeler:** Biyofilm, inhibisyon, Gram negatif bakteri

## ***Klebsiella pneumoniae* Suşlarında Sınıf I ve Sınıf II İntegronların Moleküler Karakterizasyonu**

**Azer Özad Düzgün<sup>1</sup>, Cemal Sandallı<sup>2</sup>, Ayşegül Saral<sup>3</sup>, Ayşegül Çopur Çiçek<sup>4</sup>, Meryem İraz<sup>5</sup>, Osman Birol Özgümüş<sup>4</sup>**

<sup>1</sup>Gümüşhane Üniversitesi Mühendislik ve Doğa Bilimleri Fakültesi, Genetik ve Biyomühendislik Bölümü, Gümüşhane

<sup>2</sup>Recep Tayyip Erdoğan Üniversitesi, Fen-Edebiyat Fakültesi, Biyoloji Bölümü, Rize

<sup>3</sup>Artvin Çoruh Üniversitesi Fen-Edebiyat Fakültesi, Biyoloji Bölümü, Artvin

<sup>4</sup>Recep Tayyip Erdoğan Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Rize

<sup>5</sup>Bezmialam Vakıf Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, İstanbul

Son yıllarda, klinik materyallerden izole edilen, *Enterobacteriaceae* familyasına ve *Pseudomonaslara* ait mikroorganizmalarda, birçok direnç genleri taşıyan ve integron olarak tanımlanan mobil elementlerin varlığı bildirilmiştir. Bu bağlamda bu çalışmanın amacı *Klebsiella pneumoniae* suşlarında Sınıf I ve Sınıf II integronların varlığının araştırılmasıdır.

37 *K. pneumoniae* suşundan total DNA izolasyonu yapıldı. Sınıf I ve Sınıf II integronlara özgü primerler kullanılarak PZR'ler gerçekleştirilmiştir. Amplikasyonun gerçekleştiği tüm örnekler pGEM-T Easy klonlama vektörüne aktarıldı. Ligasyon reaksiyonu toplam 10 µl hacimde 16°C'de 16 saat olarak gerçekleştirildi. PZR ürününü taşıyan pGEM-T easy vektörü, *E. coli* DH5a kompetent hücrelerine transforme edildi. Daha Sonra hücreler IPTG ve XGal içeren ampisilinli petrielerde mavi-beyaz renk oluşumuna bakılarak ayrıldı. Beyaz hücreden plazmit izole edildi ve EcoRI restriksiyon endonükleaz enzimi ile kesildi, PZR ürünü ile yan yana %1'lik agaroz jelde yürütüldü ve pozitif olanlar belirlendi. Pozitif olduğu doğrulanan plazmitleri içeren rekombinant hücreler tekrar büyütülerek plazmit DNA purifikasyon kiti kullanılarak izole edildi ve DNA sekans analizine gönderildi.

PZR sonucuna göre toplam 5 örnekte sınıf I integron saptanmış olup sınıf II integrona her hangi bir örnekte rastlanmamıştır. 5 örneğin antibiyotik direnç profili, taşıdığı gen kaseti ve hangi klinikten izole edildiği Tablo 1'de gösterilmektedir. Sınıf I integron pozitif örnekler biyoinformatik programlar kullanılarak değerlendirilmiştir. Sınıf I integronların analizinde aminoglikozid adenil transferaz ve dihidrofolat redüktazları kodlayan genler tespit edilmiştir. DNA dizi analiz sonucuna göre 4 örneğin dfrA12/aadA2 gen kaseti taşıdığı 1 tane örneğin ise dfrA5 gen kaseti taşıdığı tespit edilmiştir.

**Anahtar Kelimeler:** Gen kaset, İntegron

**Tablo.1** Klinik örneklere ait antibiyotik direnç profile ve gen kasetleri

<b>Suş Kodları</b>	<b>Yaş/ Cinsiyet</b>	<b>Klinik Örnek</b>	<b>Antibiyotik Direnç Profili</b>	<b>Gen Kasetleri</b>
3	87/K	Kan	AMP, SAM, PIP, TZP, CXM, CAZ, CFP-SUL, FEP, AMK, NET, TOB, CIP, LEV, TET, COL, MEM, IMP	dfrA12/aadA2
4	58/E	Kan	AMP, SAM, PIP, TZP, CXM, CAZ, CFP-SUL, FEP, AMK, GEN, NET, TOB, CIP, LEV, TET, MEM, IMP	dfrA12/aadA2
13	28/E	Kan	AMP, SAM, PIP, TZP, CXM, CAZ, CFP-SUL, AMK, GEN, NET, TOB, CIP, LEV, TET, TGC, SXT, MEM, IMP	dfrA5
14	57/E	Kan	AMP, SAM, PIP, TZP, CXM, CAZ, CFP-SUL, CIP, LEV, TET, COL, MEM,IMP	dfrA12/aadA2
25	61/E	Kan	AMP, SAM, PIP, TZP, CXM, CAZ, CFP-SUL, FEP, AMK, GEN, NET, TOB, CIP, LEV, TET, MEM, IMP	dfrA12/aadA2



## Flukonazole Dirençli ve Doza Bağımlı Duyarlı Kandida İzolatlarında Olası Dışa Atım Pompalarının Fenotipik Yöntemle Araştırılması

**Meltem Kaya, Nilgün Çerikçioğlu**

*Marmara Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, İstanbul*

**Amaç:** Bu çalışma, Flukonazol (FCZ)'e karşı yüksek MİK değerine sahip kandida izolatlarında olası dışa atım pompalarına bağlı direnci, pompa inhibitörleri kullanılarak "agar disk difüzyon" yöntemi ile araştırmak amacıyla planlanmıştır.

**Yöntem:** Çeşitli klinik örneklerden izole edilmiş; CLSI (Clinical Laboratories Standards Institute) M27-A3'e göre FCZ'ye dirençli {*C.albicans* (2), *C.glabrata* (3)}, ve FCZ'ye karşı doza bağımlı duyarlı {*C.albicans* (1), *C.glabrata* (2)}, olmak üzere toplam 8 köken çalışmaya alınmıştır. Kontrol olarak, atım pompaları ile ilişkili FCZ direnci belirlenmiş olan; *C.albicans* 12-99, *C.albicans* 95-142, *C.albicans* 95-190, *C.glabrata* DSY-565, *C.glabrata* YEM-19; FCZ'ye duyarlı olarak ise ATCC *C.albicans* 90028 kökenleri kullanılmıştır.

Inhibitör grubu maddeler olarak; İbuprofen (*C.albicans*'da CDR1 ve CDR2 inhibitörü), Clorgyline (*C.albicans*'da CDR1, CDR2 ve MDR1; *C.glabrata*'da CDR1 inhibitörü), Tetrandrine (*C.albicans*'da MDR1, CDR1, CDR2 inhibitörü) hammaddeleri seçilmiştir. Bu maddelerin sub-MİK değerlerini içeren diskler hazırlanmıştır. Her bir test kökeni FCZ için kendine ait supra-MİK konsantrasyonunu içeren YEPD agarı ekilmiş ve hazırlanan diskler besiyerine yerleştirilmiştir. Kontrol olarak aynı işlemler FCZ içermeyen YEPD agarlar ile tekrarlanmış ve pompa inhibitörü maddelerin antifungal etkileri test edilmiştir. Sonuçlar 37°C, 48 saat inkübasyon sonrası disklerin çevresinde inhibisyon zonu oluşup oluşmamasına göre değerlendirilmiştir.

**Bulgular:** FCZ içermeyen YEPD agar besiyerlerinde pompa inhibitörü maddelerin tek başlarına antifungal etki göstermedikleri belirlenmiştir.

Diğer bulgular Tablo 1'de belirtilmiştir.

**Sonuçlar:** Disklerin çevresinde inhibisyon zonunun varlığı, test kökenlerindeki direncin olası dışa atım pompaları ile ilintili olduğunu düşündürmektedir. Uygulanan bu yöntemin rutin dışa atım pompası tarama testi olarak geçerliliğinin kanıtlanması için, sonuçların moleküler yöntemlerle doğrulanması gerekmektedir.

**Anahtar Kelimeler:** Candida, dışa atım pompası, Flukonazol

**Tablo 1.** İnhibitör maddelerin klinik kökenlerde olası dışa atım pompaları üzerine etkileri\*

<b>Köken Tür:</b>	<b>Supra-FCZ MİK</b>	<b>100 µg/disk Ibuprofen</b>	<b>50 µg/disk Clorgyline</b>	<b>40 µg/disk Tetrandrine</b>
<i>C.albicans</i>	1024 µg/ml	Zon var	Zon var	Zon var
<i>C.albicans</i>	1024 µg/ml	Zon yok**	Zon var	Zon yok**
<i>C.albicans</i>	32 µg/ml	Zon yok	Zon yok	Zon yok
<i>C.glabrata</i>	128 µg/ml	Zon yok	Zon yok**	Zon yok**
<i>C.glabrata</i>	128 µg/ml	Zon yok	Zon yok**	Zon yok
<i>C.glabrata</i>	512 µg/ml	Zon yok	Zon var	Zon yok
<i>C.glabrata</i>	64 µg/ml	Zon yok**	Zon var	Zon var
<i>C.glabrata</i>	64µg/ml	Zon yok	Zon yok**	Zon yok

\*Tablo 1'de gösterilen sonuçlar önceden sıvı dilüsyon yöntemi ile elde edilen sonuçlar ile uyumludur (2. Ulusal Klinik Mikrobiyoloji Kongre Kitabı, S.195, SS09,2013, Antalya) \*\* Bu köken için belirtilen değer sıvı dilüsyon yöntemi ile elde edilen sonuçla uyumsuzdur.

## Klinik Örneklerden İzole Edilen *Acinetobacter* Kökenlerinde IMP-1, IMP-2, VIM-1, VIM-2 tipi Metallo Beta Laktamazların Araştırılması

Merve Ocak, **Burçin Özer**, Melek İnci, Nizami Duran

*Mustafa Kemal Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Ana Bilim Dalı, Hatay*

**Amaç:** Klinik örneklerden izole edilen *Acinetobacter* kökenlerinde metallo beta laktamaz (MBL) üretimi ve blaIMP-1, blaIMP-2, blaVIM-1 ve blaVIM-2 genlerinin araştırılması amaçlandı.

**Yöntem:** Mart 2009-Haziran 2012 tarihleri arasında Mikrobiyoloji Laboratuvarına gönderilen klinik örneklerden izole edilen 150 *Acinetobacter* kökeni çalışmaya dahil edildi. Kökenlerin tanımlanması ve antimikrobiyal duyarlılıkları otomatize sistemle, metallo beta laktamaz üretimi E-test yöntemiyle araştırıldı. blaIMP-1, blaIMP-2, blaVIM-1 ve blaVIM-2 genlerinin saptanması için polimeraz zincir reaksiyonu (PZR) yöntemi kullanıldı.

**Bulgular:** Çalışmamızdaki kökenlerin %94'ünün *Acinetobacter baumannii* %6'sının *A. Iwoffi* olduğu tespit edildi. Kökenlerin en duyarlı olduğu antibiyotiklerin sırasıyla gentamisin (%41,3), amikasin (%36,7), imipenem (%25,3) olduğu saptandı. Seftriakson (%92), levofloksasin (%84,7), seftazidim (%84), piperasilin/tazobaktam (%84) ise en dirençli oldukları antibiyotiklerdi. Kökenlerin 67 (%44,7)'si E-test yöntemiyle MBL pozitif olarak bulundu. MBL pozitif bulunan kökenlerin imipeneme, meropeneme, seftazidime, seftriaksona, gentamisine, piperasilin/tazobaktama daha dirençli olduğu saptandı. PZR yöntemiyle araştırılan blaIMP-1, blaIMP-2, blaVIM-1 ve blaVIM-2 genleri hiçbir kökende tespit edilmedi.

**Sonuç:** Çalışmamızda *Acinetobacter* kökenlerinin yarıya yakınında MBL üretimi saptanmış olup hiçbirinde blaIMP-1, blaIMP-2, blaVIM-1 ve blaVIM-2 genleri tespit edilmemiştir. Ülkemizde bildirilen çalışmalarda *Acinetobacter*'lerde blaIMP-1, ve blaVIM-1 genleri tespit edilmiştir. MBL genlerinin ortaya çıkması ve bakteriyel patojenler arasındaki yayılımları antimikrobiyal tedavilerin etkisini azaltmaktadır. Bu nedenle MBL'lerin ve onları kodlayan genleri taşıyan kökenlerin saptanması tedavide kullanılacak antibiyotik seçiminde faydalı, daha etkili tedavi yöntemleri için de yol gösterici olacaktır.

**Anahtar Kelimeler:** *Acinetobacter*, IMP, VIM

## Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesinde Kan Kültürlerinden Sık Soyutlanan Gram Negatif Bakteriler ve Direnç Profillerinin Değerlendirilmesi

Feriha Çilli, Uğur Tüzüner, Şöhret Aydemir, Alper Tünger, Fatma Kamer Varıcı Balcı  
Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Ana Bilim dalı, İzmir

Çalışmada hastanemizde kan kültürlerinden en sık izole edilen Gram negatif etkenlerin dağılımı ve antimikrobiyal ajanlara karşı direnç profillerinin değerlendirilmesi amaçlanmıştır.

Mayıs 2013-Mart 2014 tarihleri arasında hastanemizde 21520 kan kültürünün 1997'sinde (%9.27) bakteri soyutlanmıştır. Bu kültürlerin %15.52'sinde *E. coli*, %9.71'inde *K. pneumoniae*, %9.71'inde *P. aeruginosa* ve %7.86'sında *A. baumannii* izole edilmiştir.

Bakteriler, klasik yöntemler, VITEK 2 veya VITEK MS (Biomerieux, Fransa) sistemleri ile tanıya edilmiş, duyarlılık testleri CLSI önerileri doğrultusunda disk difüzyon yöntemi, VITEK 2 (Biomerieux, Fransa) veya E-test kullanılarak yapılmıştır.

Kültürlerde üreyen bakterilerin %53.7'sini Gram negatif, %46.3'ünü ise Gram pozitif etkenler oluşturmuştur. *K. pneumoniae* suşlarında gentamisin, siprofloksasin ve trimetoprim sulfametoksazol dışındaki antimikrobiyal ajanlara karşı direnç oranları *E. coli*'ye göre daha yüksek bulunmuştur. Enterik basillere karşı karbapenemler en etkin grup olarak belirlenmiş, ve *E. coli*'ye karşı etkinlikleri *K. pneumoniae*'ye göre daha yüksek bulunmuştur.

*P. aeruginosa* ve *A. baumannii*'ye karşı test edilen antimikrobiyal ajanlar arasında en etkin kolistin olarak belirlenmiştir. *P. aeruginosaya* karşı kolistin direnci %2.9 oranında bulunurken *A. baumannii* suşlarında bu ajana direnç saptanmamıştır. Her iki mikroorganizmanın aminoglikozitlere direnç oranlarının düşük olduğu gözlenmiştir. Netilmisine karşı %3.8 oranındaki direnç, bu ajanın *A. baumannii* enfeksiyonlarında ampirik tedavide önemli olabileceğini düşündürmüştür. *A. baumannii* suşlarında gerek sefaperazon sulbaktam, gerekse karbapenemlere karşı belirlenen yüksek direnç oranları, bu ajanların tedavide kullanım yerinin artık pek kalmadığını düşündürmektedir.

Kan kültürlerinden soyutlanan etkenlerin her kurumda görülme sıklıklarının ve antibiyotik direnç oranlarının izlenmesi ve bilinmesi ampirik tedavi seçiminde yararlı olacaktır.

**Anahtar Kelimeler:** Kan kültürü, Gram negatif, antimikrobiyal direnç

## Enterik Bakterilerin Çeşitli Antibiyotiklere Duyarlılığının CLSI ve EUCAST Sınır Değerlerine Göre Karşılaştırılması

**Devrim Dünder, Gülden Sönmez Tamer, Sema Keçeli**

*Kocaeli Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Kocaeli*

**Amaç:** Antibiyotik duyarlılık testlerinde ülkemizde yıllardır kullanılmakta olan CLSI standartları yerine EUCAST standartlarına geçilmesi düşünülmektedir. İki klavuz arasında bazı sınır değerler ve yöntemler açısından farklılıklar bulunmaktadır. Bu çalışmada EUCAST standartlarının kullanılması durumunda CLSI'ye göre verilen enterik bakteri duyarlılık sonuçlarının nasıl etkileneceği araştırılmıştır.

**Yöntem:** Laboratuvarımızda 2013 yılında çeşitli klinik örneklerden izole edilen 3253 enterik bakterinin çeşitli antibiyotiklere duyarlılıkları retrospektif olarak incelenmiş ve EUCAST kriterlerine göre tekrar yorumlanmıştır.

**Bulgular:** Duyarlılık oranları CLSI ve EUCAST'a göre sırası ile %olarak ampicilin için 26/26, amoksisilin/klavulonat için 58/58, piperasilin/tazobaktam için 80/76, sefuroksim için 59/59, seftazidim için 79/72, seftriakson için 68/68, sefepim için 86/73, imipenem için 90/95, meropenem için 98/99, ertapenem için 97/97, siprofloksasin için 67/63, amikasin için 98/94 ve gentamisin için 80/80 bulunmuştur.

EUCAST standartlarında orta duyarlı kategorisi bulunmadığından, esas fark direnç oranlarında saptanmıştır (Tablo 1).

**Sonuç:** CLSI ve EUCAST sınır değerleri bazı antibiyotiklerde farklılık gösterdiğinden, ülke genelinde kullanılan standartların değişmesi ile direnç oranlarında da değişiklik olacaktır. Bu fark özellikle orta duyarlı-dirençli ayırımında göze çarpmaktadır. Veri analizlerinde orta duyarlı sonuçlar genellikle dirençli kategorisine alındığından, bu durumun büyük bir soruna yol açmayacağı düşünülmekle birlikte, yine de özellikle geçmiş yıllarda yapılan çalışmalarla yeni sonuçlar karşılaştırılırken bu farklılıklar göz önünde bulundurulmalıdır.

**Anahtar Kelimeler:** CLSI, enterik bakteri, EUCAST

**Tablo 1.** CLSI ve EUCAST standartlarına göre enterik bakterilerin direnç oranları (%)

	AMP	AMC	PTZ	CXM	CAZ	CRO	FEP	IMP	MEM	EPM	CIP	AK	GM
CLSI (I)	5	18	7	5	1	1	2	4	1	1	2	1	1
CLSI (R)	69	24	13	36	20	31	12	6	1	2	31	1	19
EUCAST(R)	74	42	20	41	21	32	17	2	1	2	33	2	20

**AMP:**ampicilin, **AMC:**amoksisilin/klavulonat, **PTZ:**piperasilin/tazobaktam, **CXM:**sefuroksim, **CAZ:**seftazidim, **FEP:**sefepim, **IMP:**imipenem, **MEM:**meropenem, **EPM:**ertapenem, **CIP:**siprofloksasin, **AK:**amikasin, **GM:**gentamisin, **I:**orta duyarlı, **R:**dirençli.

## Yara Yeri Örneklerinden İzole Edilen Gram Negatif Bakterilerin Antibiyotiklere Direnç Durumunun Değerlendirilmesi

**Bilge Gültepe, Meryem Iraz, Mehmet Ziya Doymaz**

*Bezmi Alem Vakıf Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Ana Bilim Dalı, İstanbul*

**Amaç:** Bu çalışma ile Mikrobiyoloji laboratuvarına gönderilen yara yeri örneklerinden izole edilen bakterilerin dağılımı ve direnç oranlarının belirlenmesi amaçlanmıştır.

**Yöntem:** Ocak-Aralık 2013 tarihleri arasında laboratuvarımıza gönderilen yara yeri örneklerin kültürleri retrospektif olarak incelenmiş olup sadece gram negatif bakteri üremesi olan sonuçlar değerlendirilmeye alınmıştır. Bu kapsamda 402 yara örneğinde görülen gram negatif mikroorganizmaların identifikasyon ve antibiyogramlarındaki antibiyotik direnç sonuçları incelendi. Tespit edilen örneklerdeki üremeler VITEK<sup>2</sup> Compact (bioMérieux, Fransa) ile tanımlanmış, suşların antibiyotik duyarlılıkları CLSI 2013 kriterleri doğrultusunda yine aynı cihaza ait panellerde değerlendirilmiştir.

