

**BAŞKENT ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
TİBBİ MİKROBİYOLOJİ ANABİLİM DALI
TİBBİ MİKROBİYOLOJİ TEZLİ YÜKSEK LİSANS PROGRAMI**

***ESCHERİCHİA COLİ VE KLEBSİELLA PNEUMONİAE*
İZOLATLARINA KARŞI PLAZOMİSİN VE DİĞER
AMİNOGLİKOZİDLERİN ETKİNLİKLERİNİN KARŞILAŞTIRILMASI**

HAZIRLAYAN

GİZEM İNCE

YÜKSEK LİSANS TEZİ

ANKARA - 2021

**BAŞKENT ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
TIBBİ MİKROBİYOLOJİ ANABİLİM DALI
TIBBİ MİKROBİYOLOJİ TEZLİ YÜKSEK LİSANS PROGRAMI**

***ESCHERİCHİA COLİ VE KLEBSİELLA PNEUMONİAE*
İZOLATLARINA KARŞI PLAZOMİSİN VE DİĞER
AMİNOGLİKOZİDLERİN ETKİNLİKLERİNİN KARŞILAŞTIRILMASI**

HAZIRLAYAN

GİZEM İNCE

YÜKSEK LİSANS TEZİ

TEZ DANIŞMANI

DR. ÖĞR. ÜYESİ HASAN CENK MİRZA

ANKARA - 2021

BAŞKENT ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı Tıbbi Mikrobiyoloji Tezli Yüksek Lisans Programı çerçevesinde Gizem İNCE tarafından hazırlanan bu çalışma, aşağıdaki jüri tarafından Yüksek Lisans Tezi olarak kabul edilmiştir.

Tez Savunma Tarihi: 9/07/2021

Tez Adı: *Escherichia coli* ve *Klebsiella pneumoniae* İzolatlarına Karşı Plazomisin ve Diğer Aminoglikozidlerin Etkinliklerinin Karşılaştırılması

Tez Jüri Üyeleri (Unvanı, Adı - Soyadı, Kurumu)

İmza

ONAY

Enstitü Müdürü

Tarih: ... / ... /

BAŞKENT ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
YÜKSEK LİSANS TEZ ÇALIŞMASI ORİJİNALLİK RAPORU

Tarih: 31/07/2021

Öğrencinin Adı, Soyadı: Gizem İNCE

Öğrencinin Numarası:

Anabilim Dalı: Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı

Programı: Tıbbi Mikrobiyoloji Tezli Yüksek Lisans Programı

Danışmanın Unvanı/Adı, Soyadı:

Tez Başlığı: *Escherichia coli* ve *Klebsiella pneumoniae* İzolatlarına Karşı Plazomisin ve Diğer Aminoglikozidlerin Etkinliklerinin Karşılaştırılması

Yukarıda başlığı belirtilen Yüksek Lisans tez çalışmamın; Giriş, Ana Bölümler ve Sonuç Bölümünden oluşan, toplam 52 sayfalık kısmına ilişkin, 31/07/2021 tarihinde şahsım/tez danışmanım tarafından Turnitin adlı intihal tespit programından aşağıda belirtilen filtrelemeler uygulanarak alınmış olan orijinallik raporuna göre, tezimin benzerlik oranı %8'dir. Uygulanan filtrelemeler:

1. Kaynakça hariç
2. Alıntılar hariç
3. Beş (5) kelimedenden daha az örtüşme içeren metin kısımları hariç

“Başkent Üniversitesi Enstitüleri Tez Çalışması Orijinallik Raporu Alınması ve Kullanılması Usul ve Esaslarını” inceledim ve bu uygulama esaslarında belirtilen azami benzerlik oranlarına tez çalışmamın herhangi bir intihal içermediğini; aksinin tespit edileceği muhtemel durumda doğabilecek her türlü hukuki sorumluluğu kabul ettiğimi ve yukarıda vermiş olduğum bilgilerin doğru olduğunu beyan ederim.

Öğrenci İmzası:

ONAY

Tarih: 31/07/2021

Öğrenci Danışmanı Unvan, Ad, Soyad, İmza:

TEŞEKKÜR

Tez çalışmamın her aşamasında bana desteğini ve katkılarını hiçbir zaman esirgemeyen, bilgi ve deneyimlerinden her zaman faydalandığım ve tezimin her aşamasını detaylarıyla özen ve titizlikle takip ederek çok büyük emek veren değerli tez danışman hocam, Dr. Öğr. Üyesi Hasan Cenk MİRZA' ya sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Yüksek lisans eğitimim boyunca bana yol gösteren, eğitimimde emek harcayan ve desteği ile her zaman yanımda olan çok kıymetli Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı Başkanı Sayın Prof. Dr. Ahmet Celal BAŞUSTAOĞLU' na teşekkürü bir borç bilirim.

Bir mikrobiyolog olarak yetişebilmem için çaba harcayan ve bilgilerini benimle tereddütsüz paylaşan hocalarım, Prof. Dr. Seyyal ROTA, Dr. Öğr. Üyesi Aylin ÜSKÜDAR GÜÇLÜ ve Dr. Öğr. Üyesi Aylin ALTAY KOÇAK' a çok teşekkür ederim. Çalışmamın moleküler bölümünde bilgi ve deneyimlerini benimle paylaşan, bu süreçte gerek akademik anlamda gerekse manevi olarak elinden gelen desteği gösteren ve sabırla öğreten çok değerli hocam, Dr. Öğr. Üyesi Aylin ÜSKÜDAR GÜÇLÜ' ye ayrıca çok teşekkür ederim.

Tezimin laboratuvar deneyleri için izolat desteği sağlayan başta Prof. Dr. Hikmet Eda ALIŞKAN ve Uzm. Dr. Hatice Hale GÜMÜŞ olmak üzere Başkent Üniversitesi Adana Dr. Turgut Noyan Uygulama ve Araştırma Merkezi Mikrobiyoloji Laboratuvarları çalışanlarına da çok teşekkür ederim. Ayrıca, araştırmamın istatistiksel analizleri bölümünde bizden yardımlarını esirgemeyen hocamız, Prof. Dr. Meriç YAVUZ ÇOLAK' a teşekkürlerimi sunuyorum. Ek olarak laboratuvar deneylerinde sağladığı destek ve katkısı için Murat URAL' a teşekkür ederim.

Son olarak değerli anne ve babam Fatma-Muzaffer İNCE' ye, ve sevgili nişanlım Murat CEVİZ' e; endişelerimi sabırla, mutluluklarımı ise benimle aynı heyecanda paylaşıp bu süreçte her daim yanımda oldukları için sonsuz teşekkür ederim.

ÖZET

İNCE G. *Escherichia coli* ve *Klebsiella pneumoniae* İzolatlarına Karşı Plazomisin ve Diğer Aminoglikozidlerin Etkinliklerinin Karşılaştırılması. Başkent Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Tıbbi Mikrobiyoloji Tezli Yüksek Lisans Programı, Ankara, 2021.

Enterobacteriaceae ailesi üyesi olan *Escherichia coli* ve *Klebsiella pneumoniae* insanlarda çok çeşitli hastalıklara neden olabilen, tıbbi önemi olan mikroorganizmalardır. Genişlemiş spektrumlu-beta laktamaz (GSBL) üreten *Enterobacteriaceae* ve karbapenem dirençli *Enterobacteriaceae* günümüzde önemli bir toplum sağlığı tehdidi haline gelmiş olup, Dünya Sağlık Örgütü (DSÖ)'nün 'acil olarak yeni antibiyotiklerin geliştirilmesi gereken bakteriler' listesinde bulunmaktadır. Plazomisin, çoğu aminoglikozid modifiye edici enzimden etkilenmeyen yeni bir aminoglikozid olup, Food and Drug Administration (FDA) tarafından 2018 yılında onaylanmıştır. Bu çalışmanın amacı GSBL üretmeyen (n=60), GSBL üreten (n=60) ve karbapenem dirençli [n=60 (*bla*_{OXA-48} saptanan 31 *K. pneumoniae* ile 15 *E. coli*, *bla*_{NDM} saptanan 11 *K. pneumoniae*, *bla*_{OXA-48} ve *bla*_{NDM} birlikte saptanan 3 *K. pneumoniae*)] *E. coli* ve *K. pneumoniae* klinik izolatlarından oluşan 180 bakteriye karşı plazomisin ve iki diğer aminoglikozid antibiyotiğin (gentamisin ve amikasin) in vitro etkinliklerini karşılaştırmaktır. İzolatlarda GSBL varlığının araştırılması amacıyla kombinasyon disk testi; karbapenem direncinin saptanması amacıyla imipenem, meropenem ve ertapenem disk difüzyon testi kullanılmıştır. Karbapenem direnci saptanan izolatlarda karbapenemaz geni varlığı polimeraz zincir reaksiyonu (PZR) yöntemiyle araştırılmıştır. İzolatların gentamisin, amikasin ve plazomisin minimum inhibitör konsantrasyon (MİK) değerlerinin saptanması için gradiyent difüzyon yöntemi kullanılmıştır. GSBL üreten ve GSBL üretmeyen izolatların tamamı plazomisine duyarlı bulunmuştur. GSBL üretmeyen izolatların tamamı amikasine duyarlı bulunmuştur. Gentamisine duyarlılık oranı GSBL üretmeyen izolatlarda %96,7, GSBL üreten izolatlarda %68,3 bulunmuştur. Karbapenem dirençli izolatlardaki gentamisin, amikasin ve plazomisin duyarlılık oranı; karbapenem duyarlı izolatlarla kıyasla anlamlı olarak düşük bulunmuştur. Karbapenem dirençli izolatlardaki plazomisin duyarlılık oranı (%71,7), aynı izolat grubundaki gentamisin (%45) ve amikasin ['Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI), 2020' kriterlerine göre %56,7; 'European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing (EUCAST), 2021' kriterlerine göre %51,7] duyarlılık oranlarından

anlamli olarak yu'ksek bulunmuştur. Karbapenem dirençli *K. pneumoniae* izolatlarında saptanan gentamisin, amikasin ve plazomisin duyarlılık oranları (gentamisin için %35,6; amikasin için CLSI kriterlerine göre %44,4, EUCAST kriterlerine göre %37,8; plazomisin için %64,4); karbapenem dirençli *E. coli* ile kıyaslandığında (gentamisin için %73,3, amikasin ve plazomisin için %93,3) anlamli olarak düşük bulunmuştur. Sadece *bla_{NDM}* geni saptanan izolatlar arasında saptanan gentamisin, amikasin ve plazomisin duyarlılık oranları; sadece *bla_{OXA-48}* geni saptanan izolatlardan düşük bulunmuş; fakat oranlar arasındaki fark istatistiksel olarak anlamli bulunmamıştır. Tüm izolatlar göz önüne alındığında; 180 izolatın 163' (%90,6) plazomisine duyarlı olarak saptanmıştır. Sonuç olarak plazomisin, *K. pneumoniae* ve *E. coli* izolatlarına karşı gentamisin ve amikasinden daha yu'ksek in vitro etkinlik göstermiştir.

Anahtar Kelimeler: Plazomisin, amikasin, gentamisin, *K. pneumoniae*, *E. coli*

Bu alışma Başkent Üniversitesi Tıp ve Sağlık Bilimleri Araştırma Kurulu tarafından onaylanmış (Proje no: DA19/29) ve Başkent Üniversitesi Araştırma Fonunca desteklenmiştir.