**Bulgular:** Toplam 402 yara yeri örneğinde, izole edilen bakterileri sırasıyla *E. coli* 115 (%29), *Pseudomonas aeruginosa* 85 (%21), *Acinetobacter baumannii* 57 (%14), *Klebsiella spp.* 49 (%12) ve diğerleri [*Enterobacter spp.* (n:6), *Morganella morganii* (n:12), *Klebsiella oxytoca* (n:6), *Proteus mirabilis* (n:22), *Proteus vulgaris* (n:2)] 48(%12) olarak belirlenmiştir. *E.coli* ve *Klebsiella pneumoniae* türlerinde genişlemiş spektrumlu betalaktamaz (GSBL) üretme sıklığı *E. coli*'de 34(%8), *Klebsiella*'da 7(%2) oranı saptanmıştır.

**Tartışma:** Hastanemizde yara yeri enfeksiyon etkenleri olarak en sık *E.coli* ve *Pseudomonas spp* gözlenmektedir. Bu bakterilere yönelik antibiyotikler ve direnç durumlarının bilinmesi akılcı antibiyotik kullanımı açısından faydalı olacaktır.

**Anahtar Kelimeler:** Yara kültürü, gram negatif bakteri, antibiyotik, direnç.

## Hastane Enfeksiyonu Etkeni Olarak *S. aureus*; Enfeksiyonun Yönetimi ve Tedavisi

Gönül Şengöz<sup>1</sup>, Cafer Korkut<sup>2</sup>, Ayşe Banu Esen<sup>3</sup>, Derya Yıldız<sup>4</sup>, Meryem Kocuk<sup>4</sup>, Emine Güngör Özdemir<sup>4</sup>

<sup>1</sup>Haseki Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Enfeksiyon Hastalıkları ve Klinik Mikrobiyoloji Kliniği, İstanbul

<sup>2</sup>Bağcılar Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Enfeksiyon Hastalıkları ve Klinik Mikrobiyoloji Kliniği, İstanbul

<sup>3</sup>Bağcılar Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Klinik Mikrobiyoloji Kliniği, İstanbul

<sup>4</sup>Bağcılar Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Enfeksiyon Kontrol Hemşireliği, İstanbul

**Giriş:** Hastanede antibiyotik kullanımı üç aşamada gerçekleşir: profilaksi, ampirik antibiyotik kullanımı ve tedavi. Bu aşamaların doğru ve etkili uygulanabilirliği ancak bakterilerin lokal olarak takibi ve elde edilen verilerin biriktirilip yorumlanması ile olabilir.

**Amaç:** Bu çalışma ile hastane enfeksiyonu etkeni olarak saptanan *S. aureus* suşlarının, neden olduğu enfeksiyon tipleri ve duyarlılıkları iki yıllık süreçte takip edilerek ampirik tedavi seçenekleri gözden geçirilmiştir.

**Materyal-Method:** İki yıllık süreçte 500 yataklı eğitim ve araştırma hastanesinde sağlık bakımı ile ilişkili bulunan tüm enfeksiyonlar kayıt altına alınmıştır. Takip; aktif sürveyans ve laboratuvara dayalı sürveyans ile yapılmış ve veriler Ulusal Hastane Enfeksiyonu Sürveyans Ağı üzerinden toplanmıştır.

**Bulgular:** İki yıllık süreçte *S. aureus* tarafından oluşturulan 74 hastane enfeksiyonu saptanmıştır. Hastaların yaş ortalaması 48 yıl, %55'i erkek ve yaş dağılımı 4-85 olarak bulunmuştur. Enfeksiyonların dağılımına bakıldığında 16 bakteremi ve 10 ventilatör ilişkili pnömoni atağında etken olarak saptanırken, 42 olguda deri ve eklerinin enfeksiyonu tespit edilmiştir. Hastalarda 7 olguda diyabet, 12 olguda böbrek yetmezliği ve 5 olguda malignite alta yatan hastalık olarak saptanmıştır.

Cerrahi alan enfeksiyonlarında (CAE) ortalama enfeksiyonun saptanma günü 18 gün, enfeksiyondan sonra ortalama yatış 22 gün olarak tespit edilmiştir. Hastalardan biri kaybedilmiştir.

İzole edilen suşlarda linezolid, teikoplanin ve daptomisin direnci saptanmazken iki olguda van-komisin için MİK değeri 2 µgr/ml olarak tespit edilmiştir.

**Sonuç:** CAE'da sıklıkla rastlanan bir etken olması nedeniyle *S. aureus* önem taşımaktadır. Özellikle protez içeren operasyonlarda belli bir oranın üzerinde CAE etkeni olarak *S. aureus* varlığının saptanması halinde profilaksi ve ampirik tedavilerin değiştirilmesi gerekliliği vurgulanmaktadır.

**Anahtar Kelimeler:** Antibiyotik, hastane enfeksiyonu, *S. aureus*

## Ege Üniversitesi Tıp fakültesi Hastanesinde Yoğun Bakım Hastalarında Bakteremi Etkenleri ve Antimikrobiyalere Karşı Duyarlılığın Değerlendirilmesi

Feriha Çilli, Fatma Kamer Varıcı Balcı, Alper Tünger, Şöhret Aydemir

Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Ana Bilim Dalı, İzmir

Günümüzde Yoğun Bakım hastalarında nozokomiyal kan dolaşım enfeksiyonları önemli morbidite ve mortalite nedenidir. Çalışmamızda ampirik tedavi açısından fikir verebilmesi amacıyla bakteremi etkenleri ve antimikrobiyal duyarlılıklarının incelenmesi amaçlanmıştır.

Çalışmada Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi Anestezi Yoğun bakım biriminde Ocak 2013-Mart 2014 tarihleri arasında yatarak izlenen hastalardan Bakterioloji Laboratuvarı'mıza gönderilen kan kültürlerinden etken olarak soyutlanan 413 bakteri incelenmiştir. Soyutlanan bakteriler, klasik biyokimyasal yöntemler, VITEK 2 (Biomerieux, Fransa) ve VITEK MS (Biomerieux, Fransa) sistemleri ile tanımlanmıştır. Duyarlılık testleri CLSI önerileri doğrultusunda Kirby Bauer disk difüzyon yöntemi, VITEK 2 (Biomerieux, Fransa) otomatize sistemi veya E test yöntemi kullanılarak yapılmıştır.

Bakteri üreyen kültürlerin %53.8'inde Gram negatif, %46.2'sinde Gram pozitif etkenler belirlenmiştir. *Acinetobacter baumannii* ve *Enterococcus faecalis* %12.8, *Staphylococcus aureus* %12.1, Koagülaz negatif stafilokoklar (KNS), *Klebsiella pneumoniae* %11.7, *Pseudomonas aeruginosa* %8.7 ve *Escherichia coli* %6.3 oranında soyutlanmıştır. Tüm enterokokların %10.9'u vankomisin dirençli suşlar olup en sık soyutlanan tür *E faecium'dur*.

Nonfermentatif bakterilere karşı kolistin ve tigesiklin, enterik basillere ise karbapenemler en etkili ajanlar olarak bulunmuştur. *Klebsiella* suşlarında *E coli*'ye göre direnç oranları daha yüksek gözlenmiştir. Soyutlanan Gram pozitif bakterilere karşı en etkin ajanlar glikopeptidler, linezolid ve tigesiklin olarak bulunmuştur.

Hastanemizde yoğun bakım hastalarında bakteremi etkenlerinin dağılımının ve antibiyotik direnç oranlarının izlenmesi ampirik antibiyotik kullanımında yarar sağlayacaktır.

**Anahtar Kelimeler:** Bakteremi, antibiyotik direnci



## Bir Eğitim ve Araştırma Hastanesinde Enterokokların Yıllara Göre Antimikrobiyal Ajanlara Direnç Durumlarının Değerlendirilmesi

**Hülya İren Güvenç, Oya Akkaya, Asuman Güzelant, Meral Kaya, Ayşegül Opuş, Şerife Yüksekaya, Muhammet Güzel Kurtoğlu**

*Konya Eğitim ve Araştırma Hastanesi Tıbbi Mikrobiyoloji Laboratuvarı, Konya*

**Amaç:** Bu çalışmanın amacı, Konya Eğitim ve Araştırma Hastanesi Klinik Mikrobiyoloji Laboratuvarı'na 1 Ocak 2008-31 Aralık 2010 tarihleri arasında farklı kliniklerden gönderilen örneklerden izole edilen 1067 Enterokok cinsi bakterinin tür dağılımını ve antimikrobiyal ajanlara direnç oranlarını değerlendirmektir.

**Materyal-Metod:** Enterokokların identifikasyonu ve antimikrobiyal ajanlara duyarlılıklarının saptanmasında BD Phoenix (Becton Dickinson Sparks, USA) otomatize sistemi kullanılmıştır.

**Bulgular:** İzolatların %63.8'i idrar, %10.9'u yara, %6.4'ü genital materyal, %5.6'sı kan'dan ve %13.3'ü diğer örneklerden izole edilmiştir.

Suşların 811'i (%76) *Enterococcus faecalis*, 215'i (%20,1) *Enterococcus faecium*, 21'i (%2) *Enterococcus gallinarum*, 13'ü (%1,2) *Enterococcus raffinosus*, 4'ü (%0.4) *Enterococcus hirae*, 2'si (%0.2) *Enterococcus avium* ve 1'i (%0.1) *Enterococcus durans* olarak tanımlanmıştır. Yıllara göre antibiyotik direnç oranları tablo 1' de gösterilmiştir.

**Sonuç:** Çalışmamızda elde edilen verilere göre hastanemizde izole edilen Enterokok suşlarındaki yüksek düzey antimikrobiyal ajanlara dirençleri dikkat çekmektedir. Ampirik tedavi yaklaşımlarında, hastanelerin direnç profilleri izlenmeli ve antibiyogram sonuçlarına göre gerekli olduğu durumlarda, antibiyoterapinin yeniden düzenlenmesi gerektiği kanaatine varılmıştır.

**Anahtar Kelimeler:** Antimikrobiyal ajanlar, direnç, enterokok

**Tablo 1.** Yıllara göre antibiyotik direnç oranları (%)

<b>Antimikrobiyaller</b>	<b>2008</b>	<b>2009</b>	<b>2010</b>
Ampisilin	28,5	27	30,8
Penisilin	0	0	36,2
Siprofloksasin	37	47,7	38,2
Gentamisin (Yüksek düzey)	26,2	33,1	27,8
Streptomisin (Yüksek düzey)	44,2	53,75	47,3
Vankomisin	10,5	8,3	10,5

## Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesinde Kan Kültürlerinden Sık Soyutlanan Gram Pozitif Bakterilerin Direnç Profilleri

Feriha Çilli, Uğur Tüzüner, Şöhret Aydemir, Alper Tünger, Emine Koçman

Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Ana Bilim Dalı, İzmir

Bu çalışmada hastanemizde kan kültürlerinden en sık soyutlanan Gram olumlu bakterilerin antibiyotik direnç oranlarının araştırılması amaçlanmıştır.

Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi Bakterioloji laboratuvarında Mayıs 2013-Mart 2014 tarihleri arasında kan kültürlerinden soyutlanan Gram pozitif bakteriler değerlendirmeye alınmıştır. Bunlar arasında en sık soyutlanan organizmaların stafilocok ve enterokok suşları olduğu gözlenmiştir. İncelenen bakteriler klasik yöntemler / VITEK 2 (Biomerieux, Fransa) / VITEK MS (Biomerieux, Fransa) sistemleri ile tanımlanmıştır. Duyarlılık testleri CLSI önerileri doğrultusunda Kirby Bauer disk difüzyon yöntemi, VITEK 2 (Biomerieux, Fransa) otomatize sistemi veya E-test yöntemi kullanılarak yapılmıştır.

Bakteri soyutlanan kültürlerin %15.8'inde Koagülaz Negatif Stafilocok (KNS), %13.7'sinde enterokok türleri ve %11.8'inde *S aureus* saptanmıştır. Enteroklar içerisinde %51.3 oranıyla en sık görülen tür *E faecalis*'tir. Tüm enterokoklarda vankomisine karşı direnç oranı %9.5 olarak belirlenmiştir. Vankomisin dirençli enterokokların tümü *E faecium* olarak tanımlanmıştır.

Koagülaz negatif stafilocoklar *S aureus* ile karşılaştırıldığında KNS'ların tüm antimikrobiallere karşı direnç oranlarının daha yüksek olduğu görülmüştür. KNS'larda penisilin ve metisilin direnç oranları sırasıyla %96.5 ve %87.9 olarak bulunmuştur. Vankomisine karşı dirençli stafilocok suşu saptanmazken KNS suşlarında %1.9 oranında teikoplanin direnci belirlenmiştir. Enterokok türlerinde yüksek düzey gentamisin ve streptomisin direnç oranları sırasıyla %45.1 ve %54.9 bulunmuştur. Tüm Gram olumlu suşlara en etkin ajanlar glikopeptitler, linezolid ve tiğesiklin olarak belirlenmiştir.

Stafilocoklarda görülen yüksek metisilin direnci glikopeptid kullanım sıklığında artışa bu da VRE suşlarının gittikçe önemli bir sorun haline gelmesine neden olmaktadır. Akılcı antibiyotik kullanımının yaygınlaştırılması ve kontrol önlemlerine uyulması gerekmektedir.

**Anahtar Kelimeler:** Kan kültürü, Gram pozitif, antimikrobiyal direnç

## CLSI'dan EUCAST'a Geçiş: Kirby Bauer Disk Difüzyon Testi Sonuçlarının Karşılaştırılması

**Büşra Betül Özmen<sup>1</sup>, Duygu Öcal<sup>1</sup>, Zeynep Gençtürk<sup>2</sup>, İştar Dolapçı<sup>1</sup>, Alper Tekeli<sup>1</sup>, Zeynep Ceren Karahan<sup>3</sup>**

<sup>1</sup>Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Ankara

<sup>2</sup>Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi, Biyoistatistik Anabilim Dalı, Ankara

<sup>3</sup>Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Ankara

Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi, İbn-i Sina Hastanesi Merkez Mikrobiyoloji Laboratuvarı, Ankara

**Amaç:** Avrupa Birliği ile uyumun sağlanması için ülkemizde antimikrobiyal duyarlılık testlerinin standardizasyonunda "CLSI" yerine "EUCAST" kriterlerine geçiş gündemdedir. Çalışmanın amacı, klinik izolatlarda disk difüzyon testi (DDT) sonuçlarının değerlendirilmesinde CLSI yerine EUCAST kriterlerinin kullanılmasının raporlamayı ne şekilde etkileyeceğini araştırılmasıdır.

**Yöntem:** A.Ü.Tıp Fak. İbn-i Sina Hastanesi Merkez Mikrobiyoloji Laboratuvarı'na 01.01-15.03.2014 tarihleri arasında gönderilen klinik örneklerden izole edilen 128 enterik basil, 50 *Pseudomonas*, 50 *Acinetobacter*, 50 enterokok ve 50 stafilokok türünün disk içeriği aynı olan antimikrobiyaller için bildirim kategorileri CLSI M100-S24(2014) ve EUCAST v 4.0(2014) standartları ile belirlenmiştir. CLSI kriterleri referans alınarak çok büyük, büyük ve küçük hata oranları hesaplanmıştır. Yöntemler arası uyum, kappa uyum katsayısı ( $\kappa$ ) ile araştırılmıştır ( $\kappa=0$  uyumsuz, 0,01-0,20 düşük uyumlu, 0,21-0,40 kabul edilebilir uyumlu; 0,41-0,60 ortalama uyumlu; 0,61-0,80 iyi uyumlu >0,81 mükemmel uyumlu).

**Bulgular:** Stafilokok, enterokok, *Pseudomonas spp.* (aztreonam hariç) ve *Acinetobacter spp.*'de CLSI ve EUCAST kriterleri mükemmel uyum göstermiştir. *Pseudomonas spp.*'de aztreonam sonuçları uyumsuzdur ( $\kappa=0$ , büyük hata=%100). *Enterobacteriaceae* için ampisilin, sefoksitin, sefepim, imipenem, gentamisin ve trimetoprim-sülfametoksazol için mükemmel; amoksisilin-klavulonik asit, meropenem, ertapenem ve amikasin için iyi, siprofloksasin için kabul edilebilir uyum tespit edilmiştir ( $\kappa=0,28$ , büyük hata %70,6).

**Sonuç:** CLSI'dan EUCAST kriterlerine geçişte *Pseudomonas spp.* için azteronam ve Enterobacteriaceae için siprofloksasin açısından hangi kriterin kullanılacağına karar verilmesi gereklidir. Bu süreçte bildirim kategorileri arasında uyumsuzluk olabileceği akılda tutularak klinisyenlerle yakın ilişki içerisinde kalınması ve bu süre içerisinde hastalarda tedaviye cevabın izlenmesi önemlidir.

**Anahtar Kelimeler:** EUCAST, CLSI, uyum

## Balgam Kültürlerinde *S.paucimobilis* Sıklığı ve Antibiyotik Duyarlılığı

Mine Turhanoğlu<sup>1</sup>, Fulya Bayındır Bilman<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Diyarbakır Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Mikrobiyoloji Kliniği, Diyarbakır

<sup>2</sup>İzmir Menemen Devlet Hastanesi, Mikrobiyoloji Laboratuvarı, İzmir

**Amaç:** Daha önceleri *Pseudomonas* cinsi içinde yer alan *Sphingomonas paucimobilis* pnömoni, sepsis, peritonit, kateter ilişkili enfeksiyonlar ve yumuşak doku enfeksiyonlarından önceki yıllara göre daha sık izole edilmesi nedeniyle önemi artan bir patojen olarak kabul edilmektedir. Hastane kaynaklı enfeksiyonlarda da geçmişe oranla daha sık rol almaktadır.

**Yöntem:** Bu çalışmada, Diyarbakır Eğitim ve Araştırma Hastanesi'ne 2005–2012 tarihleri arasında başvuran hastalar arasında *S.paucimobilis* üremiş vaka dosyaları retrospektif olarak incelenmiştir. Bakterilerin izolasyonunda klasik yöntemler kullanılmış, kanlı ve EMB agarda üreme saptanan kolonilerden Gram boyama yapılmıştır. Gram negatif basillerden hareket testi negatif, oksidaz ve katalaz testleri pozitif saptanan mikroorganizmaların tanımlanması ve antibiyogramı için BBL Crystal Enteric/Nonfermenter Manual İdentifikasyon Kiti (Becton Dickinson, USA), Kirby-Bauer disk difüzyon yöntemi ve Vitek 2 (bioMerieux, Fransa) identifikasyon sistemi kullanılmıştır.

**Bulgular:** *S.paucimobilis* vakalarının cinsiyet dağılımlarında 18(%56)'inin kadın, 14(%44)'ünün erkek olduğu gözlemlenmiştir. Balgam kültürlerinden *S.paucimobilis* izole edilen 32 hastanın 17'si göğüs hastalıkları ve göğüs cerrahisi servislerinde, 8'i yoğun bakımda, 7'si ise dahiliye servisinde yatarak ya da ayaktan tedavi edilmişlerdir. Antibiyotik direnci en fazla amikasin ve gentamisine karşı görülmüştür.

**Sonuç:** *S.paucimobilis*'in doğal ortamlarda bulunabilmesine karşın, hastane ortamlarında da varlığı ve su kaynaklı bulaş yolu ile özellikle immun yetmezliği olan hastalarda ciddi enfeksiyonlara ve yoğun bakımlarda salgınlara yol açabilen bir bakteri olduğu unutulmamalıdır.

**Anahtar Kelimeler:** balgam kültürü, *Sphingomonas paucimobilis*

**Tablo 1.** *S.paucimobilis* izolatlarında antibiyotik direnç oranları

	n	%
Sefepim	3	9
Ampisilin/sulbaktam	2	8
Gentamisin	7	22
Sefotaksim	1	3
Amikasin	8	25
Siprofloksasin	3	9
Amoksisilin/klavulanik asit	1	3
Piperasilin/tazobaktam	4	12
Seftazidim	6	19

## Çeşitli Klinik Örneklerden İzole Edilen *S. marcescens* suşlarının Antimikrobiyal Ajanlara Duyarlılıklarının Araştırılması

Şerife Yüksekaya, Ayşegül Opuş, Asuman Güzelant, Meral Kaya, Oya Akkaya,  
Hülya İren Güvenc, Muhammet Güzel Kurtoğlu

Konya Eğitim ve Araştırma Hastanesi Tıbbi Mikrobiyoloji Laboratuvarı, Konya

**Amaç:** *S. marcescens* Enterobacteriaceae ailesinden oportunistik, hareketli Gram negatif bakterilerdir. Serratia cinsi bakteriler daha çok yenidoğan ve immünkompremize hastalarda hastane enfeksiyonu etkenidirler. Solunum ve idrar yolu enfeksiyonları bakteriyemi, menenjit ve yara enfeksiyonları neden olduğu klinik tablolardır. Hastane enfeksiyonu etkenleri arasında önemli bir yeri olan *S. marcescens* 'in klinik örneklerden izolasyon oranları ve antimikrobiyal ajanlara karşı duyarlılıklarının araştırılması amaçlanmıştır.

**Yöntem:** Çalışmada, hastanemizin çeşitli klinik ve polikliniklerinden gönderilen örnekler %5 Koyun Kanlı Colombia Agar (Becton Dickinson-USA) ve Eozin Metilen Blue Agara (Becton Dickinson-USA) ekimleri yapılmış, izole edilen patojen bakterilerin identifikasyonları ve antibiyotik duyarlılıkları konvansiyonel yöntemlerin yanısıra phoenix (Becton Dickinson-USA) otomatik identifikasyon sistemi ve panelleri kullanılmıştır.

**Bulgular:** Laboratuvarımıza 2008-2013 yılları arasında gönderilen 78 (%32,77) solunum yolu örneği, 51 (%21,42) steril vucut sıvısı, 50 (%21) yara, 23 (%9,66) kan, 36 (%15,2) idrar örneğinden izole edilen toplam 238 adet *S. marcescens* suşu değerlendirildi. Bakterilerin 143'ü (%60) yoğun bakım ünitesinde yatan hastalardan gelen materyallerde üretildi. Göğüs hastalıkları servisinin en çok bakterinin üretildiği servis olduğu tespit edildi.

**Sonuç:** *S. marcescens* ampisilin, amoksisilin, amoksisilin/klavunat, birinci kuşak sefalosporinler, sefuroksim ve kolistine doğal dirençlidir. [Çalışmamızda altı yıllık antimikrobik duyarlılık sonuçları toplu analiz edildiğinde duyarlılık oranının levofloksasinin (%98,51) en yüksek, aztreonamin (%85,77) en düşük olduğu görüldü. Yıllara göre değerlendirildiğinde duyarlılık oranında azalma saptanmayıp aztreonam ve sefepim'de artış saptanmıştır.

**Anahtar Kelimeler:** *S. marcescens*, antimikrobiyal duyarlılık

**Tablo 1.** *S. marcescens* suşlarında yıllara göre antibiyotik duyarlılık oranları(%)

	<b>2008</b> <b>n =9</b>	<b>2009</b> <b>n =18</b>	<b>2010</b> <b>n =45</b>	<b>2011</b> <b>n =55</b>	<b>2012</b> <b>n =54</b>	<b>2013</b> <b>n =57</b>
Amikasin	88,89	100,00	95,56	92,73	100,00	96,49
Aztreonam	66,67	88,89	86,67	85,45	87,04	87,72
Sefepim	77,78	88,89	88,89	78,18	88,89	89,47
Seftazidim	88,88	94,44	95,56	89,09	88,89	87,72
Siprofloksasin	88,88	100,00	97,78	98,18	100,00	96,49
Gentamisin	88,89	100,00	97,78	87,27	90,74	94,74
İmipenem	100	94,44	100	90,91	100	96,49
Levofloksasin	85,71	100	100	97,87	100	97,92
Piperasilin/Tazobaktam	88,89	100	95,56	83,64	90,74	91,23
Trimetoprim sulfametoksazol	100	100	100	87,27	90,74	96,49

## Çeşitli Klinik Örneklerden Beş Yılda İzole Edilen *Stenotrophomonas Maltophilia* Suşlarının Dağılımı ve Antimikrobial Duyarlılıkları

Asuman Güzelant, Şerife Yüksekaya, Meral Kaya, Ayşegül Opuş, Hülya İren Güvenç, Oya Akkaya, Muhammet Güzel Kurtoğlu

Konya Eğitim Araştırma Hastanesi, Mikrobiyoloji Laboratuvarı, Konya

**Giriş:** *Stenotrophomonas maltophilia* günümüzde gittikçe daha sık izole edilen fırsatçı bir nazokomiyal enfeksiyon etkenidir. Doğada yaygın olarak bulunduğu gibi erişkinlerin orofarinks ve balgamlarından sıklıkla izole edilebilir.

**Materyal-Metod:** Çalışma, Konya Eğitim ve Araştırma Hastanesi Mikrobiyoloji Laboratuvarı'na 1 Ocak 2009-31 Aralık 2013 tarihleri arasında gönderilen örneklerden retrospektif olarak yapılmıştır. Bakterilerin tanımlanması ve antibiyotik duyarlılıkları Phoenix (Becton Dickinson) tam otomatik tanımlama sistemi ve klasik yöntemlerle yapılmıştır.

**Bulgular:** Laboratuvarımıza gönderilen çeşitli materyallerden izole edilmiş 129 *S.maltophilia* suşu çalışmaya alınmıştır. Çalışmaya alınan suşların materyal dağılımı Tablo 1'de verilmiştir. Tüm suşların yıllara göre antibiyotik duyarlılıkları Tablo 2 'de verilmiştir.

**Tartışma ve Sonuç:** Çalışmaya alınan 129 suşun yıllara göre dağılımına bakıldığında giderek suş sayısının arttığı görülmektedir. En çok yoğun bakım ünitelerinden izole edilen suşlar en fazla balgam ve diğer alt solunum yolu materyallerinden elde edilmiştir. Çalışma sonucuna göre, CLSI tarafından A ve B grubu olarak önerilen antibiyotiklerden trimetoprim-sülfametoksazol (TMP-SXT)'e duyarlılık en yüksek (%75-100) olarak bulunurken, bunu levofloksasin (LEV) (%66,67-81,82) takip etmiştir. Seflazidim'e karşı duyarlılık ise %13-35 gibi oldukça düşük oranlarda bulunmuştur. Sonuç olarak trimetoprim-sülfametoksazol en duyarlı antibiyotik olarak bulunurken, seftazim duyarlılığı oldukça düşük bulunmuştur.

**Anahtar Kelimeler:** Direnç, *Stenotrophomonas maltophilia*

**Tablo 1.** Çalışmaya alınan *S.maltophilia* suşlarının materyal dağılımı

Materyal	Suş Sayısı	% Oranları
Balgam	59	45.73
Derin Trakeal Aspirat	9	6.97
BAL-Plevral Sıvı	25	19.37
İdrar	16	12.40
Kan	10	7.75
Kulak Akıntısı	1	0.77
Yara	9	6.97
Toplam	129	100

**Tablo 2.** Çalışmaya alınan *S.maltophilia* suşlarının yıllara göre antibiyotik duyarlılık yüzdeleri

<b>Yıllar</b>	<b>Antibiyotik Duyarlılıkları (%)</b>		
	<b>Seftazidim</b>	<b>Levofloksasin</b>	<b>Trimetoprim-sülfametoksazol</b>
2009	38.46	81.82	100
2010	24	66.67	76
2011	12.9	83.33	90.32
2012	10.71	75	78.57
2013	22.86	75	77.4



## Çeşitli Klinik Örneklerden İzole Edilen *Enterobakter Aerogenes* ve *Enterobakter Cloaca* Suşlarının Antimikrobiyal Ajanlara Karşı Duyarlılıklarının Araştırılması

Meral Kaya, Şerife Yüksekaya, Asuman Güzelant, Ayşegül Opuş, Hülya İren Güvenç, Oya Akkaya, Muhammet Güzel Kurtoğlu

Konya Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Mikrobiyoloji, Konya

**Giriş:** Barsak florasında bulunan Gram negatif enterik bakterilerden Enterobakter cinsinin enfeksiyon etkeni olarak önemi gittikçe artmaktadır. Enfeksiyon etkenleri içinde önemli yeri olan Gram negatif çomaklar antimikrobiyallere karşı artan oranlarda direnç geliştirmekte, bu nedenle de tedavi seçimi ve etkinliğinde sorunlar ortaya çıkmaktadır. Enterobacter türleri içerisinde enfeksiyon etkeni olarak en sık *E. cloacae*, *E. aerogenes*, izole patojenlerdir.

**Materyal-Metod:** Bu çalışmada 2008- 2013 tarihleri arasında 6 yıl boyunca hastanemizde yatan ve polikliniğe başvuran hastaların çeşitli klinik örneklerden izole edilen 935 *Enterobakter aerogenes* ve *Enterobakter cloaca* suşlarında çeşitli antimikrobiyal ajanlara karşı duyarlılık oranlarının belirlenmesi ve gelecek yıllarda direnç profiline veri tabanı oluşturması amaçlanmıştır. Bakterilerin tanımlanması ve antimikrobiyal duyarlılıklarının saptanmasında konvansiyonel yöntemlerin yanısıra Phoenix (Becton Dickinson, USA) tam otomatik identifikasyon sistemi ve panelleri kullanılmıştır.

**Bulgular:** Toplam 935 klinik örneğin 445'i idrar, 435'i diğer klinik örneklerden (balgam, kan, yara, steril vücut sıvıları vs.) izole edilmişlerdir. Toplam 242 Enterobacter aerogenes suşunun 123'ü idrar, 119 'u diğer klinik örneklerdi. *Enterobacter aerogenes* suşunun çeşitli antimikrobiyallere duyarlılık oranları ve yıllarına göre dağılımı Tablo 1'de gösterilmiştir. Toplam 693 Enterobacter cloaca suşunun 322'si idrar, 379' u diğer klinik örneklerden izole edilmiştir. *Enterobacter cloaca* suşlarının çeşitli antimikrobiyallere duyarlılık oranları ve yıllara göre dağılımları da Tablo 2'de gösterilmiştir.

**Sonuç:** Enfeksiyon etkeni olarak *E. cloaca* suşları *E. aerogenes*'den daha sık izole edilmesine karşın genel olarak antibiyotik duyarlılığının yüksekliği dikkat çekicidir. Bu çalışmamızda *E. aerogenes* ve *E. cloaca* suşları ampisilin, amoksasilin/klavunonat, sefazolin, sefuroksim, sefoksitin'e %100 dirençli bulunmuştur.

**Anahtar Kelimeler:** Antimikrobiyal Duyarlılık, Enterobakter

**Tablo 1.** İdrar ve diğer klinik örneklerden izole edilen Enterobacter aerogenes 'in yıllara göre antimikrobiyal duyarlılık oranları (%).

YIL	2008		2009		2010		2011		2012		2013	
	İdrar 6	Diğerleri: 34	İdrar 18	Diğerleri: 14	İdrar 23	Diğerleri: 15	İdrar 19	Diğerleri: 23	İdrar 34	Diğerleri: 34	İdrar 25	Diğerleri: 23
Ampisilin	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Ampisilin klavulonat	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Sefazolin	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Sefuroksim	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Sefoksitin	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Sefepim	33.33	61.76	61.11	64.29	91.30	80.00	89.47	65.22	73.73	55.56	60.00	82.61
Seflazidim	66.74	64.71	88.89	64.29	65.22	66.67	73.68	52.17	58.82	30.00	68.00	69.57
Siprofloksasin	50.00	76.47	94.44	92.86	91.30	86.67	100.0	91.30	85.29	60.00	87.50	95.60
Meropenem	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0
Aztreonam	50.00	52.94	61.11	50.00	60.87	46.67	68.42	52.17	61.76	30.00	60.00	60.87
Trimetoprim-Sulfometaksazol	33.33	67.65	72.22	85.21	86.96	73.33	100.0	82.61	74.47	60.00	60.00	86.96
Amikasin	83.13	76.47	94.44	85.71	95.65	100.0	100.0	95.65	94.12	100.0	100.0	95.65
Gentamisin	66.67	53.73	83.33	85.71	91.30	100.0	100.0	82.61	73.53	60.00	80.00	91.30

**Tablo 2.** İdrar ve diğer klinik örneklerden izole edilen Enterobacter cloacae'nin yıllara göre antimikrobiyal duyarlılık oranları (%).

Yil	2008		2009		2010		2011		2012		2013		
	Numune/sayılar	22	32	60	64	81	91	49	71	49	38	61	75
Ampisilin	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Amoksisilin-klavulonat	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Sefazolin	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Sefuroksim	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Sefoksitin	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Sefepim	72.73	78.13	66.67	82.54	66.67	78.89	83.67	92.86	85.71	92.11	90	78.67	75
Seflazidim	81.82	90.63	81.67	89.06	72.84	83.52	65.31	80.28	75.31	86.84	68.85	64.00	61
Siprofloksasin	100.00	90.63	93.33	90.63	88.89	87.91	85.71	94.29	100.00	10.00	93.33	81.33	0
Meropenem	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00	83.10	100.00	100.00	100.00	100.00	0
Aztreonam	63.64	67.74	63.33	79.69	58.02	76.92	65.31	74.65	75.51	84.21	66.67	72.00	0
Trimetoprim-sulfametoksazol	63.64	71.88	80.00	89.06	77.78	86.81	79.59	91.84	91.84	97.37	88.52	82.67	0
Amikasin	100.00	96.88	95.00	98.44	96.30	100.00	100.00	97.18	100.00	100.00	100.00	100.00	0
Gentamisin	90.91	96.88	85.00	87.50	87.65	97.80	87.76	95.77	95.92	100.00	90.16	82.67	0

## Yeni Katyonik Steroid Antibiyotiklerden CSA-8, CSA-13, CSA-44, CSA-131 ve CSA-138'in Çeşitli Gram Pozitif ve Gram Negatif Bakteriler Üzerine in vitro Etkilerinin Araştırılması

**Gözde İnci, Merve Ataman, Çağla Bozkurt Güzel, Sibel Döşler**

*İstanbul Üniversitesi Eczacılık Fakültesi, Farmasötik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, İstanbul*

**Amaç:** Günümüzde antibiyotiklere karşı görülen direncin yüksek düzeylere ulaşması, araştırmacıları doğal antimikrobiyal peptidlerden yeni analogların türetilmesi çalışmalarına yöneltmiştir. Ceragenin adı verilen kolik asidin bir seri katyonik türevleri oluşturulmuş ve yapılan çalışmalarla bunların antimikrobiyal özellikte oldukları gözlenmiştir. Ceragenin membrana etki edebilen katyonik steroidlerin genel ismi olup, doğal katyonik antimikrobiyal peptidlerin peptit yapısında olmayan formları olarak geliştirilmiştir. Çalışmamızda gerek toplum gerekse hastane kaynaklı birçok önemli enfeksiyona sebep olan Gram pozitif ve Gram negatif bakterilere karşı cerageninlerin beş farklı türünün in vitro etkisi araştırılmıştır.

**Yöntem:** Çalışmamızda kliniklerden izole edilmiş 10'ar adet *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Enterococcus faecalis*, metisiline duyarlı *Staphylococcus aureus* (MSSA) ve metisiline dirençli *Staphylococcus aureus* (MRSA) suşları üzerine CSA-8, CSA-13, CSA-44, CSA-131, ve CSA-138'in in vitro etkileri Clinical Laboratory and Standard Institute (CLSI) tarafından bildirilen mikrodilüsyon yöntemi kullanılarak araştırılmıştır.

**Bulgular:** CSA-8'in MİK aralıkları adet *E. coli*, *K. pneumoniae*, *E. Faecalis*, MSSA, ve MRSA; >128-64, >128- 64, 1-64, 2-8, ve 4-32 µg/ml'dir. CSA-13 için 2-4, 1-8, 0.5-16, 0.25-1, ve 0.5-1 µg/ml'dir. CSA- 44 için 8-32, 8-32, 4-64, 4-16, ve 8 µg/ml'dir. CSA-131 için 16-32, 4-32, 2-32, 2-16, ve 4-8 µg /ml'dir. CSA-138 için 16-32, 8-64, 4-32, 2-16, ve 2-8 µg/ml'dir.

MBK sonuçları ise MİK değerlerine eşit yada iki katıdır.

**Sonuç:** Yapılan bu çalışma sonucunda beş adet ceragenin türünden en etkili olanın CSA-13, en az etkili olanın ise CSA-8 olduğu saptanmıştır. Bu sonuçlara göre cerageninlerin, gerekli in-vitro ve in-vivo testlerin yapılmasından sonra, uygun bir formülasyon ile yakın gelecekte yeni ve etkili bir antibiyotik grubu olarak klinik kullanıma gireceğini düşünmekteyiz.

**Anahtar Kelimeler:** Ceragenin, Gram negatif ve Gram pozitif bakteriler, MİK

## Klinik Örneklerden İzole Edilen Enterokok Suşlarında Belirlenen Glikopeptid Direncinin Yıllara Göre Değişimi

**Özlem Yoldaş, Gülşah Aşık, Recep Keşli, Özgül Çetinkaya, Cengiz Demir**

Afyon Kocatepe Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Afyon

Antibiyotige dirençli, fırsatçı patojen olan enterokoklar nozokomiyal etkenler arasında önemli yer tutmaktadır. Glikopeptid grubu antibiyotiklere dirençli enterokok suşları giderek artmakta, bu durum mevcut tedavi seçeneklerinin kısıtlanması nedeniyle önemli bir tehdit oluşturmaktadır. Bu çalışmada enterokok suşlarının antibiyotik direnç profillerinin belirlenmesi ve yıllar içinde değişen direnç oranlarının karşılaştırılması amaçlanmıştır.

Afyon Kocatepe Üniversitesi Tıp Fakültesi Mikrobiyoloji Laboratuvarına Ocak 2011-Aralık 2013 yıllarında gönderilen çeşitli klinik örneklerden izole edilen enterokok suşlarının tanımlanması ve antibiyotik duyarlılıkları konvansiyonel metodlar ve otomatize sistem (Phoenix100, BD, USA) kullanılarak yapılmıştır. Vankomisin ve teikoplanin direnci E test metodu (Liofilchem s.r.l, Italy) ile doğrulanmıştır.

Çalışma kapsamına 121'i (%50,6) *Enterococcus faecalis*, 118'i (%49,4) *E. faecium* olmak üzere 239 enterokok suşu alınmıştır. Bu suşların 67'si 2011, 101'i 2012 ve 71'i 2013 yılında izole edilmiştir. Örneklerin 71'i pediatri, 56'sı dahiliye, 20'si genel cerrahi, 17'si göğüs hastalıkları, 11'i nöroloji ve 64'ü diğer kliniklerden gönderilmiştir. Enterokok suşlarının 132'si (%55,2) idrar, 59'u (%24,7) kan, 32'si (%13,4) yara, 18'i (%6,7) diğer örneklerden izole edilmiştir. *E. faecalis* izolatlarından 3'ünde, *E. faecium* izolatlarının 10'unda vankomisin ve teikoplanin direnci saptanmıştır. Vankomisin ve teikoplanine karşı dirençli üç izolatın ikisi linezolid orta duyarlı ve biri ise dirençli bulunmuştur. Enterokok suşlarının Vankomisin direncinin (VRE) yıllara göre değişimi Tablo 1'de verilmiştir.

Yıllar içinde değişen glikopeptid direnci dikkat çekici bulunmuştur. Dirençli izolatların tespitinin tedavinin yönlendirilmesi, bunun yanında dirençli izolatların yayılmasının önlenmesine önemli katkı sağlayacağı düşünülmüştür.