ABSTRACT

INCE G. Comparison of Activity of Plazomicin and Other Aminoglycosides Against *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae* Isolates. Baskent University, Health Sciences Institute, Department Of Medical Microbiology, Medical Microbiology Master's Program with Thesis, Ankara, 2021.

The members of *Enterobacteriaceae*, *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae*, are medically important bacteria which can cause different types of diseases in humans. Today, extended-spectrum β -lactamase (ESBL)-producing *Enterobacteriaceae* and carbapenem-resistant *Enterobacteriaceae* have become important threats and are among the list of World Health Organization (WHO) for which new antimicrobials are urgently needed. Plazomicin is a new aminoglycoside which is not affected by most *aminoglycoside modifying* enzymes and was approved by Food and Drug Administration (FDA) in 2018. Objective of this study was to compare the in vitro activity of plazomicin and two traditional aminoglycosides (gentamicin and amikacin) against 180 clinical isolates of *K. pneumoniae* and *E. coli*, including subsets of non-ESBL-producing (n=60), ESBL-producing (n=60) and carbapenem-resistant [n=60 (31 *K. pneumoniae* and 15 *E. coli* carrying *bla*_{OXA-48}, 11 *K. pneumoniae* carrying *bla*_{NDM}, 3 *K. pneumoniae* carrying *bla*_{OXA-48} and *bla*_{NDM}) strains. Combination disc method was used for ESBL testing. Antibiotic discs (imipenem, meropenem and ertapenem) were used for detection of carbapenem resistance. PCR was used for detection of carbapenemase genes for isolates which exhibit carbapenem resistance. Gentamicin, amikacin and plazomicin minimum inhibitory concentrations (MICs) for isolates were determined by gradient diffusion method. All non-ESBL-producing and ESBL-producing isolates were susceptible to plazomicin. All non-ESBL-producing isolates were susceptible to amikacin. Gentamicin susceptibility rates among non-ESBL-producing and ESBL-producing isolates were 96.7% and 68.3%, respectively. Gentamicin, amikacin and plazomicin susceptibility rates in carbapenem-resistant isolates were significantly lower than those observed for carbapenem-susceptible isolates. Plazomicin susceptibility rate (71.7%) in carbapenem-resistant isolates were significantly higher than those observed for gentamicin (45%) and amikacin [56.7% and 51.7% according to 'Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI), 2020' and 'European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing (EUCAST), 2021' breakpoints, respectively]. Gentamicin, amikacin and plazomicin susceptibility rates (35.6% for

gentamicin; 44.4% and 37.8% for amikacin according to CLSI and EUCAST breakpoints, respectively; 64.4% for plazomicin) in carbapenem-resistant *K. pneumoniae* were significantly lower than those observed for carbapenem-resistant *E. coli* isolates (73.3% for gentamicin; 93.3% for amikacin and plazomicin). Gentamicin, amikacin and plazomicin susceptibility rates in *bla*_{NDM} carrying isolates were lower than those observed for *bla*_{OXA-48} carrying isolates; but differences between susceptibility rates were not statistically significant. Overall, 163 (90.6%) of 180 isolates were susceptible to plazomicin. In conclusion, plazomicin demonstrated greater in vitro activity than gentamicin and amikacin against *K. pneumoniae* and *E. coli* isolates.

Keywords: Plazomicin, amikacin, gentamicin, *K. pneumoniae*, *E. coli*

This study was approved by Baskent University Institutional Review Board (Project no: DA19/29) and supported by Baskent University Research Fund.

İÇİNDEKİLER

TEŞEKKÜR.....	i
ÖZET.....	ii
ABSTRACT.....	iv
İÇİNDEKİLER.....	vi
TABLolar LİSTESİ.....	viii
ŞEKİLLER LİSTESİ.....	x
SİMGELER VE KISALTMALAR LİSTESİ.....	xi
1.GİRİŞ.....	1
2.GENEL BİLGİLER.....	2
2.1. <i>Enterobacteriaceae</i> Ailesi.....	2
2.1.1. <i>Escherichia coli</i>	4
2.1.1.1.Patogenez ve klinik hastalıklar.....	4
2.1.1.2.Laboratuvar tanımlaması.....	7
2.1.2. <i>Klebsiella pneumoniae</i>	7
2.1.2.1.Patogenez ve klinik hastalıklar.....	8
2.1.2.2.Laboratuvar tanımlaması.....	9
2.2. <i>Enterobacteriaceae</i> ve Beta-Laktam Antibiyotiklere Direnç.....	10
2.2.1.Genişlemiş spektrumlu beta laktamazlar.....	11
2.2.2.AmpC beta laktamazlar.....	12
2.2.3.Karbapenemazlar.....	13
2.3.GSBL Üreten <i>Enterobacteriaceae</i> ve Karbapenem Dirençli <i>Enterobacteriaceae</i> için Yeni Antibiyotik İhtiyacı.....	15
2.3.1.Aminoglikozid grubu antibiyotikler ve plazomisin.....	17
3.GEREÇ ve YÖNTEM.....	20
3.1.Laboratuvarda Kullanılan Gereç ve Malzemeler.....	20
3.1.1.Gereçler.....	20
3.1.2.Besiyerleri, kimyasallar ve kitler.....	21
3.1.3.MİK test stripleri ve antibiyotik diskleri.....	22

3.1.4.Standart kalite kontrol suşları.....	22
3.2.Genişlemiş Spektrumlu Beta-Laktamaz Üretiminin Gösterilmesi.....	22
3.3.Karbapenem Direncinin Saptanması.....	23
3.3.1.Disk difüzyon testi.....	23
3.3.2.Karbapenemaz genlerinin PZR ile saptanması.....	24
3.3.2.1.DNA izolasyonu.....	24
3.3.2.2.Primerler.....	24
3.3.2.3.PZR reaksiyon miksi.....	25
3.3.2.4.Amplifikasyon.....	25
3.3.2.5.PZR ürünlerinin jel elektroforezinde analizi.....	25
3.4.Gentamisin, Amikasin ve Plazomisin Duyarlılıklarının Belirlenmesi.....	26
3.5.İstatistiksel Analiz.....	27
4.BULGULAR.....	28
5.TARTIŞMA.....	40
6.SONUÇ ve ÖNERİLER.....	45
KAYNAKLAR.....	46

TABLolar LİSTESİ

	Sayfa
Tablo 1. Beta-laktamazların sınıflandırılması.....	11
Tablo 2. Dünya Sağlık Örgütü'nün, acilen yeni antibiyotik geliştirmesi gereken patojenler listesi.....	16
Tablo 3. MİK test stripleri, antibiyotik diskleri ve içerikleri.....	22
Tablo 4. Karbapenemlerin <i>Enterobacteriaceae</i> için zon çapı sınır değerler (mm) ve duyarlılık kategorileri (CLSI/EUCAST).....	23
Tablo 5. Gentamisin, amikasin ve plazomisin antibiyotiklerinin <i>Enterobacteriaceae</i> için MİK sınır değerleri (mg/L) ve duyarlılık kategorileri...	27
Tablo 6. Çalışmaya dahil edilen karbapenem dirençli izolatlardaki karbapenemaz genlerinin dağılımı.....	28
Tablo 7. Karbapeneme dirençli izolatların imipenem, meropenem ve ertapenem antibiyotiklerine direnç oranları.....	30
Tablo 8. Çalışmaya dahil edilen <i>K. pneumoniae</i> ve <i>E. coli</i> suşlarının izole edildikleri klinik örnek tipleri.....	31
Tablo 9. GSBL üretmeyen izolatların gentamisin, amikasin ve plazomisine duyarlılıkları.....	33
Tablo 10. GSBL üreten izolatların gentamisin, amikasin ve plazomisine duyarlılıkları.....	33
Tablo 11. Karbapenem dirençli izolatların gentamisin, amikasin ve plazomisine duyarlılıkları.....	34
Tablo 12. Karbapenem duyarlı ve karbapenem gentamisin, amikasin ve plazomisine duyarlılıkları.....	34
Tablo 13. GSBL üretmeyen, GSBL üreten ve karbapenem dirençli izolatların gentamisin, amikasin ve plazomisin için MİK50, MİK90 ve MİK aralığı	

değerleri.....	36
Tablo 14. Farklı karbapenemaz genleri saptanan izolatların gentamisin, amikasin ve plazomisin duyarlılık oranları.....	37
Tablo 15. Farklı aminoglikozid duyarlılık profillerine sahip izolat gruplarında plazomisine duyarlılık oranları.....	38

ŞEKİLLER LİSTESİ

	Sayfa
Şekil 1. Komplike ve komplike olmayan üriner sistem enfeksiyonlarındaki etken mikroorganizmaların dağılımı.....	6
Şekil 2. Plazomisinin kimyasal yapısı.....	18
Şekil 3. A: <i>bla_{NDM}</i> pozitif kontrol; B: <i>bla_{OXA-48}</i> pozitif kontrol; C: <i>bla_{OXA-48}</i> pozitif izolat; D: <i>bla_{NDM}</i> pozitif izolat; F: <i>bla_{NDM}</i> negatif izolat....	29
Şekil 4. Gentamisin, amikasin ve plazomisine dirençli bir <i>E. coli</i> izolatı. Gentamisin, amikasin ve plazomisin MİK: > 256 mg/L.....	35
Şekil 5. Gentamisin, amikasin dirençli; plazomisine duyarlı bir <i>K. pneumoniae</i> izolatı. Gentamisin ve amikasin MİK: 96 mg/L, plazomisin MİK: 0,38 mg/L....	39

SİMGELER VE KISALTMALAR LİSTESİ

AAF	aggregative adherence fimbriae
ABD	Amerika Birleşik Devletleri
Aer	Aerobaktin
bfp	demet oluşturan pili
CDC	Amerika Birleşik Devletleri Hastalık Kontrol ve Önleme Merkezleri
CFA	kolonizasyon faktörü antijenleri
CLSI	Clinical and Laboratory Standards Institute
cps	kapsüler polisakkarit lokusu
DSÖ	Dünya Sağlık Örgütü
EAEC	enteroagregatif <i>E. coli</i>
EAST	ST benzeri toksin
ECA	“Enterobacterial Common Antigen” enterobakteriyel ortak antijen
EDTA	etilendiamin tetra asetik asit
EHEC	enterohemorajik <i>E. coli</i>
EIEC	enteroinvaziv <i>E. coli</i>
EMB	eozin metilen mavisi agar
Ent	enterobaktin
EPEC	enteropatojenik <i>E. coli</i>
EtBr	etidyum bromür
ETEC	enterotoksijenik <i>E. coli</i>
EUCAST	European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing
FDA	Food and Drug Administration
GBS	group B <i>Streptococcus</i>
GSBL	genişlemiş spektrumlu beta-laktamaz
H	flajel antijeni
I	orta düzey duyarlılık
K	kapsül antijeni
KPC	<i>Klebsiella pneumoniae</i> karbapenemaz
LT	ısıya duyarlı toksin
MHA	mueller-hinton agar
MİK	minimum inhibisyon konsantrasyon
mRNA	mesajcı RNA
NDM	new-delhi-metallo beta laktamaz
O	somatik antijen
OXA	oksasilinazlar
PBP	penisilin bağlayan proteinler
PZR	polimeraz zincir reaksiyonu
R	dirençli
rRNA	ribozomal RNA
S	duyarlı
Sal	salmochelin
ST	ısıya dirençli toksin
TBE	tris-borat EDTA tamponu
TSA	triptik soy agar
UPEC	uropatojenik <i>E. coli</i>
ÜSE	üriner sistem enfeksiyonları
VIM	verona integron-encoded metallo beta laktamaz
Ybt	yersiniabaktin

1. GİRİŞ

Enterobacteriaceae ailesi üyesi bakteriler, insanlarda birçok hastalığa neden olabilen ve klinik örneklerden sık izole edilen mikroorganizmalardır. Genişlemiş spektrumlu-beta laktamaz (GSBL) üreten *Enterobacteriaceae* ve karbapenem dirençli *Enterobacteriaceae* günümüzde önemli bir toplum sağlığı tehdidi haline gelmiş olup, bu mikroorganizmalarda beta-laktam antibiyotiklerin yanı sıra diğer antibiyotiklere karşı da dirence neden olan mekanizmalara sıklıkla rastlanmaktadır. Aminoglikozid grubu antibiyotiklere karşı dirençten sorumlu en sık mekanizma olan 'aminoglikozid modifiye edici enzimler'in GSBL üreten *Enterobacteriaceae* ile karbapenem dirençli *Enterobacteriaceae*'da sıklıkla bulunduğu bildirilmektedir. Aminoglikozid modifiye edici enzimler; aminoglikozid yapısında değişikliğe neden olmakta, antibiyotiğin bağlandığı hedefe karşı afinitesini azaltmaktadır. Bu enzimlerin GSBL üreten *Enterobacteriaceae* ile karbapenem dirençli *Enterobacteriaceae*'da sıkça bulunması, aminoglikozidlerin bu mikroorganizmalarla meydana gelen enfeksiyonlardaki rolünü kısıtlayabilmektedir.