**Anahtar Kelimeler:** Enterokok, vankomisin direnci, VRE

**Tablo 1.** Enterokok suşlarında Vankomisin direncinin yıllara göre değişimi

		Yıl							
		2011		2012		2013		Toplam	
		(n=67)		(n=101)		(n=71)		(n=239)	
		a	%	a	%	a	%	a	%
<b>Vankomisin ve Teikoplanin</b>	<b>Duyarlı</b>	64	95,5	99	98	63	98,7	226	94,6
	<b>Dirençli</b>	3	4,5	2	2	8	11,3	13	5,4

## İdrar Kültürlerinden İzole Edilen *Escherichia coli* Kökenlerinin Antimikrobiyal Duyarlılıklarının Araştırılması

Oya Akkaya, Hülya İren Güvenç, Şerife Yüksekaya, Ayşegül Opuş, Asuman Güzelant, Meral Kaya, Muhammet Güzel Kurtoğlu

Konya Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Konya

**Amaç:** *Escherichia coli* (*E.coli*) üriner sistem infeksiyonlarından en sık izole edilen bakteridir. Ancak son yıllarda *E.coli* suşlarında antimikrobiyallere karşı direncin artması ve yayılması bütün dünyada önemli bir sorun haline gelmiştir. Genişlemiş spektrumlu beta-laktamaz (GSBL) üretimi, *E.coli*'nin de içinde bulunduğu *Enterobacteriaceae* üyelerinin geliştirdiği en önemli direnç mekanizmalarından biridir. İdrar örneklerinden izole edilen *E.coli* suşlarının GSBL üretimini araştırmak, GSBL üreten ve üretmeyen suşlar arasındaki antimikrobiyal direnç profillerini karşılaştırmak amaçlanmıştır.

**Yöntem:** Bu çalışmada 2011-2013 tarihleri arasında, laboratuvarımıza gönderilen idrar örnekleri değerlendirilmiştir. Örnekler %5 kanlı agara ve Eosin Metilen Blue agara ekilmiştir. Üreyen bakterilerin tanımlanması ve antimikrobiyal duyarlılıkları konvansiyonel yöntemlerin yanı sıra VITEK 2 (bioMerieux - France) otomatize sistem panelleri ile yapılmıştır.

**Bulgular:** İzole edilen 6500 suşun 1300'ünün (%20) GSBL pozitif, 5200'ünün (%80) GSBL negatif olduğu saptandı. GSBL negatif suşlarda duyarlılık oranları imipenem (%100), fosfomisin (%98), Sefoperazon-sulbaktam (%95), seftazidim (%93), seftriakson (%92) nitrofurantoin (%89), amikasin (%96), gentamisin (%91), siprofloksasin (%85), amoksisilin-klavulanik asit (%79) ve trimetoprim-sulfametoksazol (%65) olarak bulunurken GSBL pozitif suşlarda ise; imipenem (%100), fosfomisin (%94), nitrofurantoin (%87), amikasin (%78), gentamisin (%57), siprofloksasin (%50), trimetoprim-sulfametoksazol (%38) ve amoksisilin-klavulanik asit (%22) olarak saptandı.

**Sonuç:** Çalışmamızda ampirik tedavide sık kullanılan trimetoprim-sulfametoksazol ve amoksisilin-klavulanik asit gibi antibiyotiklerin GSBL üreten *E.coli* tedavisinde duyarlılık oranlarının düşük olduğu görülmüştür. Sonuç olarak GSBL üreten ve üretmeyen suşlarda imipenem ve fosfomisin en duyarlı antimikrobiyal ajanlar olarak saptanmıştır.

**Anahtar Kelimeler:** *E.coli*, antimikrobiyal duyarlılık

## Çevresel Kaynaklı suşlarda Antibiyotik Direnç Genlerinin ve Biyofilm Oluşturma Potansiyellerinin Araştırılması

Elif Karaaslan<sup>1</sup>, Sibel Döşler<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Bezmi Alem Üniversitesi Tıp Fakültesi, İstanbul

<sup>2</sup>İstanbul Üniversitesi Eczacılık Fakültesi, İstanbul

**Amaç:** Artan nüfus nedeniyle antibiyotiğe maruz kalan mikroorganizma sayısındaki artış, irasyonel antibiyotik kullanımı gibi nedenlerle direnç sorunu artmaktadır. Mevcut veriler hastane kaynaklı enfeksiyonlardaki durumun ciddiyetini göstermekte olup toplum kaynaklılarda da durum iç açıcı görünmemektedir. Çalışmamızda umumi ve hastane tuvaletlerinden alınan örneklerdeki bakterilerin tanımlanması, antibiyotik dirençlerinin, dirence neden olan genlerin ve biyofilm oluşturma özelliklerinin belirlenmesi amaçlanmıştır.

**Yöntem:** Swab yöntemiyle alınan örneklerden izole edilen bakterilere karşı çeşitli antibiyotiklerin minimum inhibitör konsantrasyonları mikrodilüsyon yöntemine göre belirlenmiş, bakterilerin DNA izolasyonları yapılmış, PCR ve agaroz jel elektroforez yöntemleriyle direnç genleri belirlenmiştir. Dirençli suşların biyofilm oluşturma kapasiteleri ise kristal viyole ile boyama yöntemiyle araştırılmıştır.

**Bulgular:** Umumi tuvaletlerde en sık *S. aureus* ve *E. coli*., hastane tuvaletlerinde ise *M. morgani* ve *S. aureus* bulunduğu görülmüştür. Umumi tuvaletlerde mecA/ermA (+) Gram pozitif koka rastlanmazken ermC (+)'liğinin %75, Enterobacteriaceae ailesine ait suşlarda blaSHV ve blaCTX-M-1 (+)'liği %100, blaTEM ise %75 olduğu; hastane tuvaletlerindeki suşların %88.9 mecA, %11.1 ermA %33 ermC (+) oldukları, Enterobacteriaceae ailesine ait suşlarda blaSHV ve blaCTX-M-1 (+)'liği %100 iken, blaTEM geninin ise %33 (+) olduğu belirlenmiştir. Biyofilm oluşturabilme özellikleri incelendiğinde özellikle *S. aureus* ve *P. aeruginosa* suşlarının yüksek oranda ve kuvvetli biyofilm oluşturduğu görülmüştür.

**Sonuç:** Çağın sorunu haline gelen ve gün geçtikçe şiddeti ve ciddiyeti artan direnç probleminin yayılmasında hastaneler kadar çevre kaynaklı suşların da önemli olduğu ve bunun önüne geçilebilmek için başta bilinçsiz antimikrobiyal madde kullanımından kaçınılması olmak üzere gerekli önlemlerin alınması gerekmektedir.

**Anahtar Kelimeler:** çevre, direnç geni, biyofilm

## Çeşitli Klinik Örneklerden İzole Edilen *Proteus mirabilis* Suşlarının Antimikrobiyal Ajanlara Duyarlılıkları

Ayşegül Opuş, Şerife Yükekaya, Oya Akkaya, Hülya İren Güvenç, Meral Kaya, Asuman Güzelant  
Konya Eğitim ve Araştırma Hastanesi Tıbbi Mikrobiyoloji Laboratuvarı, Konya

**Amaç:** *Proteus* cinsi bakterilerde dirençli kökenlerin sayısı uygun olmayan antimikrobiyal ilaçların kullanımı nedeniyle giderek artmaktadır. Bu çalışmada 2008-2013 yıllarında Konya Eğitim Araştırma Hastanesi Mikrobiyoloji Laboratuvarına gelen çeşitli klinik örneklerden izole edilen *Proteus mirabilis* suşlarının klinik örneklere göre dağılımları ve antimikrobiyal ajanlara direnç durumlarının araştırılması amaçlanmıştır.

**Yöntem:** Çeşitli kliniklerden 2008-2013 tarihleri arasında gönderilen 747 örnekten izole edilen *P. mirabilis* suşları çalışmaya alınmıştır. Gönderilen örnekler %5'lik koyun kanlı Colombia agar, Eosin Metilen Blue agar besiyerlerine ekilmiş ve 37°C'de inkübe edilmiştir. Kan, beyin-omurilik sıvısı (BOS) gibi steril vücut örnekleri ise Bactec 9120 (Becton Dickinson, USA) kan kültür sistemine ait şişelere alınarak 10 gün süreyle inkübe edilmiştir. İzole edilen bakteriler öncelikle konvansiyonel yöntemlerle değerlendirilmiş, daha sonra kesin identifikasyonu ve antimikrobiyal duyarlılıklarının saptanması amacıyla Phoenix 100 (Becton Dickinson, USA) otomatize identifikasyon cihazına ait panellerle alınmıştır.

**Bulgular:** Suşların izole edildiği örneklerin başında idrar örnekleri (%80,1) ve yara yeri örneklerinin (%15,7) geldiği görülmüştür. İzolatların %45,9'u poliklinik hastalarından, %32,5'i dahili servislerden, %11,2'si cerrahi servislerden, %10,4'ü yoğun bakımlardan gelen örneklerden izole edilmiştir. Tüm yıllar göz önüne alındığında duyarlılık oranının en fazla olduğu antimikrobiyal ilaçların karbapenemler, en düşük olduğu antimikrobiyal ilaçların ise kotrimoksazol, gentamisin ve levofloksasin olduğu sonucuna ulaşılmıştır. Amikasin duyarlılığının yıllara göre arttığı, kotrimoksazol duyarlılığının ise yıllara göre azaldığı tespit edilmiştir. Duyarlılık oranları tablo-1'de verilmiştir.

**Sonuç:** Bu bakteri grubuna ait bölgemizdeki direnç oranlarını gösteren çok fazla çalışma yoktur. Çalışmada elde edilen verilerin sonraki çalışmalara yol gösterici olacağı kanaatine varılmıştır.

**Anahtar Kelimeler:** Antimikrobiyal Ajanlara Duyarlılık, *Proteus mirabilis*

**Tablo 1.** *Proteus mirabilis* suşlarının antimikrobiyal ajanlara duyarlılık oranları (%)

Antimikrobiyaller	2008	2009	2010	2011	2012	2013
Amikasin	89,3	94,9	96	98,3	97,3	100
Amoksisilin-klavulanat	80	82,4	82,7	82,1	72,5	89,6
Sefepim	89,3	93,9	92,5	99,5	99	98,7
Sefuroksim	85,7	88,3	88,7	78,6	83,7	80,2
Sefotaksim	85,7	90	96,1	89,4	100	91,8
Siprofloksasin	87,1	78,3	77,1	77,5	70,9	78,7
Levofloksasin	85,7	86,7	88,4	85,1	73,3	70,6
Gentamisin	71,4	75,5	79,4	86,1	73,6	78
Kotrimoksazol	53,6	50,9	42,8	40,3	46,4	44
İmipenem	100	98,7	97,7	98,5	98,9	99
Meropenem	100	100	100	99	100	100

## Bazı Antibiyotiklerin Hemodiyaliz Hastalarının Polimorf Nüveli Lökosit Fonksiyonları ve Oksidatif Stres Üzerine Etkilerinin İn Vitro Araştırılması

Refiye Garip<sup>1</sup>, Ümran Soyoğul Güner<sup>1</sup>, Burçak Gürbüz<sup>1</sup>, Esra Dalkılıç<sup>1</sup>, Şükrü Palandüz<sup>2</sup>, Fatma Nilgün Aysuna<sup>3</sup>, Azize Yaman Şener<sup>4</sup>

<sup>1</sup>Marmara Üniversitesi Eczacılık Fakültesi, Farmasötik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, İstanbul

<sup>2</sup>İstanbul Üniversitesi Tıp Fakültesi, İç Hastalıkları Anabilim Dalı, Tıbbi Genetik Bilim Dalı, İstanbul

<sup>3</sup>İstanbul Üniversitesi Tıp Fakültesi, İç Hastalıkları Anabilim Dalı, Nefroloji Bilim Dalı, İstanbul

<sup>4</sup>Marmara Üniversitesi Eczacılık Fakültesi, Biyokimya Anabilim Dalı, İstanbul

Kronik böbrek yetmezliği (KBY), oksidatif stres ile seyreden klinik tablolardan biridir. Son dönem KBY hastalarının tedavi seçeneklerinden olan hemodiyalizin (HD) oksidatif stresi artırdığı bilinmektedir. Bu hastalarda infeksiyonların tedavisinde kullanılan antimikrobik ilaçlar ile hastanın immün sistemi arasındaki ilişki çok önemlidir. Çalışmamızda, terapötik konsantrasyonlarda vankomisin (40 µg/ml), daptomisin (60 µg/ml), linezolid (19 µg/ml), levofloksasin (7 µg/ml), fusidik asit (36 µg/ml) ve meropenemin (24 µg/ml) HD hastalarının HD öncesi ve HD sonrası polimorf nüveli lökosit (PNL) fonksiyonları (fagositik aktivite ve hücre içi öldürme aktivitesi) ile malondialdehit (MDA) düzeyleri in vitro araştırılmıştır. PNL'ler ficoll-hypaque gradient santrifüj yöntemi ile izole edilmiş, fagositik aktivite ve hücre içi öldürme aktivitesi tayini Alexander'ın yöntemi modifiye edilerek yapılmıştır. Oksidatif stresin göstergesi olarak MDA düzeyi Beuge'nin yöntemi ile tayin edilmiştir. HD hastalarının HD sonrası PNL'lerinin fagositik aktivitesinin HD öncesine göre azaldığı ( $p<0.05$ ), hücre içi öldürme aktivitesinin ise değişmediği saptanmıştır ( $p>0.05$ ). Terapötik konsantrasyonlarda vankomisin, daptomisin, linezolid, levofloksasin, fusidik asit ve meropenemin HD hastalarının HD öncesi ve HD sonrası PNL'lerinin her iki fonksiyonunu etkilemediği bulunmuştur ( $p>0.05$ ). Terapötik konsantrasyonlarda vankomisin, levofloksasin, fusidik asit ve meropenemin HD hastalarının HD öncesi PNL'lerinin MDA düzeyini artırdığı, HD sonrası ise MDA düzeyini azalttığı saptanmıştır ( $p<0.05$ ). Daptomisin ve linezolidin ise HD hastalarının HD öncesi ve HD sonrası PNL'lerinin MDA düzeyini değiştirmedeği görülmüştür ( $p>0.05$ ). Sonuç olarak; KBY'deki HD olgularında, vankomisin, daptomisin, linezolid, levofloksasin, fusidik asit ve meropenemin HD hastalarının bakteriyel infeksiyonlarının tedavisinde yararlı olacağı kanısındayız.

**Anahtar Kelimeler:** Fagositoz, oksidatif stres



## Çocuk Hastanesinde Kan Kültürlerinden Soyutlanan Gram Negatif Nonfermentatif Bakteriler ve Direnç

**Gamze Gülfidan<sup>1</sup>, Yüce Ayhan<sup>1</sup>, İlker Devrim<sup>2</sup>, Yelda Sorguç<sup>1</sup>, Kenan Sipahi<sup>1</sup>, Şener Tulumoğlu<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>Dr Behçet Uz Çocuk Hastanesi, Mikrobiyoloji Laboratuvarı, İzmir

<sup>2</sup>Dr Behçet Uz Çocuk Hastanesi, Enfeksiyon Kliniği, İzmir

**Amaç:** Bu çalışmada Dr.Behçet Uz Çocuk Hastalıkları ve Cerrahisi Eğitim Araştırma Hastanesi'nde 01 Ocak-31 Aralık 2013 döneminde kan kültürlerinden etken olarak soyutlanan nonfermentatif gram negatif bakterilerin dağılımı ve antimikrobiyal direnç özellikleri sunulmuştur.

**Yöntem:** Kan örnekleri Bact/Alert otomatize kan kültür sistemi şişelerine (BioMerieux, Fransa) ekildi. Üreme sinyali verenlerden gram boyama sonrası kanlı ve EMB agar plak besiyerlerine pasaj yapılarak üreyen mikroorganizmalar otomatize bakteri identifikasyon sisteminde (Vitek2, BioMerieux, Fransa) tanımlandı. CDC kriterleri uyarınca enfeksiyon olarak kabul edilen olgulardan soyutlanan nonfermentatif bakterilerin antimikrobik duyarlılık testleri otomatize sistem (Vitek2, BioMerieux, Fransa) ile yapıldı.

**Bulgular:** Soyutlanan 40 nonfermantatif bakterinin 13'ü *Acinetobacter baumannii*, 2'si *Acinetobacter lwolffi* olarak tanımlandı. *A.baumannii* suşlarının 7'si, *A.lwolffi* suşlarının 1'i enfeksiyon etkeniyken 7'si kontaminasyon olarak değerlendirildi. 8 *Pseudomonas aeruginosa*, 1 *Pseudomonas stutzeri* izolatından 5'i enfeksiyon etkeni olarak tanımlandı. 11 *Burkholderia cepacia* suşunun 6'sı; 5 *Stenotrophomonas maltophilia* suşunun 4'ü etken patojendi.

Enfeksiyon etkeni olan 6 *Pseudomonas* kökeninden 4'ü amikasinine duyarlı, 3'ü imipeneme duyarlı, 3'ü piperasilin tazobaktama duyarlı, 5'i hem piperasilin tazobaktam hem sefaperazon sulbaktama duyarlıydı. 4 *Stenotrophomonas maltophilia* izolatının 1'i trimetoprim sulfametaksazole dirençli, tüm suşlar seftazidim ve levofloksasine duyarlıydı.

6 *Burkholderia* kökeninin tümü trimetoprim sulfametaksazole, meropeneme ve seftazidime duyarlıydı.

**Sonuç:** Çoklu ilaç direnci gösteren enterik basiller ve nonfermentatif gram negatifler özellikle hastane enfeksiyonları açısından önem taşımaktadırlar. Bu mikroorganizmaların tanımlanarak antimikrobiyal direnç oranlarının takibi hastane enfeksiyonlarının kontrolünde geliştirilecek politikalara yön veren temel araçlardandır

**Anahtar Kelimeler:** bakteremi, direnç, nonfermantatif

## Bir Çocuk Hastanesinde Yoğun Bakım Ünitesinde Görülen Ventilatör İlişkili Pnömonilerde Etkenler

**Yüce Ayhan<sup>1</sup>, Nevbahar Yaşar<sup>3</sup>, Yeliz Oruç<sup>3</sup>, Gamze Gülfidan<sup>1</sup>, İlker Devrim<sup>2</sup>, Yelda Sorguç<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>Dr Behçet Uz Çocuk Hastanesi, Mikrobiyoloji Laboratuvarı, İzmir

<sup>2</sup>Dr.Behçet Uz Çocuk Hastanesi, Çocuk Enfeksiyon Hastalıkları Kliniği, İzmir

<sup>3</sup>Dr.Behçet Uz Çocuk Hastanesi, Enfeksiyon Kontrol Hemşireliği, İzmir

Mekanik ventilasyona bağlı hastalar ağır komplikasyonlar ve mortalite açısından yüksek risk altındadır. Ventilatör ilişkili pnömoni (VİP) en sık görülen komplikasyonlardan olup erken tanı ve uygun antibiyotik tedavisi mortaliteyi azaltmaktadır.

Bu çalışmada 1 Ocak-31 Aralık 2013 döneminde Dr Behçet Uz Çocuk Hastalıkları ve Cerrahisi Eğitim Araştırma Hastanesi yoğun bakım ünitelerinde izlenen VİP tanısı almış olguların etiyojisi incelenmiştir. VİP tanıları Ulusal Hastane Enfeksiyonları Sürveyans Rehberi'nde yer alan tanı kriterlerine göre konulmuştur. Tanıda klinik ve radyolojik bulguların yanı sıra non bronkoskopik bronkoalveolar lavaj (NB-BAL) örneğinin mikrobiyolojik incelenmesinden yararlanılmıştır. NB-BAL yöntemiyle alınan örneklerde  $\geq 10000$  cfu/ml üreme eşik değeri, epitel hücresi varlığı ve lökosit sayısı göz önünde bulundurulmuştur.

7319 ventilatör gününde toplam 46 olguda VİP tespit edilmiştir. VİP tanısı almış olguların 27 sinde etken belirlenemezken, 19 (%41) olguda etken mikroorganizma soyutlanmıştır. Bu etkenlerin, 18'i bronko alveolar lavaj sıvısından, 1'i kandan izole edilmiştir. NB-BAL yöntemiyle alınan örneklerin kültürlerinde üreyen *Acinetobacter baumannii* (n=6), *Pseudomonas aeruginosa* (n=3), *Stenotrophomonas maltophilia* (n=3), *Klebsiella spp.* (n=3), *Candida parapsilosis* (n=1), *Candida albicans* (n=1) türleri dışında 1 olguda da multipleks PCR ile BAL sıvısından saptanan RSV etkeni olarak değerlendirilmiştir. VİP tanılı 1 olguda kan kültüründe üreyen streptokok türü etkindir.

*Klebsiella* kökenlerinin tümü ESBL pozitifdir. Soyutlanan 3 *Klebsiella* türünün 1'inde, *Acinetobacter baumannii* suşlarının tümünde, 3 *Pseudomonas aeruginosa* suşunun 1'inde karbapenem dirençlidir. *Acinetobacter* kökenlerinde kolistin direnci gözlenmemiştir.

Çocuk hastalarda VİP tanısında klinik tanı kriterlerinin yanında non bronkoskopik bronkoalveolar lavaj sıvısının incelenmesi ve erken mikroorganizma tespiti uygun antibiyotik kullanımı konusunda yol gösterici olacaktır.

**Anahtar Kelimeler:** çocuk, BAL, VİP

## Yoğun Bakım Ünitelerinden İzole Edilen *Pseudomonas* ve *Acinetobacter* Cinsi Bakterilerin Antimikrobiyal Direnç Durumu

**Burçin Özer, Melek İnci, Nizami Duran, Şeyda Özarslan Kurtgöz, Gülcan Eraslan Alagöz, Özgür Paşa, Çetin Kılınç**

*Mustafa Kemal Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Ana Bilim Dalı, Hatay*

**Amaç:** Yoğun bakım ünitelerinde (YBÜ) yatan hastalardan izole edilen *Pseudomonas* ve *Acinetobacter* cinsi bakteriler ile yoğun bakım dışı kliniklerdeki hastalardan izole edilen aynı cins bakterilerin antimikrobiyallere karşı direnç durumlarının karşılaştırılması amaçlandı.

**Yöntem:** 1 Ocak 2008 ile 31 Aralık 2012 tarihleri arasında Mikrobiyoloji Laboratuvarına gönderilen örneklerden üreyen *Acinetobacter* ve *Pseudomonas* cinsi bakterilerin antimikrobiyal duyarlılıkları retrospektif olarak incelendi. Seftazidim, siprofloksasin, gentamisin ve imipenemden en az üçüne direnç çoğul ilaç direnci (ÇİD) olarak tanımlandı.

**Bulgular:** Örneklerden 772 adet *Pseudomonas*, 971 adet *Acinetobacter* izole edildiği saptandı. *Pseudomonas*'lar en sık yara (%37.9), *Acinetobacter*'ler ise en sık balgam örneklerinden (%23.4) elde edilmişti. *Pseudomonas*'ların %23.1'i, *Acinetobacter*'lerin %49.3'ü YBÜ'de yatan hastaların örneklerinden elde edildi. YBÜ'den izole edilen *Pseudomonas*'ların en fazla oranda dirençli oldukları antibiyotikler; piperasilin tazobaktam (%16), seftazidim (%13), sefepim (%13), *Acinetobacter*'lerin ise seftriakson (52%), seftazidim (50%), levofloksasin (49%) idi.

*Acinetobacter*'lerin %35.3'ünde, *Pseudomonas*'ların ise %11.9'unda ÇİD saptandı. ÇİD saptanan *Pseudomonas* ve *Acinetobacter* cinsi 720 bakterinin %62.8'inin, ÇİD olmayan 1023 bakterinin %20'sinin YBÜ'de yatan hastalardan izole edildiği belirlendi.

**Sonuç:** YBÜ'deki hastalardan alınan örneklerden *Acinetobacter*'lerin *Pseudomonas*'lara göre daha fazla izole edildiği, YBÜ'den izole edilen *Acinetobacter*'lerde direnç oranlarının ve çoğul ilaca direncin *Pseudomonas*'lara göre daha fazla olduğu bulundu. Antibiyotik direnci YBÜ'den izole edilen *Acinetobacter* kökenlerinde diğer kliniklere göre daha fazla iken, *Pseudomonas* kökenlerinde daha azdı.

**Anahtar Kelimeler:** *Acinetobacter*, *Pseudomonas*, Yoğun Bakım Ünitesi

---

## ***Acinetobacter baumannii* İzolatlarında Kolistin ve Tigesiklin Duyarlılığı, Sakarya**

---

**Tayfur Demiray, Mehmet Köroğlu, Engin Karakeçe, İhsan Hakkı Çiftci, Ahmet Özbek, Mustafa Altındış**

*Sakarya Üniversitesi Sakarya Eğitim Araştırma Hastanesi Tıbbi Mikrobiyoloji Laboratuvarı, Sakarya*

Çoklu ilaca dirençli *Acinetobacter baumannii* suşlarında kolistin ve tigesiklin sınırlı ve tek tedavi seçeneğidir. Bu çalışmada hastanemizde çeşitli klinik örneklerden izole edilen *A.baumannii* suşlarında bu iki antibiyotiğe karşı duyarlılık profilleri araştırılmıştır.

Sakarya Üniversitesi Eğitim ve Araştırma Hastanesi Klinik Mikrobiyoloji Laboratuvarına Ocak'2011 ile Aralık'2013 tarihleri arasındaki 3 yıllık periyotta çeşitli kliniklerden gönderilen yatan hastalara ait materyallerden izole edilen 316 *A.baumannii* izolatı bu çalışmada değerlendirilmiştir. Tanımlama ve antibiyotik duyarlılık testleri Vitek 2 otomatize sistemi (Vitek2<sup>®</sup>, Biomerieux, Fransa) ile yapılmıştır.

Üç yıllık periyotta izole edilen *A.baumannii* suşlarının örneklerle göre dağılımı; trakeal aspirat (164, %51,8), kan (53, %16,8), idrar (50, %15,8), yara (31, %9,8), kateter (12, %3,8) ve steril vücut sıvıları (6, %1,9) olarak belirlenmiştir. Kolistin duyarlılığı %98,1 (n=310) olarak saptanırken, tigesiklin duyarlılığı %91,8 (n=297) olarak saptandı.

Son yıllarda çoklu ilaca dirençli *A.baumannii* suşlarında az da olsa kolistin direnci görülmeye başlamıştır. Önemli bir uyarı niteliğindeki bu bulgu antibiyotiklerin akılcı ve kontrollü kullanımının gerekliliğini kaçınılmaz kılmaktadır.

**Anahtar Kelimeler:** *Acinetobacter baumannii*, Kolistin, Tigesiklin

## Klinik Materyallerden İzole Edilen Candida İzolatlarının Antifungal Duyarlılıkları

Özlem Akkaya Aydemir, Tayfur Demiralay, Mehmet Köroğlu, Huseyin Agah Terzi, Ahmet Özbek, Mustafa Altındış

Sakarya Üniversitesi Sakarya Eğitim Araştırma Hastanesi Tıbbi Mikrobiyoloji Laboratuvarı, Sakarya

Nozokomiyal mantar enfeksiyonlarının en sık etkeni *Candida albicans* olmakla birlikte *C. albicans* dışı türlerin sıklığının giderek arttığını bildiren çalışmalar mevcuttur. Bu çalışmada çeşitli klinik örneklerden izole edilmiş Candidaların tür düzeyinde tanımlanması ve antifungal duyarlılıklarının otomatize sistem ile saptanması amaçlanmıştır.

Sakarya Üniversitesi Eğitim ve Araştırma Hastanesi Klinik Mikrobiyoloji Laboratuvarına Ocak 2013 ile Aralık 2013 tarihleri arasındaki bir yıllık periyotta çeşitli kliniklerden gönderilen yatan hastalara ait materyallerden izole edilen 22 *Candida spp.* izolatı bu çalışmada değerlendirmeye alınmış, tanımlama ve antifungal duyarlılık testleri Vitek2 otomatize sistemi (Vitek2Ö, Biomerieux) ile yapılmıştır.

Toplam 22 adet *Candida spp.* izolatının örneklere göre dağılımı; kan (n:13), yara (n:5), vajen (n:2), idrar (n:1) ve kateter (n:1) şeklinde olup en sık izole edilen candida türleri *C. albicans* (%50) ve *C. parapsilosis*'dir (%31,8). İzolatların tümü amfoterasin B ve vorikonazole duyarlı iken, *C. kefyr flusitozine* ve *C. lipolytica* flukonazole direnç göstermiştir.

Bu çalışmada fungal enfeksiyonların kontrolü için tür tayini ve antifungal duyarlılık test sonuçlarının bilinmesi önemli olduğu antifungal ajanlara karşı gittikçe artan direnç oranları nedeniyle tedavi planlamasında duyarlılık testlerinin giderek daha önem kazandığı sonucuna varılmıştır.

**Anahtar Kelimeler:** Candida türleri, antifungal duyarlılık

## Nadir Karşılaşılan bir Enfeksiyon Etkeni; *Sphingomonas paucimobilis*

**Tayfur Demiray, Mehmet Köroğlu, Ahmet Özbek, Engin Karakeçe, Mustafa Altındiş**  
*Sakarya Üniversitesi Sakarya Eğitim Araştırma Hastanesi Tıbbi Mikrobiyoloji Laboratuvarı, Sakarya*

*Sphingomonas paucimobilis*, doğada ve hastane ortamında yaygın olarak bulunabilen, aerobik, gram negatif, nonfermentatif özellikte olup, çok farklı hasta örneklerinden nadir enfeksiyon etkeni olarak izole edilebilen bir bakteridir. Düşük virulansa sahip olsa da septik şok gibi hayatı tehdit eden ağır klinik tablolara yol açabilmektedir. Bu çalışmada Sakarya Üniversitesi Eğitim Araştırma Hastanesi Mikrobiyoloji Laboratuvarına Ocak 2011-Şubat 2014 tarihleri arasında gönderilen yatan hasta örneklerinden izole edilen *S.paucimobilis* suşlarının örneklerle göre dağılımı ve antibiyotik duyarlılıklarını değerlendirmeyi amaçlanmıştır.

Tanımlanması ve antibiyotik duyarlılıkları geleneksel mikrobiyolojik yöntemler ve Vitek<sup>2</sup> (BioMerieux, France) ile yapılan 38 bakterinin izole edildiği örneklerle göre dağılımı; 10 yara, 9 kan, 7 idrar, 8 trakeal aspirat ve 4 balgam örneği şeklindedir. En etkili antibiyotikler tigesiklin(%79), Netilmisin(%72) ve Karbapenemler (%52.6) iken en dirençli olanlar ise Amoksisilin-Klavulonat(79.0), Seftazidim(%76.3) ve Piperasilin(%73.6) olarak belirlenmiştir.

Bu çalışma, *S. paucimobilis* enfeksiyonların örnek dağılımları ve antibiyotik duyarlılıklarını vurgulama açısından ülkemizdeki erişebildiğimiz en geniş seridir. Özellikle bağışıklık sisteminin baskılandığı durumlarda çok daha ciddi tablolara yol açabileceği unutulmamalı, hastane enfeksiyon etkeni olarak her zaman için akla getirilmeli ve enfeksiyonları antibiyotik duyarlılık test sonuçlarına göre tedavi edilmelidir.

**Anahtar Kelimeler:** *Sphingomonas paucimobilis*, Sakarya

## Periton Mayi Kùltürlerinde Üreyen Mikroorganizmalar ve Antibiyotik Duyarlılıkları

**Tayfur Demiray, Ahmet Özbek, Mehmet Köroğlu, Engin Karakeçe, İhsan Hakkı Çiftci, Mustafa Altındış**

*Sakarya Üniversitesi Sakarya Eğitim Araştırma Hastanesi Tıbbi Mikrobiyoloji Laboratuvarı, Sakarya*

Peritonit, periton diyalizinin(PD) en önemli komplikasyonlarından biri olup bunun dışında cerrahi nedenler ve girişimlerle (kolonoskopi vs) de gelişebilir. PD hastalarında enfeksiyon-ilişkili mortalitenin yaklaşık %18 peritonit sonucudur. Spontan bakteriyel peritonit te atlanmaması gereken bir olgudur. Spontan bakteriyel peritonit, cerrahi olarak tedavi edilebilecek herhangi bir intraabdominal enfeksiyon kaynağı olmaksızın, asit sıvısında polimorfonükleer lökosit sayısının  $>250/mm^3$  olması ve asit sıvısının pozitif bakteri kùltürüyle karakterizedir.

Bu çalışmada, Sakarya Üniversitesi Sakarya Eğitim ve Araştırma Hastanesi Mikrobiyoloji laboratuvarına Ocak'2012-Aralık'2013 tarihleri arasında gönderilen 60 periton mayi örneğinin(%45'i kadın, %55'i erkek hastadan) kùltür ve antibiyogram sonuçları değerlendirilmiştir.

Örnekler, nefroloji (%20), gastroenteroloji (%20), dahiliye (%11,7), Kadın Doğum kliniği(%10), Tıbbi Onkoloji kliniği (%8,3), Genel Cerrahi kliniği (%6,6), Enfeksiyon Hastalıkları (%6,6), Acil Servis (%6,6), cerrahi yoğun bakım (%3,4), dahili yoğun bakım (%3,4), çocuk cerrahi kliniği (%1,7) ve kardiyoloji kliniğinden gelmiş olup(%1,7) sadece 5'inde üreme saptanabilmiştir. İzole edilen bakteriler; iki örnekte *Pseudomonas aeruginosa*, birer örnekte *Enterobacter aerogenes*, *Klebsiella pneumoniae* ve *Acinetobacter lwoffii* şeklindedir. Suşların tamamı karbapenemlere duyarlı olup ESBL negatif bulunmuştur.

Çalışmada peritonit olgularına dikkat çekilmesi amaçlanmış olup tüberküloz peritonit ve anaerobik etkenlerin neden olabileceği enfeksiyonların da unutulmaması gerektiği vurgulanmıştır.

**Anahtar Kelimeler:** Peritonit, Periton diyalizi, Spontan bakteriyel peritonit

## ***Mycobacterium tuberculosis* Kompleksi İzolatlarının Primer Antitüberküloz İlaçlara Direnç Oranları: İki Yıllık Değerlendirme**

**Devrim Dündar, Gülden Sönmez Tamer, Sema Keçeli**

*Kocaeli Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Kocaeli*

**Amaç:** Önemli bir halk sağlığı sorunu olan tüberkülozda bölgesel direnç oranlarının bilinmesi tedavide yol gösterici olmaktadır. Bu çalışmada son iki yılda laboratuvarımızda klinik örneklerden izole edilen *Mycobacterium tuberculosis* kompleksi izolatlarının primer antitüberküloz ilaçlara duyarlılıklarının değerlendirilmesi amaçlanmıştır.

**Yöntemler:** Laboratuvarımıza 2012 ve 2013 yıllarında mikobakteri kültürü için gönderilen örneklerin üreme oranları ve üreyen *M. tuberculosis* suşlarının primer antitüberküloz ilaçlara duyarlılıkları retrospektif olarak incelenmiştir. Tüberküloz kültürü ve duyarlılık testleri için Mycolor TK (Salubris, Türkiye) otomatize sistemi kullanılmış, aynı zamanda Löwenstein Jensen besiyerine de ekim yapılmıştır. Yayma preparatları florasan boya (auramin O) ve Ehrlich-Ziehl-Neelsen boyası ile incelenmiştir.

**Bulgular:** Mikobakteri kültürü için 2012 yılında gönderilen 1707 örneğin 79' unda (%5), 2013 yılında gönderilen 1726 örneğin 82' sinde (%5) *M. tuberculosis* kompleksi izole edilmiştir.

Çift örnekler ayıklandıktan sonra 2012 yılında 64, 2013 yılında 52 antibiyogram değerlendirilmiş; 2012 yılında 51 (%78), 2013 yılında 42 (%81) izolat tüm primer ilaçlara duyarlı bulunmuştur. 2012 yılında bir adet (%2) çoklu ilaç dirençli izolat saptanmıştır.

Izoniazid tekli direnç 2012 yılında beş, 2013 yılında üç; rifampisin tekli direnç 2012 yılında dört; streptomisin tekli direnç 2012 yılında üç; rifampisin + etambutol direnci 2013 yılında iki hastada gözlenmiştir.

**Sonuçlar:** Laboratuvarımızda iki yıl içerisinde *M.tuberculosis* kompleks üreme oranlarında ve duyarlılık sonuçlarında belirgin bir değişikliğin olmadığı görülmüştür. Tüberkülozda direnç paternlerinin izlenmesi, uygulanacak tedavi protokollerinin belirlenmesinde ve uzun vadede direnç gelişiminin önlenmesinde yararlı olacaktır.

**Anahtar Kelimeler:** Direnç, *Mycobacterium tuberculosis*



---

## ***Pseudomonas oryzihabitans*'ın Etken Olduğu Bir Tromboflebit Kaynaklı Bakteriyemi Olgusu**

---

**Nevriye Gönüllü<sup>1</sup>, Mahmut Öncül<sup>2</sup>, Esmâ Akkoyun Bilgi<sup>1</sup>, Nilşen Güney<sup>1</sup>, Fatma Köksal Çakırlar<sup>1</sup>, Nuri Kiraz<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>*İstanbul Üniversitesi Cerrahpaşa Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, İstanbul*

<sup>2</sup>*İstanbul Üniversitesi Cerrahpaşa Tıp Fakültesi, Kadın Hastalıkları ve Doğum Anabilim Dalı, İstanbul*

*Pseudomonas oryzihabitans* (Flavimonas oryzihabitans) klinik örneklerden nadir izole edilen bir *Pseudomonas* türüdür. Literatürde bildirilmiş vakaların çoğu kanser gibi altta yatan hastalıklar ya da kateter uygulamaları ile ilişkilendirilmiştir. Bu bildiride kateter uygulaması sonrasında gelişen tromboflebit kaynaklı bir bakteriyemi olgusu sunulmuştur. 21 yaşında 33 haftalık gebe erken doğum tehdidi ile Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Kadın Hastalıkları ve Doğum Anabilim Dalının servisinde yatırılmıştır. Alınan iki kan kültüründe Phoenix otomatize sistemi ile *Pseudomonas oryzihabitans* olarak tanımlanmıştır. Meropenem ve ardından seftazidim tedavisi ile iyileşme sağlanmıştır.

**Anahtar Kelimeler:** *Pseudomonas oryzihabitans*, tromboflebit, bakteriyemi

## Bakteriyemi Etkeni Olan *S. aureus* suşlarının Antimikrobiyal Direnç Paternleri

Gülsüm Biten Güven<sup>1</sup>, Ayşe Dede<sup>2</sup>, Asiye Altınöz Aytar<sup>1</sup>, Elif Kaş<sup>1</sup>, **Emel Çalışkan<sup>1</sup>**, Tümer Güven<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Keçiören Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Mikrobiyoloji Laboratuvarı, Ankara

<sup>2</sup>Baldan Göğüs Hastalıkları Hastanesi, Mikrobiyoloji Laboratuvarı, Denizli

<sup>3</sup>Yıldırım Beyazıt Üniversitesi Tıp Fakültesi, Enfeksiyon Hastalıkları ve Klinik Mikrobiyoloji Kliniği, Ankara

**Amaç:** Bu çalışmada Keçiören Eğitim ve Araştırma Hastanesi Mikrobiyoloji Laboratuvarı'na gönderilen kan kültürlerinden izole edilen *Staphylococcus aureus* suşlarının antimikrobiyal direnç paternlerinin değerlendirilmesi ve güncel tedavi protokollerine katkı sağlaması amaçlanmıştır.