Plazomisin yeni geliştirilen bir aminoglikozid olup, aminoglikozid modifiye edici enzimlerden korunmasını sağlayan yapısal modifikasyonlar içermektedir. Bu yeni aminoglikozidin, komplike üriner sistem enfeksiyonlarının tedavisinde kullanımı Food and Drug Administration (FDA) tarafından 2018 yılında onaylanmıştır. *Enterobacteriaceae* ailesi üyeleri olan *Escherichia coli* ve *Klebsiella pneumoniae*, üriner sistem enfeksiyonlarına neden olan en sık gram-negatif basillerdir. Bu çalışmanın amacı çeşitli klinik örneklerden izole edilen GSBL üretmeyen 60 (30 *K. pneumoniae* ve 30 *E. coli*), GSBL üreten 60 (30 *K. pneumoniae* ve 30 *E. coli*), karbapenem dirençli 60 (45 *K. pneumoniae* ve 15 *E. coli*) olmak üzere toplam 180 izolata karşı plazomisin ve diğer iki aminoglikozid grubu antibiyotiğin (gentamisin ve gentamisin) in vitro etkinliklerini karşılaştırmaktır.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. *Enterobacteriaceae* Ailesi

Enterobacteriaceae ailesi kırktan fazla cinsi, yüzlerce türü ve alttürü barındıran klinik öneme sahip Gram negatif basillerin oluşturduğu en büyük topluluktur. *Enterobacteriaceae* ailesi üyeleri sularda, toprakta, bitkilerde; ayrıca insanlar ve birçok hayvanın bağırsak florası da dahil olmak üzere dünya üzerinde yaygın olarak bulunur. *Enterobacteriaceae* ailesinin bazı üyeleri (örn. *Shigella* spp., *Salmonella* serotip Typhi, *Yersina pestis*) insanda her zaman hastalıkla ilişkiliyken, bazı üyeler (örn. *Klebsiella pneumoniae*, *Escherichia coli*) normal florada bulunur ve fırsatçı enfeksiyonlara neden olabilir [1]. Kontamine eller, kontamine su ve yiyeceklerle insanlar arasında kolayca yayılan bu bakteriler horizontal gen transferi yoluyla genetik materyal alma eğilimindedir [2].

İnsanlarda üriner sistem enfeksiyonları, gastrointestinal sistem enfeksiyonları, menenjit, pnömoni, osteomyelit, yara enfeksiyonları, bakteriyemi ve sepsis gibi çok çeşitli enfeksiyonlara neden olabilirler [3]. Üriner sistem enfeksiyonlarının %70'inden fazlasından ve tüm bakteriyemilerin yaklaşık üçte birinden sorumludurlar [1].

Enterobacteriaceae ailesi içerisindeki bakteriler yaklaşık 2-3 µm boyunda ve 0,3-1 µm genişliğinde mikroorganizmalardır [3]. Bu aile içerisindeki bakteri cinsleri biyokimyasal özellikleri, antijenik yapıları, DNA-DNA hibridizasyonu ve 16S rRNA sekanslarına göre sınıflandırılmıştır [1].

Enterobacteriaceae ailesindeki bakterilerin ortak özellikleri: [3,4]

- Gram-negatif boyanırlar.
- Fakültatif anaeropturlar.
- Spor oluşturmazlar.
- Glukozu fermente ederler.
- Nitratı nitrite indirgerler.
- Oksidaz testleri negatiftir (*Plesiomonas* hariç).
- Katalaz enzimi üretirler.
- Zenginleştirici bir katkı içermeyen birçok besiyerinde kolayca üreyebilirler.

Enterobacteriaceae ailesindeki bakterilerde ECA (Enterobacterial Common Antigen) adlı antijen bulunur ve hücre duvarındaki lipopolisakkarit tabakanın derin kısımlarında konumlanmış ortak bir antijendir. Hücre duvarının dış tarafında somatik antijen (O) bulunur. Kamçısı olan türlerde flajel antijeni (H) bulunur. Kapsül antijeni (K) ise bazı bakterilerde hücre duvarını çevreleyen belirgin kapsül katmanında; bazılarında ise az miktarda yüzey maddesi şeklinde bulunur [3]. *Enterobacteriaceae*'nın serolojik sınıflamasında bu 3 majör antijen grubu (O, H ve K antijenleri) esas alınır [1]. O antijeni aynı zamanda, gram-negatif bir hücre duvarı yapısına sahip olan *Enterobacteriaceae*'daki lipopolisakkarit tabakasının 3 ana bileşeninden birisidir. Lipopolisakkaritler O antijeni, kor polisakkaridi ve lipid A bileşenlerinden oluşur. Lipid A, lipopolisakkaritlerin endotoksin aktivitesinden sorumludur [5].

Enterobacteriaceae ailesi üyelerinde birçok virülans faktörü tanımlanmış olup bunların bazıları tüm cinslerde ortak olarak bulunmaktadır. Bazılarıysa belirli virulan suşlara özgüdür. Tüm cinsler için ortak olan virülans faktörleri endotoksin, kapsül, antijenik faz varyasyonu, tip 3 sekresyon sistemleri, çoğalma faktörlerinin elde edilmesi, serumun öldürücü etkisine karşı direnç ve antimikrobiyal direnç olarak sıralanabilir [1]:

Endotoksin: Gram-negatif bakterilerdeki lipopolisakkarit tabakası endotoksin olarak da isimlendirilir [1]. Endotoksin hücre duvarının bir parçası olduğu için bakteri ölümü ile açığa çıkar. Ateş, lökositöz, kompleman aktivasyonu, yaygın damar içi koagülasyon, hipoglisemi, hipotansiyon ve şok gelişimine neden olabilir [3].

Kapsül: Kapsül, mikroorganizmayı fagositozdan korur [3]. Kapsül antijenleri, antikorların bakteriye bağlanmasına engel olur. Ayrıca kapsül antijenleri zayıf immünojenik özellik gösterirler ve komplemanı yeteri kadar aktive etmezler [1].

Antijenik faz varyasyonu: Somatik antijen (O), flajel antijeni (H) ve kapsül antijeninin (K) ekspresyonu mikroorganizmanın kontrolündedir. Bu antijenler dönüşümlü olarak eksprese edilebilir veya hiç eksprese edilmeyebilir. Bu da bakteriyi antikor aracılı hücre ölümünden korur [1].

Tip 3 sekresyon sistemleri: *Salmonella*, *Shigella*, enteropatojenik *E. coli* gibi bazı bakterilerde bulunan tip 3 sekresyon sistemi; ökaryotik konak hücresiyle temas sonrası aktive olur. Enjektör benzeri bir yapı vasıtasıyla bakteri içerisindeki proteinler konak hücre içerisine nakledilir. Nakledilen proteinler konak hücre fonksiyonlarını manipüle edebilir [1,6].

Çoğalma faktörlerinin elde edilmesi: Konak hücre veya dokularda bakteriler çoğalmak için ihtiyaç duyduğu besinleri bulmak zorundadır. Bakterilerin konakta bulunan demiri alarak kullanabilmek için kendi demir bağlayan proteinlerini veya sideroforlarını sentezlemesi buna örnek olarak verilebilir [1].

Serumun öldürücü etkisine karşı direnç: Sistemik enfeksiyonlara neden olabilen virülan bakteriler, konak serumunun öldürücü etkisine karşı sıklıkla dirençlidirler. Kapsül, bakteriyi serumun etkilerine karşı koruyabilir. Bazı diğer faktörler de kompleman bileşenlerinin bakteriye bağlanmasına engel olarak, kompleman aracılı temizleme mekanizmasına karşı bakteriyi koruyabilir [1].

Antimikrobiyal direnç: Yeni antibiyotiklerin kullanıma girmesiyle birlikte mikroorganizmalar bu antibiyotiklere karşı direnç geliştirebilmektedirler. Direnç; plazmidlerle türler, cinsler hatta aileler arasında aktarılabilir [1].

2.1.1. *Escherichia coli*

E. coli, "Bergey's Manual of Systematic Bacteriology" ikinci baskısında yapılmış olan taksonomik sınıflandırmaya göre γ - *Proteobacteria* sınıfının, Enterobacteriales takımının *Enterobacteriaceae* ailesine mensup *Escherichia* cinsi içerisinde yer alan bir bakteri türüdür [7]. *E. coli*, *Escherichia* cinsinin en önemli ve en yaygın üyesi olup insan sindirim sisteminde bulunan Gram-negatif, fakültatif anaerobik basildir. Ayrıca *Enterobacteriaceae* ailesi içerisinde en sık izole edilen mikroorganizmadır [3].