**Yöntemler:** 1 Ocak 2009- 31 Aralık 2013 tarihleri arasında çeşitli kliniklerden gönderilen kan kültürlerinden izole edilen *S. aureus* suşlarının metisilin ve diğer antimikrobiyallere direnç/duyarlılıkları retrospektif olarak araştırılmıştır. Suşların identifikasyon ve duyarlılık çalışmalarında konvansiyonel yöntemler ve VITEK 2 Compact (bioMerieux, France) otomatize sistemi kullanılmıştır. Sonuçlar Clinical Laboratory Standards Institute (CLSI) önerilerine göre değerlendirilmiştir. Kan kültürlerinden izole edilen suşlardan aynı hastaya ait tek örnek çalışmaya dahil edilmiştir. Kontaminasyon olarak değerlendirilenler çalışmaya alınmamıştır.

**Bulgular:** Bu çalışmada çeşitli kliniklerden gönderilen ve üremesi olan kan kültürlerinin 71'inde *S. aureus* izole edilmiştir. İzole edilen *S. aureus* suşlarında metisilin direnci 19 örnekte (%27) saptanmış olup, yıllara göre metisilin direnç oranları incelendiğinde; 2009'da iki (%25), 2010'da iki (%15), 2011'de dört (%28), 2012'de yedi (%33) ve 2013'te dört (%27) suş olarak tespit edilmiştir. Bu suşların çeşitli antimikrobiyallere direnç paternleri tabloda verilmiştir.

**Sonuç:** Bu veriler doğrultusunda, *S. aureus* suşlarında metisilin direncinin belirlenmesi sadece beta-laktam antibiyotiklerin değil, özellikle kinolonlar ve aminoglikozidler gibi antimikrobiyallerin kullanımı noktasında da yönlendirici olması bakımından önemli bulunmuştur. Ampirik tedaviye yol gösterici olması açısından her merkezin kendi direnç profilini saptaması ve yıllar içinde ortaya çıkan değişikliklerin takip edilmesi gerekmektedir.

**Anahtar Kelimeler:** *S. aureus*, bakteriyemi, antimikrobiyal direnç

**Tablo 1.** *S. aureus* suşlarının çeşitli antimikrobilyallere direnç oranları (%)

	<b><i>MRSA</i>*</b> <b>(n: 19)</b>	<b><i>MSSA</i>**</b> <b>(n: 52)</b>
Penisilin	100	83
Vankomisin	0	0
Teikoplanin	0	0
Linezolid	0	0
Siprofloksasin	58	4
Levofloksasin	58	2
Eritromisin	74	10
Klindamisin	53	8
Telitromisin	32	0
Trimetoprim-sülfametoksazol	16	2
Tetrasiklin	58	17
Gentamisin	63	4
Kloramfenikol	10	17

\* ***MRSA***: Metisiline Dirençli *S. aureus* \*\****MSSA***: Metisiline Duyarlı *S. aureus*

## Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi Sağlık Uygulama ve Araştırma Merkezi Mikrobiyoloji Laboratuvarı'na Gelen İdrar Örneklerinden İzole Edilen Gram Negatif Bakterilerin Antimikrobiyal Direnç Özellikleri

**Satı Zeynep Tekin, Ahmet Vural, Aslı Kiraz, Ahmet Ünver**

Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi, Tıp Fakültesi Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Çanakkale

**Amaç:** Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi Hastanesinde Ocak 2012-Haziran 2013 arası kapsayan 18 aylık dönemde Mikrobiyoloji Laboratuvarına gelen idrar örneklerinden bakteriyel kültür sonuçlarının ve bu örneklerden izole edilen mikroorganizmaların antimikrobiyal duyarlılık paternlerinin incelenmesi amaçlanmıştır.

**Materyal-Method:** Numuneler alındıktan sonra %5 koyun kanlı ve EMB agara ekilmiştir. Bakterilerin tanımlanması ve antibiyotiklere duyarlılıkları VITEK-2 Compact sistemi ile yapılmıştır. Antibiyogram sonuçları Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) kriterlerine göre değerlendirilmiştir.

**Bulgular:** Laboratuvarımıza gelen 6836 idrar örneğinin 5736 (%84) 'da üreme olmamış, 1100 (%16) örnekte üreme olmuş, bu örneklerin 700 (%64) 'ünde Gram negatif bakteriler üremiştir. Üreyen Gram negatif bakterilerin dağılımı sıklık sırasına göre *E.coli* 515 (%74), *Klebsiella spp.* 136(%19), *Proteus spp.* 15 (%2), *Citrobacter spp.* 13 (%2), *Morganella spp.* 8 (%1), *Serratia spp.* 8 (%1), *Enterobacter spp.* 6 (%1) olarak tespit edilmiştir. İzolatların antibiyotik direnç oranları genel olarak; Ampisilin %65,6, Amoksisilin/Klavulanat %14,3, Seftriakson %27, Sefoksitin %5,4, Sefuroksim %31,2, Gentamisin %21,2, Amikasin %6,8, Siprofloksasin %27,2, Kotrimoksazol %37,2, Fosfomisin %6,6, Nitrofurantoin %10,3, PiperasilinTazobaktam %6,2, Sefoperazon\_Sulbaktam %4,9 oranında direnç tespit edilmiştir.

**Sonuç:** Hastane enfeksiyon etkenleri arasında sık karşılaşılan ve antibiyotiklere yüksek oranda direnç gösteren Gram negatif mikroorganizmalar gün geçtikçe artan bir sorun oluşturmaktadır.

Bu çalışma sonuçlarının, üriner sistem enfeksiyonlarının ampirik tedavi seçeneklerine katkı sunması beklenmektedir. Ayrıca, antibiyotik direnç durumlarının belirlenmesi maliyet ve tedavinin doğru planlanmasını sağlayacak, antibiyotiklerin daha doğru ve etkin şekilde seçilmesine yol gösterici olabileceği düşünülmektedir.

**Anahtar Kelimeler:** Direnç, Gram negatif bakteriler, idrar

## Çocuklarda Dışkıda Adenovirüs ve Rotavirüslerin Araştırılması

Aslı Kiraz, Satı Zeynep Tekin, Ahmet Vural, Ümit Karadeli, Ahmet Ünver

Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi, Tıp Fakültesi Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Çanakkale

**Amaç:** Akut gastroenteritler, gelişmiş ve gelişmekte olan ülkelerde çocuklarda mortalite ve morbiditenin en başta gelen sebeplerindedir. Bu çalışmada, hastanemizin mikrobiyoloji laboratuvarına gönderilen taze dışkı örneklerinde rotavirüs ve adenovirüs antijen sıklığının ve bazı demografik özelliklere göre dağılımının retrospektif olarak değerlendirilmesi amaçlanmıştır.

**Yöntem:** Bu çalışmada, 1 Ocak 2011-31 Aralık 2013 tarihleri arasında Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi Hastanesi Mikrobiyoloji Laboratuvarına rotavirüs ve adenovirüs antijeni araştırılması için gönderilen, 0-18 yaş arası çocuklara ait 298 dışkı örneği retrospektif olarak incelendi. Dışkı örneklerini incelemede, kalitatif immünokromotografik yöntemi kullanıldı. Enfeksiyon görülme sıklığının mevsimlere, yaş grubu ve ön tanı durumlarına göre dağılımı belirlendi.

**Bulgular:** Dışkıda rotavirüs ve adenovirüs antijeni araştırılması için örnek gönderilen hastalar 4 ay-18 yaş grubunda olup, ortalama yaş 2,6 olarak belirlenmiştir. Toplam 38 hastada (%12,5) rotavirüs pozitif bulunurken, 21 hastada (%6,8) adenovirüs pozitif bulunmuştur. Pozitifliğin en sık görüldüğü yaş grupları rotavirüsler ve adenovirüsler için 0-5 yaş arası dönemdir.

**Sonuç:** Çocukluk çağı viral gastroenteritlerinde en sık görülen etkenler rotavirüs, norovirüs, astrovirüs ve adenovirüs olarak tanımlanmaktadır. Çocukluk çağı gastroenteritlerinin en sık nedenleri arasında yer alan rotavirüs ve adenovirüsün tanısında her iki etkene yönelik ayrı ayrı testler yanında bu iki etkenin birlikte saptanabildiği kombine hızlı tanı testleri de vardır.

Hastanemizin hizmet verdiği bölgede üç yıllık retrospektif olarak yapılan bu tarama sonuçlarına göre çocukluk çağı gastroenteritlerinde rotavirüslerin ve enterik adenovirüslerin rolünün önemli olduğu ancak diğer viral, bakteriyel ve protozoal etkenlerin de geniş kapsamlı olarak araştırılmasıyla daha iyi sonuçlar elde edilebileceği anlaşılmaktadır.

**Anahtar Kelimeler:** adenovirüs, gastroenterit, rotavirüs

## Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi Uygulama ve Araştırma Hastanesi'nde Kan Kültüründen İzole Edilen Mikroorganizmalar ve Antimikrobiyal Direnç Özellikleri

Ahmet Vural, Satı Zeynep Tekin, Aslı Kiraz, Nimet Açıkkol, Ahmet Ünver

Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi, Tıp Fakültesi Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Çanakkale

**Amaç:** Bu çalışmada hastanemizin çeşitli kliniklerden gelen kan kültürü örneklerinden izole edilen mikroorganizmaların dağılım oranları ve antimikrobiyal maddelere direnç özelliklerinin belirlenmesi amaçlanmıştır.

**Yöntem:** Şubat 2013-2014 tarihleri arasında hastanemizin çeşitli kliniklerinde yatan hastalardan laboratuvarımıza gönderilen 1422 şişe, BacT/ALERT 3D (Biomerieux, Fransa) ile değerlendirilmiştir. Üreyenlerin tanımlanması VITEK 2 compact (Biomerieux, Fransa) sistemi kullanılarak yapılmıştır. Direnç değerlendirmesi Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) standartlarına göre yapılmıştır.

**Bulgular:** Şubat 2013-2014 tarihleri arasındaki dönemde laboratuvarımıza gelen 1422 şişeden 250 (%18)'sinde üreme olmuştur. Üreme olan 250 kan kültüründe 189 (%76) gram pozitif, 50 (%20) gram negatif bakteri ve 11 (%4) maya mantarı üremiştir.

Üreyen 189 gram pozitif bakteriden, 138 (%73) metisiline dirençli koagülaz negatif stafilokok (MRKNS), 10 (%5) metisiline duyarlı koagülaz negatif stafilokok (MSKNS), 5 (%3) metisiline dirençli *Staphylococcus aureus* (MRSA), 8 (%4) metisiline duyarlı *Staphylococcus aureus* (MSSA), 14 (%7) *Enterococcus faecalis*, 11 (%6) *Enterococcus faecium* ve 3 (%2) tane de vankomisine dirençli enterokok (VRE) tespit edilmiştir.

Üreyen 50 Gram negatif bakteriden 16 (%32) *Escherichia coli*, 13 (%26) *Acinetobacter baumannii*, 10 (%20) *Serratia marcescens*, 3 (%6) *Pseudomonas aeruginosa*, 2 (%4) *Salmonella spp.*, ve 6 (%12) diğer bakteriler üremiştir.

Üreyen 11 mayanın 6 (%55)'sı *Candida parapsilosis*, 2 (%18) *Candida tropicalis*, 2 (%18) *Candida tropiulus*, 1 (%9) *Candida albicans* olarak tanımlanmıştır.

**Sonuç:** Mikroorganizmaların antimikrobiyal duyarlılıklarının belirlenmesi, ampirik tedavide klinisyene yol göstermesi beklenirken, direnç gelişmesi açısından antimikrobiyal kullanım stratejilerinin belirlenmesinde yardımcı olabileceği düşünülmektedir.

**Anahtar Kelimeler:** direnç, kan kültürü, mikroorganizma

## Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi Tıp Fakültesi Uygulama ve Araştırma Hastanesi Mikrobiyoloji Laboratuvarına Gönderilen Örneklerde İndirekt Hemaglütinasyon yöntemi ile Kistik Ekinokokkozis Seropozitiflik Oranlarının Değerlendirilmesi

**Satı Zeynep Tekin, Ahmet Vural, Aslı Kiraz, Mümin Sargın, Ahmet Ünver**

*Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi, Tıp Fakültesi Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Çanakkale*

**Amaç:** *Echinococcus* (Ekinokokkozis), *Echinococcus* türlerince oluşturulan zoonotik bir enfeksiyondur. Kistik ve alveolar Ekinokokkozis gibi çeşitli klinik durumlarla karşılaşılabilir. Klinik belirtiler sonucunda şüpheli kistik ekinokokkozis olgularının tanısında radyolojik ve serolojik yöntemlerle tanı desteklenmekte, patolojik kesitlerin incelenmesi ve protoskolekslerin ve/veya kancaların görülmesi ile kesin tanı konulabilmektedir. Rutin olarak kistik ekinokokkozis tanısında en çok tercih edilen yöntemlerden birisi indirekt hemaglütinasyon testidir. Bu çalışmada amacımız laboratuvarımıza kistik ekinokokkozis şüphesiyle gönderilen örneklerde antikor pozitifliğini ve titrasyonunu araştırmaktır.

**Yöntem:** Ocak 2011-2014 tarihleri arasında laboratuvarımıza indirekt hemaglütinasyon (İHA) yöntemi ile ekinokokkozis çalışılmak üzere gönderilen 297 hasta serum örneği değerlendirilmiştir. 1/320 ve üzeri titrasyonlar pozitif kabul edilmiştir.

**Bulgular:** Örneklerin 161'i (%54) kadın 136'sı (%46) erkek idi. Örneklerin 118'i (%40) Genel cerrahi, 29'u (%10) Göğüs Hastalıkları, 26'sı (%9) Enfeksiyon Hastalıkları kliniklerinden, kalan 173'ü (%41) diğer kliniklerden (İç Hastalıkları, Gastroenteroloji vb.) gelmiştir. İncelenen üç yıllık verinin toplamı olan 297 örneğin 68 (%23)'ünde titrasyon sonucu verilmiştir. Pozitif titrasyon bulunan 68 örneğin, 23'ünde (%34) titrasyon 1/320'nin altında iken, 45'inde (%66) 1/320 titrasyonun üzerinde pozitiflik tespit edilmiştir.

**Sonuç:** Kistik ekinokokkozisin tanısında kesin tanı yöntemlerinin yanısıra pratik bir serolojik test olan indirekt hemaglütinasyon tanıda yol gösterici olması nedeniyle diğer yöntemlere ek olarak kullanılabilir. Çalışma sonuçlarının bölgemizde şüpheli hastalarda kistik ekinokokkozisin yaygınlığı hakkında fikir vermesi beklenmektedir.

**Anahtar Kelimeler:** ekinokok, indirekt hemaglütinasyon, antikor

## Olgu: İdrar Kültüründen İzole Edilen ve Oxa 48 Sentezleyen *Klebsiella pneumoniae*

**Semra Kavas Genç<sup>1</sup>, Şeyma Özkurt<sup>1</sup>, Nilay Çöplü<sup>1</sup>, Mustafa Çağatay<sup>1</sup>, Gül Erdem<sup>1</sup>, Deniz Gür<sup>2</sup>, Aslı Ünsal Çakar<sup>2</sup>**

<sup>1</sup>Dışkapı Yıldırım Beyazıt Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Mikrobiyoloji Bölümü, Ankara

<sup>2</sup>Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi, Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Ankara

Karbapenemlere dirençten sorumlu OXA-48 geni taşıyan *Klebsiella pneumoniae* suşu ilk kez 2001 yılında Türkiye’de izole edilmiş, daha sonra Avrupa ülkelerinde hızla yayılmış ve salgınlara sebep olmuştur. Yöntem: 83 yaşında kadın hasta genel durum bozukluğu ve bilinç bulanıklığıyla Şubat 2014’te hastanemiz acil servisine başvurmuştur. Yoğun bakıma yatırılan hastanın öyküsünde kronik böbrek yetmezliği, diabetes mellitus, hipertansiyon mevcuttur. Laboratuvar sonuçlarına göre üre-kreatinin yüksek bulunmuştur. Diyaliz sonrası ateş yükselmiş, idrar örneği %5 koyun kanlı agar ve Eozin Metilen Blue agara ekilmiş ve 35°C de 18-24 saat inkübe edilmiştir. Kültürde üreyen bakteri konvansiyonel yöntemlerle ve otomatize sistemle (Phoenix 100 ID/AST, Becton Dickinson,US) *Klebsiella pneumoniae* olarak tanımlanmış, antibiyotik duyarlık testi Clinical and Laboratory Standards Institute standartları kullanılarak disk difüzyon yöntemi ve otomatize sistem ile (Phoenix ID) çalışılmıştır. Karbapenemlere duyarlı bulunmayan suş “Check-Direct CPE “ kiti kullanılarak real time PCR yöntemi ile Rotor-Gene Q cihazında çalışılmıştır. Bulgular: Antimikrobiyallere duyarlılık test sonucu MİK/duyarlılık olarak gentamisin  $\leq 2/S$ , sefazolin  $> 16/R$ , amikasin  $\leq 8/S$ , amoksisilin/klavulonat  $> 16/8/R$ , ampisilin/sulbaktam  $> 16/8/R$ , sefepim  $> 16/R$ , sefoksitin  $> 16/R$ , sefuroksim  $> 16/R$ , siprofloksasin  $> 2/R$ , ertapenem  $> 4/R$ , imipenem  $= 8/I$ , meropenem  $> 8/R$ , piperasilin/tazobaktam  $> 64/4/R$ , trimetoprim/sulfametoksazol  $= 4/76/R$  ve seftriakson  $> 32/R$  olarak bulunmuştur. Suşun OXA-48 geni aracılığıyla karbapenemaz sentezlediği saptanmıştır.

**Sonuç:** Karbapenem direnci özellikle yoğun bakımlarda önem kazanmaktadır. Direnç yayılımının engellenmesi için enfeksiyon hastalıklarına yönelik kontrol önlemlerinin alınması, ampirik tedaviye bölgesel/ulusal surveyans verilerine göre karar verilmesi, antibiyogram sonucuna göre birincil ilaçlarla tedaviye devam edilmesi ve karbapenem kullanımının kısıtlanması uygun olacaktır.

**Anahtar Kelimeler:** Oxa 48, *Klebsiella pneumoniae*



## Rektal Sürüntü Örneklerinde Karbapenem Dirençli Mikroorganizmaların Saptanmasında Farklı Tarama Yöntemlerinin Değerlendirilmesi

**Gülşen Altınkanat Gelmez<sup>1</sup>, Ayşe Karaaslan<sup>2</sup>, Sevim Özsoy<sup>1</sup>, Meltem Kaya<sup>1</sup>, Eda Kepenekli<sup>2</sup>, Ahmet Soysal<sup>2</sup>, Mustafa Bakır<sup>2</sup>, Güner Söyletir<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>Marmara Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, İstanbul

<sup>2</sup>Marmara Üniversitesi Tıp Fakültesi, Pediatrik Enfeksiyon Bilim Dalı, İstanbul

**Amaç:** Hastanemiz Pediatri Yoğun Bakım Ünitesinde karbapenemaz pozitif *K. pneumoniae* indeks vakasının saptanmasından sonra, Pediatri kliniklerinde karbapenem dirençli bakterilerin taranması ve farklı tarama yöntemlerinin karbapenemaz üreten *K. pneumoniae* kökenlerini saptamadaki performanslarının değerlendirilmesi amaçlanmıştır.

**Yöntem:** Nisan-Ekim 2013 tarihleri arasında Pediatri kliniklerinde yatan 762 hastadan 1840 rektal sürüntü örneği toplanmış ve her örnek 1 ml Müeller Hinton Broth (MHB) içerisinde bekletilip (5 dk) i) 10 µl süspansiyon chromID CARBA agarın(bioMérieux) yarısına doğrudan, ii) 100 µl süspansiyon 10 µg ertapenem diski içeren 5 ml MHB'a ekilip bir gece inkübe edildikten sonra CARBA agarın diğer yarısına ekilmiştir(MHB+CARBA). Şüpheli kolonilerin tanımlama ve antibiogram işlemlerinin ardından (VITEK2, bioMérieux) karbapenemaz üretimi Modifiye Hodge Testi (MHT) ile konfirme edilmiştir. blaOXA-48, blaIMP, blaVIM, blaKPC ve blaNDM genlerinin varlığı PCR ile araştırılmıştır.

**Bulgular:** Tarama yöntemlerinden en az biri ile 73 karbapenem dirençli *Enterobacteriaceae* (%9,57) ve 163 karbapenem dirençli nonfermenter bakteri (%21,37) saptanmış, *K. pneumoniae* kökeninin 45'inde (%88,2) OXA-48, IMP ve NDM genlerinden en az birisi saptanmıştır. Kökenlerin hiçbirinde KPC ve VİM genine rastlanmamıştır. Karbapenemaz üreten *K. pneumoniae* kökenlerinin tümü MHB+CARBA ile saptanırken, sadece CARBA agar %91,1'ini saptayabilmiştir (Tablo 1). Karbapenemaz geni pozitif *K. pneumoniae* kökenlerinin fenotipik özellikleri Tablo 2'de gösterilmiştir.

**Sonuç:** • MHB+CARBA yöntemi %100 saptama özelliği nedeniyle mutlaka kullanılmalıdır. Ancak sonuçların görece geç alınması (48 saat) dezavantajı ve taramaların %90'ında sadece CARBA ile erken sonuç alınması nedeniyle her iki yöntemin birlikte kullanılması önemlidir.

• Pediatri servislerinde yatan ve pozitif saptanan hastaların diğerlerinden ayrılabilmesi sağlanarak bu kökenlerin yayılımının önüne önemli ölçüde geçilmiştir.

**Anahtar Kelimeler:** *K. pneumoniae*, Karbapenemaz, chromID CARBA

**Tablo 1.** Karbapenemaz pozitif *K. pneumoniae* kökenlerinin saptanmasında tarama yöntemlerinin performansları

Tarama Yöntemi	OXA-48	IMP	NDM	NDM+OXA	TOPLAM(%)
<b>K. pneumoniae (n=45)</b>					
MH+CARBA	36	5	3	1	45 (%100)
CARBA	33	4	3	1	41 (%91,1)
<b>Toplam</b>	<b>36</b>	<b>5</b>	<b>3</b>	<b>1</b>	<b>45 (%100)</b>

\*chromID CARBA agar (bioMérieux)

**Tablo 2.** Karbapenemaz pozitif *K. pneumoniae* kökenlerinde fenotipik test sonuçları

Karbapenemaz	Modified Hodge Test		Karbapenem Direnci n(%)		
	Pozitif	Negatif	Ertapenem	İmipenem	Meropenem
OXA-48 (n=36)	34	2	36	25	22
IMP-1 (n=5)	5	0	5	5	5
NDM (n=3)	2	1	3	3	3
OXA-48+NDM (n=1)	1	0	1	1	1
<b>Toplam (n=45)</b>	<b>42(93,3)</b>	<b>3(6,7)</b>	<b>45(100)</b>	<b>34(75,5)</b>	<b>31(68,8)</b>

## Rektal Sürüntü Örneklerinden Karbapenemazların Saptanmasında Yeni Bir Yöntem: Check-Direct CPE

**Gülşen Altınkanat Gelmez, M. Ufuk Hasdemir, Güner Söyletir**

*Marmara Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, İstanbul*

**Amaç:** Çalışmamızda, rektal sürüntü örneklerinden karbapenemaz tespiti için geliştirilmiş Check-Direct CPE (Check-Points) sisteminin performansının araştırılması amaçlanmıştır.

**Yöntem:** Sistemin performansını saptamak üzere i) karbapenemaz genine sahip (n:19) ve gen negatif (n:2) klinik kökenler, ii) hastanemiz yoğun bakım servislerinde yatan 46 hastadan alınan rektal sürüntü örneği (RSÖ) çalışmaya alınmıştır. PBS (1 ml) ile süspansiyon edilen RSÖ'lerin 200 µl'sinden QIASymphony(QIAGEN) cihazı ile DNA izolasyonu yapılmış ve Check-Direct CPE kiti kullanılarak OXA-48, KPC, NDM/VİM genleri multipleks Real-time PCR ile saptanmıştır. MHB+chromID CARBA metodu ile yapılan RSÖ kültüründen izole edilen olası karbapenem dirençli bakterilerin DNA'ları kaynatma yöntemi ile elde edildikten sonra karbapenemaz genlerinin (OXA-48, IMP, VIM, KPC, NDM) varlığı konvansiyonel PCR ile araştırılmıştır.

**Bulgular:** Check-Direct CPE sistemi ile kültürden izole edilen tüm kökenlerde karbapenemaz tespiti konvansiyonel PCR ile uyumlu bulunmuştur (Tablo 1). Sistem, RSÖ'den 2 OXA-48, 1 VIM pozitif örneği saptayamamış, kültürde üremesiz olan 3 RSÖ'nün 2'sinde OXA-48, 1'inde NDM/VİM düşük düzeyde ("very low load") saptamıştır (Tablo 2). Sistemde mevcut olmayan IMP geni 6 adet kültür ve RSÖ'de pozitif iken negatif olarak değerlendirilmiştir.

**Sonuç:** Check-Direct CPE'nin karbapenemaz genlerini saptama oranı, kültürden izole edilen kökenlerde RSÖ'lere göre daha yüksek bulunmuştur. Sistemin, kısa sürede (3 saat) karbapenemaz pozitif olan hastaların yaklaşık %80'nini (IMP pozitif örnekler hariç %87,2) belirlemesi hastaların kısa sürede izolasyonları açısından önemlidir.

Sistemin üç kültür negatif RSÖ'den karbapenemaz geni saptamış olması duyarlılığının yüksek olduğunu yani tekrarlanan kültürlerde bu bakterilerin üretilebileceğini ya da bu sonucun yalancı pozitiflik olduğunu düşündürmektedir.

Sistem IMP genini saptayamamaktadır. Bu dezavantajın üstesinden gelebilmek için kültür ile birlikte kullanılmalıdır.

**Anahtar Kelimeler:** Karbapenemaz, Real-Time PCR, Rektal Sürüntü

**Tablo 1:** Kültürde izole edilen mikroorganizmalarda karbapenemaz genlerinin Check-Direct CPE sistemi ile değerlendirilmesi

<b>Konvansiyonel PCR</b>	<b>OXA-48</b>	<b>NDM/VİM</b>	<b>İMP</b>	<b>KPC</b>	<b>Negatif</b>	<b>Toplam(%)</b>
<b>OXA-48 (n:6)</b>	6					6(100)
<b>NDM/VİM (n:12)</b>		11*				11(91,6)
<b>İMP ( n:2)</b>			..**			0(0)
<b>KPC (n:2)</b>				2		2(100)
<b>Negatif (n:2)</b>					2	2(100)
<b>Toplam (n:24)</b>	6	11	-	2	2	21(87,5)***

\*Check-Point CPE sistemi ile 1 VİM pozitif köken "geçersiz" olarak değerlendirilmiştir.  
\*\*Check-Point CPE sistemi İMP genini saptamamaktadır.  
\*\*\*İMP pozitif örnekler dahil edilmediğinde saptama oranı %95,5'dir.

**Tablo 2:** Rektal sürüntü örneklerinde karbapenemaz genlerinin Check-Direct CPE ile değerlendirilmesi

<b>Konvansiyonel PCR</b>	<b>OXA-48</b>	<b>NDM/VİM</b>	<b>İMP</b>	<b>KPC</b>	<b>Negatif</b>	<b>Toplam(%)</b>
<b>OXA-48 (n:20)</b>	18					18(90)
<b>NDM/VİM (n:10)</b>		9				9(90)
<b>İMP ( n:4)</b>			..*			0(0)
<b>KPC (n:0)</b>				-		0(0)
<b>Negatif (n:13)</b>					10**	10(76,9)
<b>Toplam (n:47)</b>	18	9	-	-	10	37(78,7)***

\* Check-Point CPE sistemi İMP genini saptamamaktadır.  
\*\*2 örnekte OXA-48, 1 örnekte NDM/VİM saptanmıştır.  
\*\*\*İMP pozitif örnekler dahil edilmediğinde saptama oranı %87,2'dir.

## Toplum Kaynaklı GSBL Pozitif Üriner *E. coli* İzolatlarında Oral Antibiyotiklere Direnç Artıyor mu?: 3 Yıllık Değerlendirme

**Sevim Özsoy, Arzu İlki, Güner Söyletir**

*Marmara Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, İstanbul*

**Amaç:** Son zamanlarda, toplum kaynaklı üriner sistem enfeksiyonlarından izole edilen *E. coli* kökenlerinde antibiyotik direnç oranlarında gözlenen artış nedeniyle eski antibiyotiklerden olan fosfomisin ve nitrofurantoin gibi tolere edilebilirliği yüksek, oral ve kullanımı kolay ilaçlar sıklıkla kullanılmaya başlanmıştır. Çalışmamızda *E. coli* kökenlerinde, GSBL pozitiflik oranı ve bu antibiyotiklere duyarlılık oranlarını belirlemek amaçlanmıştır.

**Yöntem:** Ocak 2011-Aralık 2013 tarihleri arasında laboratuvarımıza gönderilen idrar örneklerinden chromID CPS agarda saptanan ve etken kabul edilen *E. coli* kökenleri MALDI-TOF MS (Biomériux, Fransa) ile tanımlanarak çalışmaya alınmıştır. İzolatların siprofloksasin (CIP), trimetoprim-sulfametoksazol (SXT), nitrofurantoin (NİT) ve fosfomisin (FOS) duyarlılıkları (Vitek2, Biomériux) çalışılmıştır. Kökenlerin GSBL üretimi CLSI'nın önerileri doğrultusunda GSBL doğrulama yöntemi ile değerlendirilmiştir. Kalite kontrol kökeni olarak *E. coli* ATCC 25922 (GSBL negatif), *Klebsiella pneumoniae* ATCC 700603 (GSBL pozitif) kullanılmıştır.

**Bulgular:** Çalışma süresi boyunca üriner enfeksiyon etkeni olarak izole edilen 1816 *E. coli* kökeninin 494'ü (%27) GSBL pozitif bulunmuştur. Bu 3 yıllık dönemde GSBL pozitif kökenler için CIP direnci %41.7'den, %46.5'e, SXT direnci %57.6'dan %64.1'e, NİT direnci %13.6'dan %23.2'ye ve FOS direnci ise %2.6'dan %3.8'e yükseldiği görülmüştür (Tablo).

**Sonuç:** Çalışmamızda toplum kaynaklı örneklerde saptanan GSBL pozitiflik oranı %27 olmasının yanı sıra, bu kökenlerde direnç oranlarının da yıllarla yükselmiş olması, bu antibiyotiklerin üriner sistem enfeksiyonlarının ampirik tedavisinde dikkatle kullanılmasını gerektirmektedir. Buna karşın fosfomisin direncinin %2.6'dan %3.8 olması ilacın hala GSBL pozitif izolatlar dahil toplum kaynaklı üriner sistem enfeksiyonlarının ampirik tedavisinde öne çıkmasını sağlamakta ancak direnç gelişimi yönünden izlenmesi gerektirdiğini düşündürmektedir.

**Anahtar Kelimeler:** *E. coli*, idrar yolu enfeksiyonu, fosfomisin

**Tablo 1.** GSBL Pozitif E.coli İzolatlarında Oral Antibiyotiklere Direnç

Yıllar	Siprofloksasin	Trimetoprim- sulfametoksazol	Nitrofurantoin	Fosfomisin
	n(%)	n (%)	n (%)	n(%)
<b>2011 (n:151)</b>	63 (41.7)	87 (57.6)	20 (13.6)	4 (2.6)
<b>2012 (n:214)</b>	100 (46.7)	127 (59.3)	70 (12.9)	13 (2.4)
<b>2013 (n:129)</b>	60 (46.5)	84 (64.1)	30 (23.2)	5 (3.8)

## ***Clostridium difficile* Toksin İsteği ile Gönderilen Dışkı Örneklerinde Vankomisin Dirençli Enterokok (VRE) Varlığının Araştırılması**

**Sevim Özsoy, Arzu İlki, Güner Söyletir**

*Marmara Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, İstanbul*

**Amaç:** *Clostridium difficile* ve VRE benzer risk faktörleri olan önemli hastane enfeksiyon etkenleridir. Bu çalışmada, hastanemiz Mikrobiyoloji Laboratuvarı'na rutin *C.difficile* toksini bakılması isteği ile gönderilen dışkıdaki VRE varlığı araştırılmıştır.

**Metod:** Laboratuvarımıza Ağustos 2012-Şubat 2014 arasında *C. difficile* toksini isteği ile gönderilen dışkı örnekleri çalışmaya dahil edilmiştir. Örneklerin *C. difficile* Toxin A&B (VIDAS, BioMerieux, Fransa) ile toksin varlığına bakılmış, VRE taraması amacıyla chromID VRE agara (BioMerieux, Fransa) ekilerek, 24 saat inkübe edilmiş; üreme saptanmayan örnekler 48 saat ileri inkübasyona bırakılmış, enterokok benzeri üreme saptananlardan konvansiyonel yöntemler ve API ile tür tayini yapılmıştır. Elde edilen kökenlerin E-test yöntemiyle vankomisin ve teikoplanin dirençlerine bakılmıştır.

**Bulgu:** Bu dönemde 88 toksin pozitif ve 70 toksin negatif olmak üzere toplamda 158 dışkı örneği değerlendirilmiştir. *C.difficile* toksin pozitif hasta örneklerindeki VRE kolonizasyonunun *C.difficile* toksin negatiflere göre anlamlı olarak daha yüksek olduğu görülmüştür (Tablo). Toksin pozitifliğinin VRE kolonizasyonu açısından pozitif öngörü değeri (PÖD) %79 iken, negatif öngörü değeri (NÖD) %47 ile istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ( $P<0.005$ ). İzolatların tamamı *E.faecium* olarak tanımlanmış ve tümü vankomisin ve teikoplanine dirençli saptanmıştır.

**Sonuç:** Hastaneye yatan bütün hastalardan VRE taraması laboratuvarlara ciddi bir maliyet ve iş yükü getirmektedir. Yoğun bakım, hematoloji onkoloji gibi yüksek riskli servisler dışındaki servisler için odağa yönelik taramalar yapılması gerek maliyet, gerekse iş yükünü azaltma açısından önemli katkı sağlayacaktır. Bu anlamda, bir ön çalışma niteliğindeki bu çalışma ile özellikle VRE kolonizasyon oranlarının düşük olduğu servisler için bu taramanın *C.difficile* toksin pozitif hastalarla sınırlandırılabilirliğini göstermesi açısından önem taşımaktadır.

**Anahtar Kelimeler:** *Clostridium difficile*, VRE, chromID VRE

**Tablo 1.** *C. difficile* toksin varlığı ve VRE kolonizasyonu

<b>TOKSİN VARLIĞI</b>	<b>VRE POZİTİF</b>	<b>VRE NEGATİF</b>	<b>TOPLAM</b>
	<b>n (%)</b>	<b>n (%)</b>	
<b>TOKSİN POZİTİF</b>	15 (17.1)	4 (5.7)	19 (12.1)
<b>TOKSİN NEGATİF</b>	73 (82.9)	66 (94.3)	139 (87.9)
<b>TOPLAM</b>	88 (100)	70 (100)	158 (100)

## Olası Pompa İnhibitörü Olarak Benzotiyazol Türevi Bileşikler

**Deniz Güneşer Merdan<sup>1</sup>, Gülşen Altınkanat Gelmez<sup>1</sup>, İsmail Yalçın<sup>2</sup>, İlkay Yıldız<sup>2</sup>, Esin Akı<sup>2</sup>,  
Ufuk Hasdemir<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>Marmara Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, İstanbul

<sup>2</sup>Ankara Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Farmasötik Kimya Anabilim Dalı, Ankara

**Amaç:** Bu çalışmada, sekiz benzotiyazol türevi bileşiğin, AdeABC'ye bağlı siprofloksasin (CIP) direnci gösteren *Acinetobacter baumannii* SbMOX2 kökeninin CIP MİK'ini (128 µg/ml) duyarlılık sınırına düşüren en küçük konsantrasyonlarını belirlemeyi, ve aynı zamanda bu bileşiklerin klinik kökenlerin CIP MİK'leri üzerindeki etkilerini araştırmayı amaçladık.

**Yöntem:** *Acinetobacter baumannii* SbMOX2'nin CIP MİK'i, her bir bileşiğin farklı konsantrasyonlarında sıvı mikrodilüsyon yöntemiyle saptanmıştır. "Etkin Minimum Konsantrasyon" (EMK) olarak, standart kökenin CIP MİK'ini duyarlılık sınır değerine çeken en küçük bileşik konsantrasyonu kabul edilmiştir. Etkin bulunan bileşiklerden ikisi seçilmiş, EMK ve bir üst konsantrasyonlarının, AdeABC'yi yüksek düzeyde eksprese ettiği bilinen 2 klinik *A.baumannii* kökeninin CIP MİK'leri üzerindeki etkisi yine sıvı mikrodilüsyon yöntemiyle araştırılmıştır (Tablo 2).

**Bulgular:** Bileşiklerin hepsi 8 µg/ml ve veya 16 µg/ml konsantrasyonlarda, standart kökenin CIP MİK'ini duyarlılık sınırına çekmişlerdir (Tablo 1). KBMMe ve SY23 kodlu bileşiklerin, klinik kökenlerin CIP MİK'leri üzerindeki etkilerine bakıldığında; KBMMe, 32 µg/ml konsantrasyonda her 2 klinik kökenin CIP MİK'ini 4 kat; SY23 ise aynı konsantrasyonda klinik kökenlerin birinde CIP MİK'ini 2 kat düşürmüştür (Tablo 2).

**Sonuç:** Benzotiyazol türevi bileşiklerin küçük konsantrasyonlarda (8-16 µg/ml), *A.baumannii* SbMOX2'de AdeABC'ye bağlı CIP MİK'ini duyarlılık sınırına düşürmesi, potansiyel pompa inhibitörü aktivitelerine kuvvetle işaret etmektedir. KBMMe ve SY23 kodlu bileşiklerin, klinik *A.baumannii* kökenlerinin CIP MİK'lerini 2-4 kat düşürmesi de bu bileşiklerin pompa inhibitör aktivitelerini destekleyen bir diğer bulgumuzdur. Bu bileşiklerin pompa inhibisyon mekanizmalarının anlaşılması için ileri çalışmalara ihtiyaç vardır.

**Anahtar Kelimeler:** Efluks, AdeABC, *Acinetobacter baumannii*



**Tablo 1.** Hidrosiklik bileşiklerin farklı konsantrasyonlarının, A.baumannii SbMOX2 CIP MİK'i (128 µg/ml) üzerine etkisi<sup>a</sup>

Bileşik Adı	Bileşik konsantrasyonları (µg/ml)						
	128	64	32	16	8	4	2
AN 28	-	-	0,25	<b>0,5</b>	<b>1</b>	2	2
KBMMe	<0,06	<0,06	<b>0,25</b>	<b>1</b>	2	-	-
KBMMo	-	-	<b>0,5</b>	<b>1</b>	2	2	2
SY23	<0,06	<0,06	0,5	<b>1</b>	<b>1</b>	-	-
SY3	-	-	<b>0,5</b>	<b>1</b>	2	2	4
SY4	-	<0,06	0,5	<b>0,5</b>	<b>1</b>	2	-
TD5B	<0,06	<0,06	1	1	2	-	-
XT5BR	-	-	0,25	<b>0,5</b>	<b>1</b>	2	2

<sup>a</sup> Clinical Laboratory Standards Institute'e göre siprofloksasin duyarlılık sınırı  $\leq 1$  µg/ml'dir.