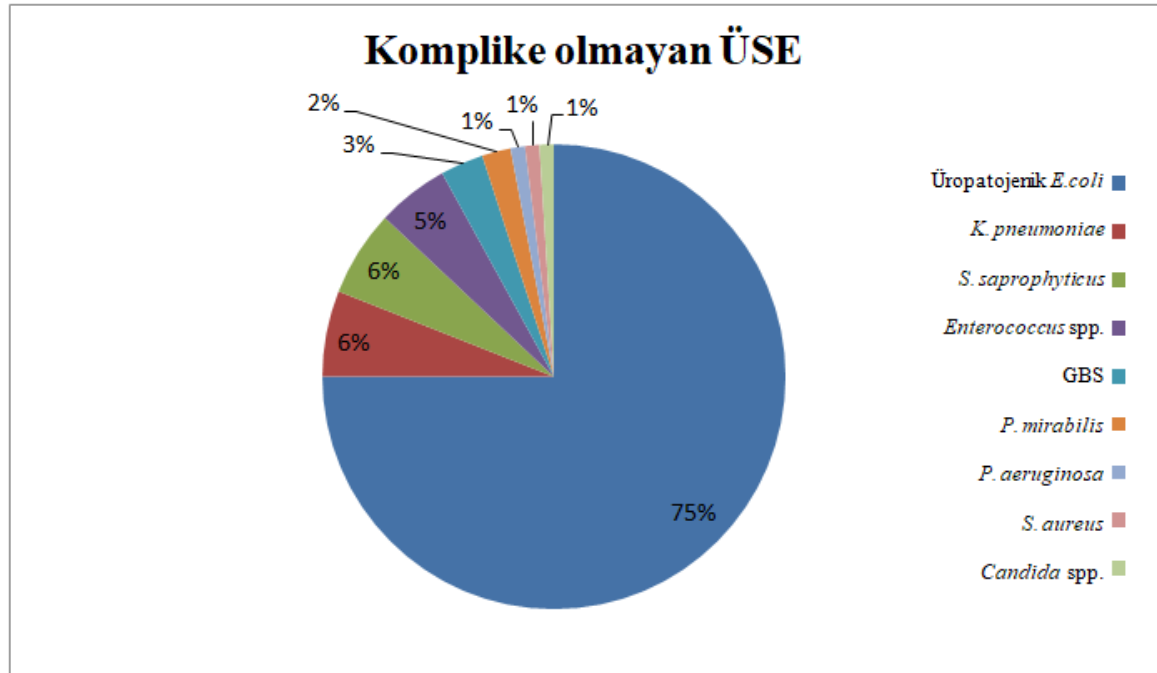
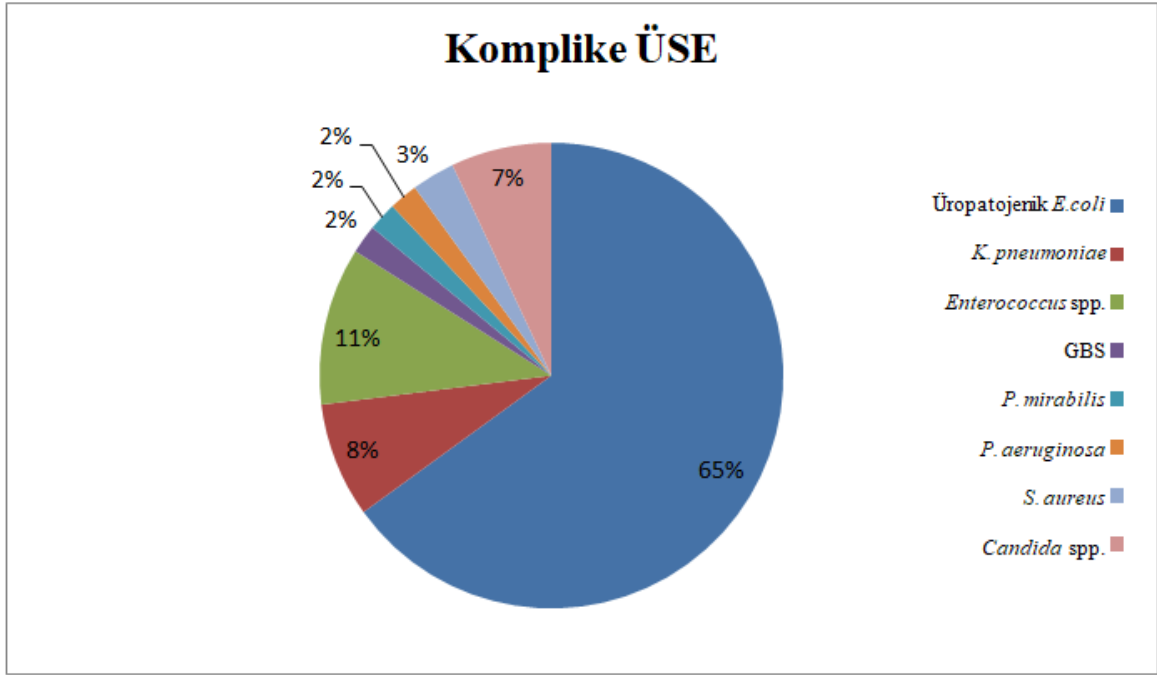
2.1.1.1. Patogenez ve klinik hastalıklar

E. coli'nin meydana getirdiği enfeksiyon hastalıklarının birçoğu konağın kendi mikrobiyal florasından kaynaklanır. Bununla birlikte gastroenterite neden *E. coli* suşları genellikle ekzojen kaynaklıdır [1]. *E. coli* suşları somatik (O), flajel (H) ve kapsül (K) yüzey antijenlerine göre serotiplendirilmektedir [8]. *E. coli* suşlarının birçoğu hastalık oluşturma yeteneğinde olmakla birlikte, bazı serotiplerin virülansı daha yüksektir [1]. *E. coli* O157:H7, hemolitik üremik sendrom ve hemorajik kolite neden olan virülan bir serotiptir [8].

E. coli konakta enfeksiyon oluştururken sırasıyla 'mukozal yzeylerde kolonizasyon, konağın savunma mekanizmalarından korunma, çoğalma ve konakta hasar oluşturma' stratejilerini izler [9]. *E. coli* kaynaklı enfeksiyon hastalıkları genel olarak gastroenterit ve bağırsak dışı enfeksiyonlar olarak ikiye ayrılır [1]. Gastroenterit nedeni olabilecek beş farklı *E. coli* grubu mevcuttur. Enteropatojenik *E. coli* (EPEC), enterotoksijenik *E. coli* (ETEC), enteroagregatif *E. coli* (EAEC), enteroinvaziv *E. coli* (EIEC) ve enterohemorajik *E. coli* (EHEC) [10]. Bu grupların çoğu gelişmekte olan zlkelerde hastalığa neden olurken, EHEC'in Amerika Birleşik Devletleri'nde (ABD) hemolitik zremik sendrom ve hemorajik kolitin znelmi bir nedeni olduğu bilinmektedir [1]. Enteropatojenik *E. coli*'deki 'demet oluşturan pili (bfp)' ve intimin; enterotoksijenik *E. coli*'deki 'kolonizasyon faktzrü antijenleri (CFA)', ısıya duyarlı toksin (LT) ve ısıya dirençli toksin (ST); enteroagregatif *E. coli*'deki 'ST benzeri toksin (EAST1)', bir LT toksin ve 'aggregative adherence fimbriae (AAF); enteroinvaziv *E. coli*'deki 'invaziv plazmid antijeni'; enterohemorajik *E. coli*'deki 'Shiga toksinler' znelmi virzrans faktzrleridir [1,8,9].

E. coli tarafından oluşturulan bağırsak dışı enfeksiyonlar; zriner sistem enfeksiyonları, nozokomiyal pnzmoni, yenidoğan menenjiti, osteomyelit, kolesistit, peritonit ve sepsis olarak sıralanabilir [9]. *E. coli*'nin sepsisli hastalardan en sık izole edilen Gram-negatif basil olduğu bilinmektedir [1].

Enterobacteriaceae ailesi zryeleri zriner sistem enfeksiyonlarının en sık nedeni olup, bu enfeksiyonlarda en sık karşılaşılan etken *E. coli*'dir [10-12]. Şekil 1'de komplike ve komplike olmayan zriner sistem enfeksiyonlarındaki etken mikroorganizmaların dağılımını gzr zlmektedir [13].



Şekil 1. Komplike ve komplike olmayan üriner sistem enfeksiyonlarındaki etken mikroorganizmaların dağılımı (13 no'lu kaynaktan uyarlanmıştır).

Üriner sistem enfeksiyonları erişkinlerde en sık görülen bakteriyel enfeksiyonlardır. Dünya genelinde yıllık olarak yaklaşık 150 milyon üriner sistem enfeksiyonu vakası geliştiği bilinmektedir [12]. *E. coli*'ye bağlı üriner sistem enfeksiyonları sıklıkla, perineal ve üretral bölgeyi kontamine eden bağırsak florası bakterilerinden kaynaklanır [10]. Perineal ve üretral bölgeyi kontamine eden mikroorganizmalar mesaneye geçebilir; böbrek

veya prostat bezine kadar ilerleyebilir. *E. coli* suşlarının çoğu üriner sistem enfeksiyonlarına neden olabilirse de belli serogruplar hastalığa daha sık neden olmaktadır¹. Üriner sistem enfeksiyonu oluşturma potansiyeli yüksek olan *E. coli*'lere 'üropatojenik *E. coli* adı verilir [10]. Adezinler (mannoza dirençli ve mannoza duyarlı adezinler), 'üropatojenik *E. coli*'ler için önemli virülans faktörleri olup, bakterinin mesane hücrelerine bağlanmasını sağlayarak enflamatuvar cevabın ortaya çıkmasına neden olur. Ayrıca epitel hücresine bakterinin girişini kolaylaştırır. Lipopolisakkaritler ile hemolizin gibi sitolitik toksinler de enflamatuvar cevap oluşumuna katkı sağlar. Toksinler hücre hasarına da yol açar. Bakterinin demir alım sistemleri (aerobaktin, enterobaktin, yersiniabaktin), kapsül ve serum direnci diğer virülans faktörleri arasında sayılabilir [9].

2.1.1.2. Laboratuvar tanımlaması

E. coli'nin laboratuvar tanısı için anahtar biyokimyasal reaksiyonlar arasında; indol testinin pozitif, metil kırmızısı testinin pozitif, Voges–Proskauer testinin negatif, sitrat testinin negatif olması sayılabilir. Ayrıca üre, fenilalanin deaminaz ve hidrojen sülfür testleri negatif; lizin dekarboksilaz ve hareket testleri pozitifdir. *E. coli*, Eozin metilen mavisi (EMB) agarda metalik refle veren yeşil/siyah koloniler oluşturur [8].

Gastroenterite neden olan *E. coli* suşlarının tanımlanması genellikle referans laboratuvarlarınca yapılmaktadır. EHEC suşlarının tanımlaması ise referans laboratuvarları dışında da yapılabilir [1]. EHEC enfeksiyonlarının çoğundan O157:H7 serotipi sorumlu olduğu için; bu serotipin laboratuvarda tanımlanması amacıyla sorbitol içeren MacConkey agar kullanılabilir. Diğer *E. coli*'lerin aksine, *E. coli* O157:H7 sorbitolü fermente etmediğinden besiyerinde renksiz koloniler oluşturur. Bu koloniler daha sonra özgül O157 antiserumuyla doğrulanır [8].

2.1.2. *Klebsiella pneumoniae*

Enterobacteriaceae ailesine mensup *Klebsiella* cinsi, 19. yüzyıl mikrobiyologlarından olan Edwin Klebs'in anısına isimlendirilmiştir [14]. *Klebsiella* türleri doğada yaygın olarak bulunmalarının yanı sıra, insan bağırsak florasında da bulunurlar [14]. Bu cinsin en tipik mikrobiyolojik özellikleri, hareketsiz ve polisakkarit yapılu kapsüle sahip mikroorganizmalar olmasıdır. Kapsül, bu bakterilerin in-vitro koşullarda mukoid görünüme sahip koloniler oluşturmalarına neden olur ve serotiplendirmede kullanılır. Sahip

oldukları kapsülün yapısına göre yetmişin üzerinde serotip tanımlanmıştır [10]. *Klebsiella* türleri Amerika Birleşik Devletleri'nde hastane enfeksiyonlarının üçüncü en sık (%9,9) nedenidirler [15]. *K. pneumoniae* klinik örneklerden en sık izole edilen türdür [14]. *K. pneumoniae* ilk olarak, pnömoni nedeniyle hayatını kaybeden bir hastanın akciğerlerinden izole edilmiş ve 1882 yılında Carl Friedlander tarafından tanımlanmıştır [16].