**Tablo 2.** KBMMe ve SY23'ün yüksek düzey AdeABC eksprese eden klinik A.baumannii kökenlerinin CIP MİK'leri üzerine etkileri

Köken	CIP <sup>a</sup> ± bileşik	MİK (µg/ml)
D2	CIP	32
	CIP + KBMMe 16µg/ml	16
	CIP + KBMMe 32µg/ml	8
	CIP + SY23 16µg/ml	32
	CIP + SY23 32µg/ml	32
D9	CIP	32
	CIP + KBMMe 16µg/ml	16
	CIP + KBMMe 32µg/ml	8
	CIP + SY23 16µg/ml	32
	CIP + SY23 32µg/ml	16
A.baumannii SbMOX2	CIP	128
	CIP + KBMMe 16µg/ml	1
	CIP + KBMMe 32µg/ml	0,25
	CIP + SY23 16µg/ml	1
	CIP + SY23 32µg/ml	0,5

<sup>a</sup> CIP: Siprofloksasin

## Bacteroides Fragilis İzolatlarında Quorum Sensing Aracılı Uyarımın Karbapenem Direncine Etkisinin Araştırılması

**Öncü Akgül<sup>1</sup>, Nurver Ülger Toprak<sup>1</sup>, Burak Aksu<sup>1</sup>, Gülgün Boşgelmez Tınaz<sup>2</sup>, Güner Söyletir<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>Marmara Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, İstanbul

<sup>2</sup>Marmara Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Eczacılık Temel Bilimleri Ana Bilim Dalı, İstanbul

Normal barsak mikrobiyotasında bulunan *Bacteroides fragilis*, çeşitli virülans faktörlerine sahiptir, anaerop enfeksiyonlarda en sık izole edilen fırsatçı patojendir. Antibiyotiklere direnç oranı diğer anaeroplara göre daha yüksektir. Karbapenem,  $\beta$ -laktam/ $\beta$ -laktamaz inhibitörleri ve metronidazol gibi sınırlı sayıda antibiyotiğe duyarlıdır. Ancak, bu antibiyotiklere karşı direnç geliştiren izolatlar da bildirilmiştir. Karbapenemlere direnç, *cfiA* geni ile kodlanan metallo- $\beta$ -laktamaz aktivitesiyle gerçekleşir, *cfiA* geni sessiz kalabilir veya değişik düzeylerde eksprese olabilir. Dolayısıyla *cfiA* genine sahip bakterilerin karbapenem duyarlılık değerleri de farklılık gösterebilir. Gram negatif patojenlerde Quorum-sensing (QS) sistemi; antibiyotik biyosentezi, konjugasyon, virülans faktörlerinin üretimi ve biyofilm oluşumunda önemli role sahiptir. Aerop bakterilerdeki QS sistemi detaylı bir şekilde araştırılmıştır, anaerop bakterilerde QS çalışmaları son derece azdır.

Çalışmamızda hedeflenen, *B. fragilis* suşlarında biyofilm oluşumunu arttıran *Pseudomonas aeruginosa* kültür filtratının (QS otoindükleyicisi), *cfiA* genine sahip organizmalarda karbapenem direncinde herhangi bir değişiklik yapıp yapmadığını araştırmaktır. Bu amaçla *cfiA* geni bulunan, QS genlerine sahip ve otoindükleyici varlığında biyofilm üreten 19 *B. fragilis* ele alınmıştır. İzolatların meropenem direnci CLSI (M11-A7)'nin önerdiği agarda dilüsyon yöntemiyle çalışılmıştır. Meropenem direncine *P. aeruginosa* kültür filtratının etkisi de aynı yöntemle araştırılmış, ancak tüm üretme ve test basamaklarında besiyerlerine, %10 oranında *P. aeruginosa* filtratı eklenmiştir. Meropenem MİK değerleri  $\leq 0.125$  ile  $64 \mu\text{g/ml}$  arasında yer almış, kökenlerin 5'inde direnç saptanmıştır. Her bir izolatın meropenem MİK değeri otoindükleyici eklenen veya eklenmeyen koşullarda aynı bulunmuştur. Bir sonraki hedefimiz aynı izolatlarla biyofilm oluşturduktan sonra QS indüksiyonunun karbapenem direncine etkisini araştırmaktır.

**Anahtar Kelimeler:** *Bacteroides fragilis*, Quorum Sensing, karbapenemaz

## ***Escherichia coli* ve *Klebsiella* Kökenlerinde Karbapenem Direncine Neden Olan Mekanizmaların Araştırılması: NDM-1'in Sessiz Yayılımı**

**Onur Karatuna<sup>1</sup>, Işın Akyar<sup>1</sup>, Sinem Öktem Okullu<sup>1</sup>, Nihan Ünübol<sup>1</sup>, Deniz Ece Kaya<sup>1</sup>, Eda Güngörürler<sup>1</sup>, Sesin Kocagöz<sup>2</sup>, Tanıl Kocagöz<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>Acıbadem Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, İstanbul

<sup>2</sup>Acıbadem Üniversitesi Tıp Fakültesi, Enfeksiyon Hastalıkları ve Klinik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, İstanbul

**Amaç:** Karbapeneme dirençli *Enterobacteriaceae* dünya çapında bir sorun teşkil etmektedir. Çalışmamızda Acıbadem Labmed Klinik Laboratuvarları'nda tanımlanan *Escherichia coli* ve *Klebsiella* kökenlerinde karbapenem direncine neden olan mekanizmaların araştırılması amaçlanmıştır.

**Yöntem:** Eylül 2011–Mart 2014 döneminde laboratuvarımızda klinik örneklerden üretilen ve Vitek 2 cihazı (bioMérieux, Fransa) ile test edilen karbapenemlerden herhangi birine duyarlı olmadığı gözlenen *E. coli* (n=43) ve *Klebsiella* (*K. pneumoniae*: n=145; *K. oxytoca*: n=2) kökenleri çalışmaya alınmıştır. Kökenlerin karbapenemlere (ertapenem, imipenem ve meropenem) duyarlılıkları EUCAST disk difüzyon yöntemiyle test edilmiş, ayrıca tüm kökenler IMP, VIM, NDM-1, KPC ve OXA-48 genleri için tasarlanmış multipleks polimeraz zincir tepkimesi (PZT) testi ile çalışılmıştır.

**Bulgular:** Test edilen 190 köken içerisinde 46 köken (*E. coli*: n=15; *K. pneumoniae*: n=30; *K. oxytoca*: n=1) her üç karbapenem diski ile duyarlı sonuçlar vermiş, bunların 40'ı multipleks PZT ile negatif bulunurken, altı *K. pneumoniae* kökeninde OXA-48 geni pozitif bulunmuştur. Karbapenem direnci doğrulanmış 144 kökenden OXA-48 geni 107 (%74.3) (*E. coli*: n=15; *K. pneumoniae*: n=91; *K. oxytoca*: n=1), NDM-1 geni 24 (%16.7) kökenden (*E. coli*: n=4; *K. pneumoniae*: n=20), VIM ve KPC genleri birer *K. pneumoniae* kökeninde pozitif saptanmış, IMP geni pozitifliğine rastlanmamıştır (Tablo).

**Sonuç:** Çalışmamızda karbapenem direncine yol açan genler sırasıyla, OXA-48 ve NDM-1 olarak saptanmıştır. NDM-1 geni pozitif 24 kökenin İstanbul'da dokuz farklı merkezden, Kocaeli ve Adana'dan gönderilen örneklerden üretilmesi, NDM-1'in İstanbul'da geniş yayılım gösterdiğine ve Türkiye çapında yayıldığına işaret etmektedir. Ağustos 2012'de Bursa kaynaklı bir örnekte üreyen *K. pneumoniae* kökeninde saptadığımız KPC geninin DNA dizileme yöntemi ile KPC-2 geni ile uyumlu olduğu gösterilmiştir ve bildiğimiz kadarıyla bu Türkiye'deki KPC geni pozitif ilk *K. pneumoniae* olgusudur.

**Anahtar Kelimeler:** Karbapenemaz, *K. pneumoniae*, KPC

**Tablo 1.** EUCAST disk difüzyon yöntemi ile karbapeneme dirençli bulunan *E. coli* ve *Klebsiella* kökenlerinde (n = 144) dirençten sorumlu karbapenemaz geni varlığının multipleks polimeraz zincirleme tepkimesi ile araştırılması

		<b>bla<sub>OXA-48</sub></b>	<b>bla<sub>NDM-1</sub></b>	<b>bla<sub>IMP</sub></b>	<b>bla<sub>VIM</sub></b>	<b>bla<sub>KPC</sub></b>	<b>Negatif</b>
<b><i>E. coli</i></b>	(n = 28)	15 (%53.6)	4 (14.3)	-	-	-	9 (%32.1)
<b><i>K. pneumoniae</i></b>	(n = 115)	91 (%79.1)*	20 (%17.4)	-	1 (%0.9)	1 (%0.9)	8 (%7.0)
<b><i>K. oxytoca</i></b>	(n = 1)	1	-	-	-	-	-
<b>Toplam</b>	(n = 144)	107 (%74.3)	24 (%16.7)	-	1 (%0.7)	1 (%0.7)	17 (%11.8)

\* OXA-48 geni beş *K. pneumoniae* kökeninde NDM-1 geni ile, bir *K. pneumoniae* kökeninde VIM geni ile birlikte pozitif saptanmıştır.

## **Yazar Dizini**



## A

- Açıklol, Nimet **214**  
Ağuş, Neval **164, 166**  
Akalin, H. Erdal **3**  
Akgül, Öncü **226**  
Aki, Esin **224**  
Akin, Ahmet **151**  
Akkaya, Oya **185, 189, 191, 193, 197, 199**  
Aksu, Burak **226**  
Aktan, A. Özdemir **39**  
Aktar, Gülseren Samancı **130**  
Aktaş, Gülseren **111**  
Akyar, Işın **227**  
Alagöz, Gülcün Eraslan **203**  
Alp, Feyza **148**  
Altanlar, Nurten **151**  
Altındış, Mustafa **162, 163, 204, 205, 206, 207**  
Ansoy, Ayşe **157**  
Aşık, Gülşah **162, 165, 196**  
Atalay, Mustafa Altay **133, 136**  
Ataman, Merve **195**  
Avcıküçük, Havva **117, 120**  
Ayaydın, Zeynep **130**  
Aydemir, Özlem Akkaya **205**  
Aydemir, Şöhret **23, 121, 152, 180, 184, 186**  
Ayhan, Yüce **201, 202**  
Aysuna, Fatma Nilgün **200**  
Aytaç, Asiye Altınöz **138, 140, 142, 144, 153, 210**

## B

- Bahçeci, İllkay **155**  
Bakır, Mustafa **217**  
Balci, Canan **160**  
Balci, Fatma Kamer Varıcı **180, 184**  
Bayram, Arzu **164, 166**  
Baysallar, Mehmet **163**  
Berk, Elife **132, 133, 136, 139**  
Beyaz, Elif **118**  
Bilgi, Esmâ Akkoyun **209**  
Bilgin, Merve **129**  
Bilman, Fulya Bayındır **130, 145, 168, 188**  
Bogaerts, Pierre **43**

- Bozdoğan, Bülent **160**  
Bozkurt, Merve Eylül **151**  
Ceylan, Ayşenur **128**

## C-Ç

- Çağatay, Mustafa **216**  
Çakar, Aslı Ünsal **216**  
Çakırlar, Fatma Köksal **209**  
Çalık, Fatma **161**  
Çalışkan, Emel **138, 140, 142, 144, 153, 210**  
Çelik, Berna Özbek **171**  
Çerikçioğlu, Nilgün **78, 177**  
Çetinkaya, Özgül **165, 196**  
Çiçek, Aysegül Çopur **125, 127, 134, 161, 175**  
Çiftçi, İhsan Hakkı **204, 207**  
Çilli, Feriha **152, 180, 184, 186**  
Çöplü, Nilay **66, 216**

## D

- Dağı, Hatice Türk **147, 148**  
Dalkılıç, Esra **200**  
Davandeh, Iskandar **121**  
Dede, Ayşe **140, 153, 210**  
Delice, Safiye **132, 133, 136, 139**  
Demir, Hülya **112**  
Demir, Cengiz **162**  
Demiralay, Tayfur **205**  
Demiray, Tayfur **204, 206, 207**  
Demir, Cengiz **165, 196**  
Demirel, Aslıhan **157**  
Derbentli, Şengül **111**  
Derici, Yeşer Karaca **164, 166**  
Devrim, İlker **201, 202**  
Doğantekin, Esin **113, 114**  
Doğantekin, Akif **113, 114**  
Dolapçı, Iştar **172, 187**  
Doymaz, Mehmet Ziya **128, 182**  
Döşler, Sibel **129, 143, 174, 195, 198**  
Duran, Nizami **179, 203**  
Dündar, Devrim **181, 208**  
Düzgün, Azer Özad **125, 127, 161, 175**

## E

Er, Halil **162**  
Eraç, Bayrı **121**  
Erçal, Barış Derya **132, 133, 136, 139**  
Erdem, Gül **216**  
Esen, Ayşe Banu **183**

## G

Garip, Refiye **200**  
Gelmez, Gülşen Altınkanat **217, 219, 224**  
Genç, Semra Kavas **216**  
Gençtürk, Zeynep **187**  
Gökçeagaçlı, Cemile **210**  
Gönüllü, Nevriye **209**  
Gülây, Zeynep **18**  
Gülfidan, Gamze **201, 202**  
Gülseren Aktaş **111**  
Gültekin, Nazmi **159**  
Gültepe, Bilge **128, 182**  
Gümüüş, Abdullah **156**  
Güneş, Hayati **156**  
Güney, Nilşen **209**  
Güngörürler, Eda **227**  
Gür, Deniz **216**  
Gürbüz, Burçak **200**  
Gür, Deniz **46, 149**  
Gürer, Ümran Soyoğul **200**  
Güven, Gülsüm Biten **140, 153, 210**  
Güven, Nihal **115**  
Güven, Tümer **153, 210**  
Güvenç, Hülya İren **185, 189, 191, 193, 197, 199**  
Güven, Gülsüm Biten **138, 142, 144**  
Güzelant, Asuman **185, 189, 191, 193, 197, 199**  
Güzel, Çağla Bozkurt **195**

## H

Hancı, Sevgi Yılmaz **164, 166**  
Hasdemir, M. Ufuk **25, 219, 224**

## I-İ

İraz, Meryem **128, 161, 175, 182**  
İlki, Arzu **221, 223**

İnan, Neşe **143, 157**  
İnci, Gözde **195**  
İnci, Melek **179, 203**

## K

Kaplan, Esra **159**  
Kara, Emel Mataracı **171**  
Karaaslan, Elif **198**  
Karaaslan, Ayşe **217**  
Karaaslan, Elif **174**  
Karacagil, Kasım **139**  
Karadeli, Ümit **213**  
Karahan, Zeynep Ceren **172, 187**  
Karakeçe, Engin **204, 206, 207**  
Karatuna, Onur **48, 227**  
Karauz, Murat **132, 133, 136, 139**  
Kaş, Elif **138, 140, 142, 144, 153, 210**  
Kaşkatepe, Banu **117, 120, 137**  
Kavak, Mehmet **117, 120**  
Kaya, Deniz Ece **227**  
Kaya, Meltem **217**  
Kaya, Şafak **145**  
Kaya, Esmâ Gündüz **139**  
Kaya, Meltem **177**  
Kaya, Meral **185, 189, 191, 193, 197, 199**  
Keçeli, Sema **181, 208**  
Kepenekli, Eda **217**  
Keşli, Recep **165, 196**  
Kılıç, Abdullah **163**  
Kılıç, Hüseyin **132, 133, 136, 139**  
Kılınç, Çetin **203**  
Kiraz, Nuri **209**  
Kiraz, Aslı **212, 213, 214, 215**  
Kocagöz, Tanıl **14, 227**  
Kocagöz, Sesin **227**  
Kocuk, Meryem **183**  
Koç, Dinçer **132**  
Koçman, Emine **152, 186**  
Korkut, Cafer **183**  
Korten, Volkan **40**  
Köksal, İftihar **36**  
Köroğlu, Mehmet **204, 205, 206, 207**



Kurt, Ömer **156**  
Kurtgöz, Şeyda Özarıslan **203**  
Kurtoglu, Muhammet Güzel **185, 189, 191, 193, 197**  
Küçükates, Emine **159**

## **M**

Maçın, Salih **112, 149**  
Mamçu, Dilek **157**  
Merdan, Deniz Güneşer **224**

## **O-Ö**

Ocak, Merve **179**  
Okullu, Sinem Öktem **227**  
Onur, Arzu **130, 145, 168**  
Onurdağ, Fatma Kaynak **115**  
Opuş, Ayşegül **185, 189, 191, 193, 197, 199**  
Oruç, Yeliz **202**  
Öcal, Duygu **172, 187**  
Öncül, Mahmut **209**  
Öncül, Oral **70**  
Öngen, Betigül **94**  
Ötüük, Gülten **129, 143**  
Özbek, Ahmet **204, 205, 206, 207**  
Özdemir, Emine Güngör **183**  
Özden, Özben **149**  
Özen, Hasan **112**  
Özer, Burçın **179, 203**  
Özgümüş, Osman Birol **155, 175**  
Özkurt, Şeyma **216**  
Özküttük, Nuri **88**  
Özmen, Büşra Betül **187**  
Özmen, Hilal **170**  
Özsoy, Sevim **217, 221, 223**  
Öztürk, Şükran **137**

## **P**

Palandüz, Şükrü **200**  
Parkan, Ömür Mustafa **132, 133, 136, 139**  
Paşa, Özgür **203**  
Pehlivanoglu, Filiz **124**  
Pilancı, Kezban Nur **157**

## **R**

Renders, Duygu Perçin **132, 133, 136, 139**

## **S-Ş**

Saltoğlu, Neşe **6**  
Sandallı, Cemal **125, 127, 134, 161, 175**  
Saral, Ayşegül **134, 161, 175**  
Sargın, Mümin **215**  
Sipahi, Kenan **201**  
Sirekbasan, Leyla **170**  
Sorguç, Yelda **201, 202**  
Soysal, Ahmet **217**  
Sönmez, Emine **157**  
Söyletir, Güner **59, 217, 219, 221, 223, 226**  
Süzük, Serap **117, 120**  
Şahin, Meyha **124**  
Şamlıoğlu, Pınar **164, 166**  
Şanlı, Canan **136**  
Şaylan, Ezgi Gözün **170**  
Şen, Hatice **170**  
Şener, Azize Yaman **200**  
Şener, Burçın **32**  
Şengöz, Gönül **124, 183**  
Şengün, Şehri **159**  
Şimşek, Hüsnüye **62**  
Şirin, M. Cem **164, 166**

## **T**

Tamer, Gülден Sönmez **181, 208**  
Tekeli, Alper **172, 187**  
Tekin, Satı Zeynep **212, 213, 214, 215**  
Terzi, Huseyin Agah **205**  
Thomson, Susan **75**  
Tınaz, Gülgün Boşgelmez **226**  
Timur, Demet **132, 133, 136, 139**  
Topkaya, Aynur Eren **156**  
Toprak, Nurver Ülger **226**  
Tosun, Ayşe İstanbullu **170**  
Tulumoglu, Şener **201**  
Tuncer, İnci **147, 148**  
Tuñçkanat, F. Ferda **76**  
Turhanoglu, Mine **130, 145, 168, 188**

Tünger, Alper **152, 180, 184, 186**

Tüysüz, Mayram **143, 157**

Tüzüner, Uğur **180, 186**

## **U-Ü**

Uğur, Ayşe Rüveyda **147**

Ünüböl, Nihan **227**

Ünver, Ahmet **212, 213, 214, 215**

## **V**

Vural, Ahmet **212, 213, 214, 215**

## **Y**

Yağan, Sebahat **133**

Yalçın, İsmail **224**

Yaşar, Nevbahar **202**

Yazıcı, Vesile **160**

Yıldız, İlkay **224**

Yıldız, Derya **183**

Yıldız, Sulhiye **137**

Yılmaz, Mesut **170**

Yılmaz, Yakut Akyön **112**

Yılmaz, Mesut **171**

Yılmaz, Nisel **164, 166**

Yılmaz, Yakut Akyön **149**

Yoldaş, Özlem **165, 196**

Yüce, Aysel **112**

Yüksekkaya, Şerife **185, 189, 191, 193, 197, 199**



EUCAST



**BD Phoenix** EUCAST'e valide ve hazır

**BD Phoenix** - Bruker MALDI entegre çözüm



Helping all people  
live healthy lives.