2.1.2.1. Patogenez ve klinik hastalıklar

K. pneumoniae fırsatçı patojen olup; pnömoni, üriner sistem enfeksiyonları, kan dolaşımı enfeksiyonları, yara/cerrahi alan enfeksiyonlarına neden olabilir. Enfeksiyonlar genellikle hastanede yatan veya bağışıklık sistemi baskılanmış hastalarda görülmektedir. Ayrıca 1980 ve 1990'lı yıllarda Asya-Pasifik bölgesi ülkelerinden; toplum kaynaklı ve sağlıklı insanlarda ciddi hastalık oluşturabilen hipervirülan *K. pneumoniae* suşlarıyla meydana gelen enfeksiyonlar rapor edilmeye başlamıştır. Hipervirülan *K. pneumoniae*'ya bağlı enfeksiyonlar genellikle piyogenik karaciğer absesi, endoftalmit, menenjit veya kan dolaşımı enfeksiyonları şeklinde ortaya çıkmaktadır [15].

K. pneumoniae gram-negatif bakterilere bağlı kan dolaşımı enfeksiyonlarının; *E. coli*'den sonra ikinci en sık nedenidir [15]. Ayrıca hem komplike hem de komplike olmayan üriner sistem enfeksiyonlarında etken olarak *E. coli*'den sonra en sık rastlanan gram-negatif basilin *K. pneumoniae* olduğu bilinmektedir (Şekil 1).

Kapsül, pili yapısı, lipopolisakkarit, sideroforlar, allantoin kullanımı (sıklıkla hipervirülan suşlarda), diğer demir alım sistemleri, atım pompaları ve tip VI sekresyon sistemi *K. pneumoniae*'nin sahip olduğu virülans faktörleri arasındadır [15]. Konak yüzey hücrelerine tutunma, bakterinin enfeksiyon oluşturabilmesi için kritik önem sahip bir basamaktır. *K. pneumoniae*, sahip olduğu pili yapıları vasıtasıyla konak dokularına tutunmaktadır. *K. pneumoniae*'da tip 1 ve tip 3 olmak üzere iki çeşit pili bulunmaktadır. Her iki tip pili de bakterinin konağa tutunmasını sağlamakla birlikte, tip 3 pilinin ayrıca biyofilm oluşumunda rol oynadığı bilinmektedir [17]. Kapsül, 'kapsüler polisakkarit lokusunun (cps)' gen ürünleri tarafından sentezlenmekte olup en önemli virülans faktörlerinden birisidir. Bakterinin immün sistem yanıtından kaçışında önemli rol oynar. Lipopolisakkarit yapısı konakta meydana gelen septik şokun en önemli nedenidir [15]. Sideroforlar ise; düşük molekül ağırlıklı, yüksek afiniteli, demir alımına yardımcı moleküllerdir [18]. Enterobaktin (Ent), aerobaktin (Aer), yersiniabaktin (Ybt) ve

salmochelin (Sal) *K. pneumoniae* tarafından üretilen sideroforlara örnektir. Bu sideroforlar, demir alımını sağlamanın ötesinde mikroorganizmanın konakta meydana getirdiği enfeksiyon hastalıklarında farklı rollere sahiptir. *K. pneumoniae*'nin salgıladığı sideroforlar inflamasyona ve bakterinin yayılımına neden olmaktadır [15]. Ayrıca yersiniabaktin (Ybt) solunum yolu enfeksiyonları ile ilişkili bulunmuştur [19]. Diğer bir virülans faktörü olan atım pompası sistemleri, antibiyotikleri hücre dışına atabildikleri için *K. pneumoniae*'daki antibiyotik direnciyle ilişkilidirler. Ayrıca Padilla ve ark. tarafından yürütülen çalışmada *K. pneumoniae*'daki AcrAB atım pompasının farelerde doğal bağışıklık mekanizmalarına karşı direnç oluşturduğu ve pnömoni oluşumunu kolaylaştırdığı gösterilmiştir [20]. Son olarak tip VI sekresyon sistemi; bakteri hücre membranına bağlı şırınga benzeri bir yapı olup çeşitli efektör proteinlerin ökaryotik ve prokaryotik hedef hücrelere aktarılmasını sağlamaktadır [15,21]. Bu sekresyon sisteminin hem ökaryotik hücreleri hem de diğer bakterileri hedef alabildiği gösterilmiş, dolayısıyla hem patogeneizde hem de diğer bakterilerle rekabette rol oynadığı düşünülmüştür. Hsieh ve ark. tarafından yürütülen çalışmada *K. pneumoniae* tip VI sekresyon sisteminin diğer bakterilerle rekabete, insan epitel hücrelerinin invazyonuna, tip 1 pili ekspresyonuna ve in vivo kolonizasyona katkı sağladığı gösterilmiştir [21].

2.1.2.2. Laboratuvar tanımlaması

Mikroskop altında Gram-negatif basil olarak görülen *K. pneumoniae*, *Enterobacteriaceae* ailesi üyesi olduğu için glukozu fermente eder ve oksidaz testi negatiftir. Besiyerinde mukoid koloniler oluşturur [14]. Laktoz fermentasyonu pozitif olduğu için MacConkey ve EMB agar gibi besiyerlerinde oluşturduğu koloniler renklidir. Hareket testi negatiftir. *K. pneumoniae* izolatlarının laboratuvar tanımlamasında kullanılan biyokimyasal özellikleri arasında indol, metil kırmızısı, ornitin dekarboksilaz testlerinin negatif, Voges–Proskauer, sitrat ve üre testlerinin pozitif olması sayılabilir [8].

2.2. *Enterobacteriaceae* ve Beta-laktam Antibiyotiklere Direnç

Beta-laktam grubu antibiyotikler dünya genelinde en sık kullanılan antibiyotiklerdendir [22]. Bu antibiyotikler; yapısında bir azot ve üç karbon bulunan doymuş bir beta-laktam halkası içermektedirler [23]. Penisilinler, sefalosporinler, monobaktamlar ve karbapenemler beta-laktam grubunda yer alan antibiyotiklerdir. Etkilerini, bakterilerdeki hücre duvarı sentezinden sorumlu olan ve penisilin bağlayan proteinler (PBP) olarak da adlandırılan enzimlere bağlanarak gösterirler [22].

Bakterilerde antibiyotiklere karşı temel direnç mekanizmaları:

- 1) Antibiyotiklerin enzimlerle inaktivasyonu veya modifikasyonu,
 - 2) Antibiyotiklerin bakteride hedef aldığı bölgede değişiklik oluşturulması,
 - 3) Dış membran geçirgenliğinin azaltılarak bakteri hücresine antibiyotik girişinin engellenmesi,
 - 4) Dışa atım pompalarıyla bakteri hücresindeki antibiyotiğin dışarı atılması
- şeklinde özetlenebilir [24].

Enterobacteriaceae ailesinde bulunan bakterilerde beta-laktam grubu antibiyotiklere karşı direncin en sık nedeni *bla* genleri tarafından kodlanan, beta-laktamaz adı verilen enzimlerdir. Bu enzimler beta-laktam halkasının hidrolizine ve antibiyotiğin etkisini kaybetmesine neden olmaktadır [25]. İlk beta-laktamaz enzimi 1940 yılında *Bacillus (Escherichia) coli*'de tanımlanmıştır [26].

Günümüzde tanımlanan beta-laktamaz enzimlerinin sayısı 2000'in üzerindedir [27]. Beta-laktamazlar; substrat profillerine (inaktive ettikleri beta-laktam antibiyotiklerin tipleri), inhibitör profillerine (beta-laktamazları inaktive eden bileşiklerin tipleri) ve aminoasit sekans homolojilerine göre farklılık göstermektedirler [22]. Bu farklılıklar beta-laktamazların sınıflandırılmasında kullanılmaktadır. Günümüzde beta-laktamazlar için Ambler ve Bush-Jacoby-Mederios sınıflaması olmak üzere, başlıca iki sınıflama sistemi kullanılmaktadır. Ambler sınıflamasında beta-laktamazlar aminoasit sekans homolojilerine göre (sınıf A, B, C ve D) sınıflandırılmaktadır [27]. Bush-Jacoby-Mederios sınıflamasında ise beta-laktamazlar substrat ve inhibitör profillerine göre (grup 1, 2, 3) sınıflandırılmaktadır [22]. Beta-laktamazların sınıflama şemaları Tablo 1'de gösterilmiştir [28].

Tablo 1: Beta-laktamazların sınıflandırılması (28 no'lu kaynaktan uyarlanmıştır).

GRUP	SINIF	AYIRT EDİCİ SUBSTRATLAR	İNHİBİSYON		ÖRNEK ENZİMLER
			A ¹	B ²	
1	C	Sefalosporinler	-	-	AmpC, ACC
1e	C	Sefalosporinler	-	-	CMY-10
2a	A	Penisilinler	+	-	BlaZ(PCI)
2b	A	Penisilinler, dar spektrumlu sefalosporinler	+	-	TEM-1,TEM-2
2be	A	Geniş spektrumlu sefalosporinler, monobaktamlar	+	-	TEM-3, SHV-2
2br	A	Penisilinler, dar spektrumlu sefalosporinler	-	-	TEM-30,SHV-10
2ber	A	Geniş spektrumlu sefalosporinler, monobaktamlar	-	-	TEM-50
2c	A	Karbenisilin	+	-	PSE-1, CARB-3
2ce	A	Karbenisilin, sefepim	+	-	RTG-4
2d	D	Oksasilin	+/-	-	OXA-1
2de	D	Geniş spektrumlu sefalosporinler	+/-	-	OXA-11
2df	D	Karbapenemler	+/-	-	OXA-23, OXA-48
2f	A	Karbapenemler	-	-	KPC-2, IMI-1
3a	B	Karbapenemler	-	+	NDM-1, VIM-1

¹ Klavulanik asit, sulbaktam veya tazobaktam; ² EDTA.

Enterobacteriaceae ailesi üyelerinin çoğu TEM-1 ve SHV-1 genleri tarafından kodlanan beta-laktamazlar üretmektedir [29]. TEM-1 ve SHV-1 enzimleri penisilinleri ve dar spektrumlu sefalosporinleri hidrolize etmektedir [24]. Geniş spektrumlu (üçüncü ve dördüncü kuşak) sefalosporinler ise bu enzimlerden etkilenmezler.

2.2.1. Genişlemiş spektrumlu beta-laktamazlar

İlk kez 1983 senesinde, bir *K. pneumoniae* izolatında, geniş spektrumlu sefalosporinleri hidrolize eden bir beta-laktamaz enzimi keşfedilmiş ve genişlemiş spektrumlu beta-laktamaz (GSBL) olarak adlandırılmıştır. Günümüzde 200'ün üzerinde GSBL alt tipi olduğu bilinmektedir [29]. Genişlemiş spektrumlu beta-laktamazların çoğu Ambler sınıf A'da bulunmaktadır. TEM-1, TEM-2, SHV-1 gibi genlerde meydana gelen mutasyonlarla oluşan TEM veya SHV tipi enzimler ile CTX-M tipi enzimler, genişlemiş

spektrumlu beta-laktamazların büyük kısmını oluşturur [22]. Genişlemiş spektrumlu beta-laktamazlar; penisilinler, oksiiimino-sefalosporinler (sefotaksim, seftazidim, seftriakson, sefuroksim, sefepim) ve aztreonamı hidrolize eden; fakat sefamisinler (sefoksitin, sefotetan) ve karbapenemleri hidrolize etmeyen enzimlerdir [24]. Genişlemiş spektrumlu beta-laktamazlar başlıca *Enterobacteriaceae* (çoğunlukla *K. pneumoniae*, *K. oxytoca* ve *E. coli*) tarafından üretilmekle birlikte, *Pseudomonas aeruginosa* ve *Acinetobacter baumannii*'de de bulunabilir [29]. Klavulanik asit, tazobaktam ve sulbaktam gibi beta-laktamaz inhibitörleri bu enzimleri inhibe eder. Önceleri SHV-1, TEM-1, TEM-2 gibi genlerde meydana gelen mutasyonlarla oluşan GSBL'lere sık rastlanırken; 2000 yılından sonra CTX-M tipi enzimlerin sıklığı artmaya başlamıştır [22]. GSBL üreten bazı spesifik bakteri klonlarının yayılması ve GSBL üretiminden sorumlu genlerin plazmidler ile aktarılabilmesi, bu enzimlere sahip bakteri prevalansının dünya genelinde artmasına neden olmuştur [30]. Günümüzde CTX-M tipi enzimler, dünya genelinde en sık görülen GSBL'lerdir [22]. CTX-M-15 ve CTX-M-14, en sık rastlanan CTX-M tipi enzimlerdir [22,31]. Genellikle CTX-M tipi enzimlerin sefotaksim ve seftriaksona karşı etkinliği, seftazidimden daha yüksektir.

Genişlemiş spektrumlu beta-laktamaz üreten suşlarla oluşan enfeksiyonlar, uygun antibiyotik tedavisindeki gecikme nedeniyle, GSBL üretmeyen suşlarla oluşan enfeksiyonlara göre daha uzun hastanede kalış süresine ve daha yüksek tedavi maliyetlerine neden olmaktadır. GSBL üreten bakterilerin sebep olduğu enfeksiyonlarda karbapenem grubu antibiyotikler tercih edilmektedir [29].

2.2.2. AmpC beta-laktamazlar

Penisilini parçaladığı rapor edilen ilk bakteriyel enzim, ilk kez 1940 senesinde bir *E. coli* suşunda keşfedilmiş olan AmpC beta-laktamazdır. AmpC beta-laktamazlar, Ambler sınıflamasına göre 'C sınıfı'nda yer alırlar. Genişlemiş spektrumlu beta-laktamazlara benzer şekilde penisilinleri ve üçüncü kuşak sefalosporinleri hidrolize ederler [29]. AmpC beta-laktamazlar, GSBL'lerden farklı olarak sefamisinleri (sefoksitin, sefotetan) de hidrolize ederler. Ayrıca, GSBL'leri inhibe eden klavulanik asit, tazobaktam ve sulbaktam gibi beta-laktamaz inhibitörleri ile inhibe olmazlar [32]. AmpC enzimleri; kloksasilin, oksasilin ve aztreonam ile inhibe olmaktadır [33].

AmpC beta-laktamazlar genellikle bakteri kromozomu üzerinde bulunan genler tarafından kodlanmakla birlikte, plazmid kaynaklı AmpC enzimlerinin prevalansı da giderek artmaktadır [33]. Bununla birlikte, plazmid kaynaklı AmpC enzimlerinin

prevalansı, GSBL enzimlerine kıyasla çok daha düşüktür [29]. *Enterobacteriaceae* ailesi üyeleri içerisinde *Klebsiella* spp., *Salmonella* spp. ve *Proteus* spp.; kromozomal AmpC genleri taşımayan cinslerdir [33]. Bununla birlikte; plazmidler üzerinde bulunan AmpC genleri, plazmidlerle bu bakterilere geçerek dirence neden olabilir.

Bir bakteride AmpC enzimleri, GSBL enzimleri ile birlikte de bulunabilir. Genişlemiş spektrumlu beta-laktamaz üreten bakterilerde olduğu gibi, AmpC üreten bakterilerin neden olduğu enfeksiyonlarda da karbapenem grubu antibiyotikler tercih edilmektedir [29].

2.2.3. Karbapenemazlar

Genişlemiş spektrumlu beta-laktamaz ve AmpC enzimleri üreten *Enterobacteriaceae* prevalansındaki artış, karbapenem grubu antibiyotiklerin kullanımının artmasına neden olmuştur. Karbapenem grubu antibiyotiklerin tüketiminin artmasının bir sonucu olarak karbapenem dirençli suşlar ortaya çıkmıştır [29,31]. Karbapenem dirençli *Enterobacteriaceae* ile meydana gelen enfeksiyonlarda ölüm riski ve hastanede yatış süresinin, duyarlı suşlarla meydana gelen enfeksiyonlara kıyasla daha yüksek olduğu gösterilmiştir [29]. *Enterobacteriaceae* üyelerinde karbapenem direnci iki temel mekanizma sonucu meydana gelmektedir: 1. Bakteride GSBL veya AmpC enzimleriyle birlikte; porinlerde değişiklik veya kayba neden olan mutasyonların bulunması (bu durumda karbapenemlerin bakteri hücrelerine girişi yavaşlamakta ve karbapenemlere afinitesi düşük olduğu bilinen GSBL ve AmpC enzimleri daha kolay etki göstermektedir) [34]. 2. Karbapenemleri hidrolize eden karbapenemaz enzimlerinin üretimi.

Gram-negatif bakterilerde karbapenem direncine neden olan başlıca mekanizma, karbapenemaz enzimlerinin üretimidir [35]. Karbapenemaz enzimi üretimine bağlı gelişen karbapenem direnci, diğer mekanizmaya kıyasla daha büyük bir problemdir. Çünkü karbapenemaz enzimlerini kodlayan genler çoğunlukla plazmidler üzerinde taşınmakta ve bakteriler arasında aktarılabilir [2,35]. Karbapenemaz enzimlerinin diğer çoğu beta-laktam antibiyotiği hidrolize edebilmesi ve karbapenemaz üreten *Enterobacteriaceae*'da diğer antibiyotik gruplarına (florokinolonlar, aminoglikozidler) karşı da dirence neden olan mekanizmaların sıklıkla bulunması nedeniyle, bu bakterilere karşı kullanılacak antibiyotiklerin sayısı azdır [36].

Karbapenemazlar Ambler sınıflamasına göre A, B ve D sınıflarında bulunmaktadır. Sınıf A'da; başlıca KPC (*Klebsiella pneumoniae* karbapenemaz) olmak üzere, bundan çok daha az rastlanılan NMC-A ve SME enzimleri bulunmaktadır [36]. İlk defa 1996 senesinde

ABD'de (Amerika Birleşik Devletleri) bir *K. pneumoniae* izolatında tanımlanan KPC enzimi, *Enterobacteriaceae* ile ilgili tüm dünyada en yaygın görülen karbapenemaz olup, 11 adet varyantı (KPC-2'den KPC-12'ye kadar) tanımlanmıştır [2,36]. KPC-2 ve KPC-3'ün en sık görülen varyantlar olduğu bilinmektedir. Brezilya, ABD, Kolombiya, İtalya, Yunanistan ve Çin, KPC üreten *Enterobacteriaceae* prevalansının yüksek olduğu ülkelerdir [35]. KPC enzimleri penisilinleri, sefalosporinleri, karbapenemleri ve aztreonamı hidrolize edebilmektedir [2]. Bu enzimlerin aktivitesi klavulanik asitle minimal şekilde inhibe olurken, boronik asit bileşikleriyle iyi bir şekilde inhibe olmaktadır [35].

Ambler sınıflamasına göre B sınıfında, metallo-beta-laktamazlar bulunmaktadır. Aktif bölgelerinde çinko iyonu (Zn^{+2}) bulunan metallo-beta-laktamazlar, çinkoya ihtiyaç duyarlar. Klavulanik asit, sulbaktam ve tazobaktam gibi beta-laktamaz inhibitörleriyle inhibe olmazlar [2]. Etilendiamin tetraasetik asit (EDTA) ve dipikolinik asit gibi ajanlarla inhibe olurlar [37]. Metallo-beta-laktamazlar aztreonam haricindeki beta-laktam antibiyotikleri (tüm penisilinler, sefalosporinler, karbapenemler) hidrolize edebilmektedir [2]. VIM (Verona integron-encoded-metallo-beta-laktamaz), IMP (imipenemaz) ve NDM (New-Delhi-metallo-beta-laktamaz) *Enterobacteriaceae*'da tanımlanan başlıca metallo-beta-laktamaz enzimleri olup, bu enzimleri kodlayan genler bakteriler arasında aktarılabilmektedir [2,34].

IMP ilk tanımlanan kazanılmış metallo-beta-laktamaz olup, 1991 senesinde Japonya'da bir *Serratia marcescens* izolatında tanımlanmıştır [37]. Şu ana kadar IMP genlerinin en az 52 varyantı tanımlanmıştır. IMP tipi metallo-beta-laktamaz taşıyan *Enterobacteriaceae* Japonya ve Tayvan'da endemik olarak görülmektedir. Diğer ülkelerden yapılan 'IMP tipi metallo-beta-laktamaz' bildirimlerinin çoğu sporadik salgınlara veya tekil raporlara dayanmaktadır [34].

VIM tipi metallo-beta-laktamazlar ilk defa 1997 senesinde İtalya'da bir *P. aeruginosa* izolatında tanımlanmıştır [2]. Sonrasında, VIM tipi metallo-beta-laktamazlara *Enterobacteriaceae*'da da rastlanmıştır. VIM tipi metallo-beta-laktamaz taşıyan *Enterobacteriaceae*'nın merkezinin Yunanistan olduğu bilinmektedir. Şimdiye kadar dünyadaki çoğu bölgeden 'VIM üreten *Enterobacteriaceae*' ile oluşan salgınlara bildirilmiştir [34].

İlk kez 2008 senesinde, önceden Yeni Delhi-Hindistan'da hastaneye yatış öyküsü olan İsveç'li bir hastadan izole edilen *K. pneumoniae* suşunda tanımlanan NDM enziminin şu ana kadar 16 adet varyantı rapor edilmiştir [34]. En sık görülen varyantın NDM-1 olduğu bilinmektedir [35]. Dünyada birçok ülkede NDM üreten *Enterobacteriaceae*

izolatlarına rastlanmış olmakla birlikte [24], bu izolatlar özellikle Güney Asya (Hindistan, Pakistan, Bangladeş, Nepal) ve bazı Balkan ülkelerinde görülmektedir [35].

Ambler sınıflamasına göre D sınıfında bulunan beta-laktamaz enzimleri oksasilinazlar (OXA) olarak da adlandırılır [37]. Bu sınıfta 232 enzim bulunmakta olup, az miktarda enzimin karbapenemaz aktivitesi mevcuttur. OXA-163 haricindeki 'karbapenemleri hidrolize edebilen sınıf D beta-laktamazlar' genişlemiş spektrumlu sefalosporinleri hidrolize edememektedir. Genel olarak 'karbapenemleri hidrolize edebilen sınıf D beta-laktamazlar'ın karbapenemaz aktivitesi zayıftır. Bu enzimler klavulanik asit ve EDTA ile inhibe olmazken, NaCl tarafından inhibe edilirler [2]. 'Karbapenemleri hidrolize edebilen sınıf D beta-laktamazlar'ın çoğu *Acinetobacter* türlerinde tanımlanmıştır. Bununla birlikte OXA-48, sadece *Enterobacteriaceae*'da bulunmuş olup, *Enterobacteriaceae* içerisinde en sık rastlanan 'karbapenemleri hidrolize edebilen sınıf D beta-laktamaz'dır [2,37]. OXA-48 enzimi, ilk defa 2001 senesinde Türkiye'de izole edilen bir *K. pneumoniae* izolatında tanımlanmıştır [38]. Daha sonra OXA-48 benzeri enzim üreten *Enterobacteriaceae*, Türkiye'de endemik hale gelmiş ve Akdeniz ülkeleri ile Avrupa ülkelerine yayılmıştır [24,36]. Günümüzde OXA-48 benzeri enzimlere, dünya genelinde birçok kıta ve ülkedeki *Enterobacteriaceae* suşları arasında rastlanabilmektedir [36]. Şu ana kadar OXA-48'in en az altı adet varyantı (OXA-48, OXA-162, OXA-163, OXA-181, OXA-204, OXA-232) tanımlanmış olup, OXA-48 bunlar içerisinde küresel olarak en geniş dağılımı gösterir [27]. *Enterobacteriaceae*'da karbapenemaz üretiminden sorumlu diğer genlerden farklı olarak, OXA-48'in yayılımından tek bir plazmid sorumludur [31]. OXA-48 enzimi üreten izolatlar genellikle karbapenemlere karşı yüksek düzey direnç göstermediğinden, ek bir direnç mekanizması bulunmaması halinde bu enzimlerin saptanması zor olabilmektedir. Dolayısıyla, OXA-48 üreten izolatların gerçek sıklığının daha fazla olduğu sanılmaktadır [2].

2.3. GSBL Üreten *Enterobacteriaceae* ve Karbapenemlere Dirençli *Enterobacteriaceae* için Yeni Antibiyotik İhtiyacı

Genişlemiş spektrumlu beta-laktamaz üreten *Enterobacteriaceae* izolatlarında beta-laktam antibiyotiklerin dışındaki antibiyotik sınıflarına da (florokinolonlar, aminoglikozidler, sülfonamidler, tetrasiklinler) direnç gelişiminden sorumlu olan 'aktarılabılır genetik materyallere (plazmidler, transpozonlar, insersiyon sekansları vs.)' sıklıkla rastlanmaktadır [24]. Karbapenemaz üreten *Enterobacteriaceae* için de benzer

durum söz konusu olup, farklı antibiyotik sınıflarına karşı dirence neden olan mekanizmalar bu izolatlarda da sıkça bulunmaktadır. Üstelik karbapenem dirençli *Enterobacteriaceae*'da; GSBL üreten izolatlara karşı kullanılabilen ve son seçenek ilaçlar arasında olan karbapenemler de yetersiz kalmaktadır. Genişlemiş spektrumlu beta-laktamaz üreten *Enterobacteriaceae* ve karbapenemlere dirençli *Enterobacteriaceae* kaynaklı enfeksiyonların tedavisi için yeni antibiyotiklere ihtiyaç duyulmaktadır. Dünya Sağlık Örgütü (DSÖ) 2017 yılında, mevcut antibiyotiklere gösterdiği direnç nedeniyle insan sağlığı için büyük tehlike oluşturan 12 adet patojenden oluşan bir liste yayınlamış ve bu patojenler için acil olarak yeni antibiyotiklerin geliştirilmesi gerektiğini ilan etmiştir [39]. DSÖ, yeni antibiyotik ihtiyacının aciliyetine göre bu listeyi kritik, yüksek ve orta öncelikli patojenler olmak üzere üç bölüme ayırmıştır. GSBL üreten *Enterobacteriaceae* ve karbapenem dirençli *Enterobacteriaceae*, bu listenin 'kritik' bölümünde yer almaktadır (Tablo 2). Dolayısıyla DSÖ'nün yayınladığı listede, GSBL üreten ve karbapenemlere dirençli *Enterobacteriaceae* üyelerinin neden olduğu enfeksiyonlar için acil olarak yeni antibiyotiklerin geliştirilmesi gerektiğini vurgulamaktadır.

Tablo 2. Dünya Sağlık Örgütü'nün, acilen yeni antibiyotik geliştirilmesi gereken patojenler listesi (39 no'lu kaynaktan alınmıştır).

Kategori-1: Kritik Öncelik	Kategori-2: Yüksek Öncelik	Kategori-3: Orta Öncelik
<ul style="list-style-type: none"> • Karbapenem dirençli <i>Acinetobacter baumannii</i> • Karbapenem dirençli <i>Pseudomonas aeruginosa</i>, • GSBL pozitif, karbapenem dirençli <i>Enterobacteriaceae</i> 	<ul style="list-style-type: none"> • Vankomisin dirençli <i>Enterococcus faecium</i> • Metisiline dirençli, vankomisine orta düzeyde duyarlı ve dirençli <i>Staphylococcus aureus</i> • Klaritromisin dirençli <i>Helicobacter pylori</i> • Florokinolon dirençli <i>Campylobacter</i> spp. • Florokinolon dirençli <i>Salmonella</i> • Sefalosporin dirençli, florokinolon dirençli <i>Neisseria gonorrhoeae</i> 	<ul style="list-style-type: none"> • Penisilin duyarlı olmayan <i>Streptococcus pneumoniae</i> • Ampisilin dirençli <i>Haemophilus influenzae</i> • Florokinolon dirençli <i>Shigella</i> spp.

Çok ilaca dirençli gram-negatif basil enfeksiyonları için kullanılabilecek yeni geliştirilen antibiyotikler arasında plazomisin, tigesiklin, eravasiklin; yeni geliştirilen beta-

laktam/beta-laktamaz inhibitörleri arasında ise seftazidim-avibaktam, seftolozan-tazobaktam, meropenem-vaborbaktam yer almaktadır [40,41].

2.3.1. Aminoglikozid grubu antibiyotikler ve plazomisin

Plazomisin, yeni geliştirilen, aminoglikozid grubunda yer alan bir antibiyotiktir. Aminoglikozid grubu antibiyotikler, en eski antibiyotik grupları arasında olup 1944 yılında tedavi için kullanılmaya başlamışlardır [42]. *Streptomyces* ve *Micromonospora* cinsi bakterilerden elde edilen doğal veya yarı sentetik antibiyotiklerdir. Bu grup antibiyotikler içerisinde streptomisin, paromomisin, kanamisin, neomisin, spektinomisin, tobramisin, sisomisin, dibekasin, netilmisin, isepamisin, arbekasin, gentamisin, amikasin [43] ve plazomisin bulunmaktadır. Amikasin kanamisinin; netilmisin ve plazomisin ise sisomisinin yarı sentetik türevleridir [43,44]. Aminoglikozidler, bakteri hücre duvarını ve sitoplazma membranını geçerek hücre içerisine girerler. Bakteri ribozomlarının 30S alt ünitesinde bulunan 16S rRNA'nın 'A bölgesine' bağlanarak protein sentezini inhibe ederler [45]. Bu grup antibiyotiklerin bakteri ribozomuna bağlanması, mRNA'nın yanlış okunması sonucu anormal proteinlerin oluşmasına; ayrıca mRNA'nın ribozomdan erken ayrılarak protein sentezinin kesilmesine neden olmaktadır [46].

Protein sentezini inhibe ederek etki gösteren diğer antibiyotiklerin (tetrasiklinler, makrolitler, kloramfenikol vs.) aksine, aminoglikozidler bakterisidal etki gösterirler [43]. Çünkü ribozomlara geri dönüşümsüz olarak bağlanırlar [46]. Aminoglikozidler başlıca aerobik Gram-negatif basillere (*Enterobacteriaceae*, *Pseudomonas*, *Acinetobacter* spp.) etkinlik gösteren; Gram-pozitif bakterilere karşı etkinlikleri oldukça kısıtlı olan antibiyotiklerdir [43,47]. Bununla birlikte bu antibiyotikler, Gram pozitif koklara bağlı bazı enfeksiyonlarda, sinerjik etkilerinden faydalanmak amacıyla belli antibiyotiklerle (örn: beta-laktamlar, vankomisin) birlikte kullanılabilirler [43]. Aminoglikozidlerin sitoplazma membranından girişi aerobik, enerjiye bağımlı bir süreçtir. Dolayısıyla anaerobik bakteriler aminoglikozidlere karşı dirençlidirler [46]. Bakterilerde aminoglikozidlere karşı sonradan kazanılan direnç 4 şekilde gelişmektedir. Bunlar:

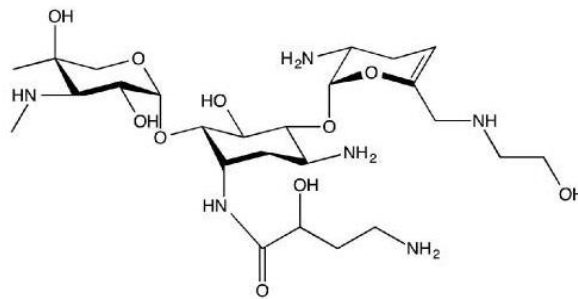
- 1) Mutasyona bağlı olarak, ribozomlara bağlanma bölgesinde değişiklik,
- 2) Bakteri içerisine girişin azalması,
- 3) Bakteri hücresi dışına atılımın artması,

4) Bakteri enzimleriyle modifiye edilmesidir.

Bu mekanizmalar içerisinde en sık görüleni ve en önemlisi, dördüncü mekanizmadır [43,46]. Günümüzde 100'den fazla 'aminoglikozid modifiye edici enzim' tanımlanmış olup; bu enzimler aminoglikozidleri asetilasyon, fosforilasyon veya adenilasyon yoluyla inaktive etme kabiliyetlerine göre üç gruba ayrılırlar: Fosfotransferazlar, nükleotidil veya adeniltransferazlar ve asetiltransferazlar [43,45]. Bunlar içerisinde en büyük grubu asetiltransferazlar oluşturmaktadır [45]. Aminoglikozid modifiye edici enzimleri kodlayan genetik materyaller plazmid ve transpozonlar üzerinde taşındığından, diğer bakterilere aktarılabilirler. Plazomisinden önce keşfedilen aminoglikozidler içerisinde, bu enzimlere duyarlılığı en az olan aminoglikozid amikasinidir. Aminoglikozid modifiye edici enzimlere bağlı direnç bazı Gram pozitif bakterilerde de görülebilmekle birlikte; asıl olarak aerobik Gram negatif basillerde görülmektedir [43].

Aminoglikozidlerin başlıca yan etkileri arasında nefrotoksisite, ototoksisite ve nöromüsküler blokaj yer almaktadır [48].

Plazomisin, yeni geliştirilen bir aminoglikozid olup sisomisinden elde edilmiştir [44,49]. Amikasin, gentamisin, tobramisin gibi eski aminoglikozidlerden farklı olarak plazomisin; aminoglikozid modifiye edici enzimlerden korunmasını sağlayan yapısal modifikasyonlar içermekte ve bu enzimler varlığında da etkisini devam ettirdiği bildirilmektedir [42,50]. Bununla birlikte, yine aminoglikozidlere karşı dirençten sorumlu fakat daha az görülen bir direnç mekanizması olan, 30S ribozomal alt ünitesinin modifikasyonuna neden olarak aminoglikozidlerin bağlanmasını engelleyen 16S rRNA metiltransferaz enzimine sahip bakterilere karşı plazomisinin de etkili olmadığı bildirilmektedir [44]. Plazomisinin kimyasal yapısı şekil 2'de gösterilmiştir [51].



Şekil 2. Plazomisinin kimyasal yapısı (51 no'lu kaynaktan alınmıştır).

Plazomisinin *E. coli*, *K. pneumoniae*, *Enterobacter cloacae* ve *Proteus mirabilis*'e bağlı oluşan komplike idrar yolu enfeksiyonlarının (pyelonefrit dahil) tedavisinde kullanımı Food and Drug Administration (FDA) tarafından Haziran-2018 tarihinde onaylanmıştır [52,53].

Karbapenem dirençli *Enterobacteriaceae* ve GSBL üreten *Enterobacteriaceae*, insanlar için tehdit oluşturan en önemli antibiyotiğe dirençli bakteriler arasında yer almaktadır. Aminoglikozid modifiye edici enzimlerin; karbapenem dirençli *Enterobacteriaceae* ve GSBL üreten *Enterobacteriaceae*'da sıkça bulunduğu bildirilmekte [44], bu da geleneksel aminoglikozidlerin bu mikroorganizmalar tarafından oluşturulan enfeksiyonlardaki rolünü kısıtlayabilmektedir. Aminoglikozid modifiye edici enzimlerden etkilenmemesi nedeniyle plazomisin; karbapenem dirençli *Enterobacteriaceae* ve GSBL üreten *Enterobacteriaceae*'ya karşı geleneksel aminoglikozidlerden daha iyi bir seçenek olabilir.

Çalışmamızda klinik örneklerden izole edilen karbapeneme dirençli, GSBL üreten ve GSBL üretmeyen *K. pneumoniae* ve *E. coli* izolatlarına karşı plazomisinin in vitro etkinliğinin araştırılması ve bu mikroorganizma gruplarına karşı etkinliğinin karşılaştırılması amaçlanmıştır. Ayrıca bu mikroorganizma gruplarına karşı diğer iki aminoglikozid grubu antibiyotiğin (amikasin ve gentamisin) etkinliği de araştırılmış; plazomisin, amikasin ve gentamisin antibiyotiklerinin etkinlikleri karşılaştırılmıştır.

3. GEREÇ ve YÖNTEM

Çalışmamıza çeşitli klinik örneklerden izole edilen GSBL negatif ve karbapenemlere duyarlı 60 (30 *K. pneumoniae* ve 30 *E. coli*), GSBL pozitif ve karbapenemlere duyarlı 60 (30 *K. pneumoniae* ve 30 *E. coli*), karbapenem dirençli 60 (45 *K. pneumoniae* ve 15 *E. coli*) olmak üzere toplam 180 izolat dahil edilmiştir. Bu 180 izolatın 161'i (90 *K. pneumoniae*, 71 *E. coli*) Başkent Üniversitesi Adana Dr. Turgut Noyan Uygulama ve Araştırma Merkezi'nde; 19'u (15 *K. pneumoniae*, 4 *E. coli*) Başkent Üniversitesi Ankara Hastanesi'nde izole edilmiştir. İzolatlar Mart-2018 ile Mart-2021 tarihleri arasında izole edilmiş olup, her hastadan tek bir izolat çalışmaya alınmıştır.

İzolatlar deneyler yapılincaya kadar %5 skim-milk besiyeri içerisinde -20°C'de saklanmıştır. Deneysel çalışmalardan önce, dondurulan izolatlar çözülerek %5 koyun kanlı agara iki kez pasajlanmıştır.

3.1. Laboratuvarda Kullanılan Gereç ve Malzemeler

3.1.1. Gereçler

- Etüv (Nüve, Türkiye)
- Pastör fırını (Nüve, Türkiye)
- Isı bloğu (Biosan, Türkiye)
- Santrifüj (Hettich, Almanya)
- Otoklav (Hirayama, Japonya)
- Biyogüvenlik kabini (Heraeus, Almanya)
- Vorteks (Daihan, Güney Kore)
- Derin dondurucu (Arçelik, Türkiye)
- Otomatik pipet seti 0,5-10; 20-200; 100-1000µl (Eppendorf, Almanya)
- ThermalCycler (Labnet, Finlandiya)
- Hassas terazi (Scaltec, ABD)
- 1,5 mL mikrosantrifüj tüp
- 8'li 0,2 mL PZR tüpü

- 10; 200; 1000 µl steril filtrelili pipet ucu (Eppendorf, Almanya)
- Balon joje
- 16x100 mm cam deney tüpü
- Petri kabı
- Steril serum fizyolojik
- Steril plastik ze
- Steril pamuk uçlu eküvyon ubuk

3.1.2. Besiyerleri, kimyasal ve kitler

- Eozin Metilen Blue Agar (Oxoid, İngiltere)
- %5 Koyun Kanlı Agar (Or-Bak, Türkiye)
- %5 Skim-milk besiyeri (BD Difco, ABD)
- EDTA (SRL, İtalya)
- Agaroz (SeaKem, ABD)
- PCR Master mix (Qiagen, Almanya)
- EtBR (AppliChem, Almanya)
- TrisBase (Sigma Aldrich, Almanya)
- Borik asid (SRL, İtalya)
- Triptik Soy Agar (CondoLab, İspanya)
- Mueller Hinton Agar (Biolab, Budapeşte)
- Jel yükleme solüsyonu/ Bromofenol (SNP Biyoteknoloji, Türkiye)
- Primerler (Oligomer, Türkiye)

3.1.3. MİK test stripleri ve antibiyotik diskleri

Tablo 3. MİK Test Stripleri, Antibiyotik Diskleri ve İçerikleri

MİK Test Strip/Antibiyotik Diski	Antibiyotik İçeriği	Firma, Üretim Yeri
Plazomisin MİK test stribi	0.016-256 µg/mL	Liofilchem, İtalya
Gentamisin MİK test stribi	0.016-256 µg/mL	Liofilchem, İtalya
Amikasin MİK test stribi	0.016-256 µg/mL	Liofilchem, İtalya
Sefotaksim antibiyotik diski	30 µg	Bioanalyse, Türkiye
Sefotaksim-klavulanat antibiyotik diski	30/10 µg	Bioanalyse, Türkiye
Seftazidim antibiyotik diski	30 µg	Bioanalyse, Türkiye
Seftazidim-klavulanat antibiyotik diski	30/10 µg	Bioanalyse, Türkiye
İmipenem antibiyotik diski	10 µg	Bioanalyse, Türkiye
Meropenem antibiyotik diski	10 µg	Bioanalyse, Türkiye
Ertapenem antibiyotik diski	10 µg	Bioanalyse, Türkiye

3.1.4. Standart kalite kontrol suşları

- *E. coli* ATCC 25922
- *K. pneumoniae* ATCC 700603
- *K. pneumoniae* bla_{OXA-48} pozitif konfirme suş
- *K. pneumoniae* CDC529 bla_{NDM-1}

3.2. Genişlemiş Spektrumlu Beta-Laktamaz Üretiminin Gösterilmesi

Klinik örneklerden izole edildiği laboratuvar tarafından GSBL üretim durumu bildirilen *K. pneumoniae* ve *E. coli* izolatlarında, GSBL varlığının doğrulanması amacıyla 'kombinasyon disk testi' kullanılmıştır [54]. Bu amaçla seftazidim (30 µg), seftazidim-klavulanik asit (30/10 µg), sefotaksim (30 µg) ve sefotaksim-klavulanik asit (30/10 µg) antibiyotik diskleri kullanılmıştır. Sadece sefalosporin içeren diskler (seftazidim, sefotaksim) ile bu sefalosporinlere klavulanik asit eklenmiş disklerin (seftazidim-klavulanik asit, sefotaksim-klavulanik asit) inhibisyon zon çapları ölçülerek karşılaştırılmıştır. Sefalosporinlerden herhangi birisi için; klavulanik asit eklenmiş diskin inhibisyon zon çapı, yalnız sefalosporin içeren diskin çapından en az 5 mm daha fazla ise test sonucu pozitif olarak değerlendirilmiştir. İnhibisyon zon çapları arasındaki fark <5 mm ise, test sonucu negatif olarak değerlendirilmiştir [54,55]. Kombinasyon diski testi için

kalite kontrol suşları olarak *E. coli* ATCC 25922 ve *K. pneumoniae* ATCC 700603 kullanılmıştır.

3.3. Karbapenem Direncinin Saptanması

Amerika Birleşik Devletleri Hastalık Kontrol ve Önleme Merkezleri (CDC); karbapenem grubu antibiyotiklerden en az birine karşı dirençli bulunan veya karbapenemaz üretimi fenotipik/moleküler bir testle gösterilen *Enterobacteriaceae* izolatlarını 'karbapenem dirençli *Enterobacteriaceae*' olarak tanımlamaktadır [56]. Çalışmamızda *K. pneumoniae* ve *E. coli* izolatlarında karbapenem direncinin saptanması amacıyla disk difüzyon testi kullanılmış; ayrıca disk difüzyon testi ile karbapenem dirençli olarak saptanan izolatlarda karbapenemaz enzimi kodlayan gen bölgesi varlığı, polimeraz zincir reaksiyonu (PZR) yöntemi ile araştırılmıştır. Çalışmaya sadece PZR ile direnç geni saptanan izolatlar dahil edilmiştir.

3.3.1. Disk difüzyon testi

K. pneumoniae ve *E. coli* izolatlarında karbapenem direncinin saptanması amacıyla ertapenem, meropenem ve imipenem disk difüzyon testi kullanılmıştır. Disk difüzyon testi için kalite kontrol suşu olarak *E. coli* ATCC 25922 kullanılmıştır. Antimikrobiyal duyarlılık kategorilerinin belirlenmesi amacıyla 'Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI)' ve 'European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing (EUCAST)' tarafından önerilen sınır değerler kullanılmıştır (Tablo 4) [55,57]. CLSI veya EUCAST sınır değerlerine göre ertapenem, meropenem veya imipenem antibiyotiklerinden en az birine karşı dirençli bulunan izolatlar, CDC tanımı doğrultusunda karbapenem dirençli olarak kabul edilmiştir.

Tablo 4. Karbapenemlerin *Enterobacteriaceae* için zon çapı sınır değerleri (mm) ve duyarlılık kategorileri (CLSI/EUCAST)

	S	I	R
Ertapenem	≥22 / ≥25	19-21 / ---	≤18 / <25
İmipenem	≥23 / ≥22	20-22 / 19-21	≤19 / <19
Meropenem	≥23 / ≥22	20-22 / 16-21	≤19 / <16

S: Duyarlı, I: Orta düzeyde duyarlı, R: Dirençli

3.3.2. Karbapenemaz genlerinin PZR ile saptanması

Ülkemizde Enterobacterales üyesi bakterilerde en sık görülen karbapenemaz kodlayan genlerin *bla*_{OXA-48} ve *bla*_{NDM-1} olduğu bilinmektedir [58]. Disk difüzyon testi ile karbapenem direnci saptanan izolatlarda *bla*_{OXA-48} ve *bla*_{NDM} genleri varlığı PZR yöntemiyle araştırılmıştır.

3.3.2.1. DNA izolasyonu

Bakterilerin DNA izolasyonları gecelik taze kültürleri kullanılarak biyogüvenlik kabini içerisinde yapılmıştır.

1. %5 Skim-milk içerisinde -20 °C’de derin dondurucuda muhafaza edilen izolat stokları çözdürülerek Triptik Soy Agar (TSA) besiyerine tek koloni ekimi yapılmıştır.
2. Ekim yapılan plaklar 35-37 °C’de bir gece (18-24 saat) inkübasyona bırakılmıştır.
3. Taze pasajlarından tek kullanımlık steril öze ile 1-2 koloni alınıp 1.5 ml’lik santrifüj tüplerinde 1 ml steril ultra saf su içerisine süspansiyon edilmiştir.
4. 95 °C’ye ayarlanmış ısı bloğuna yerleştirilen tüpler 10 dakika inkübasyona bırakılmıştır.
5. Süre sonunda buz içerisine aktarılan tüpler soğuduktan sonra, 14.000 rpm’de 10 dakika santrifüj edilmiştir.
6. Üst faz numaralanmış temiz tüpe aktararak PZR çalışmalarına kadar -20 °C’de muhafaza edilmiştir.

3.3.2.2. Primerler

*bla*_{OXA-48} ve *bla*_{NDM} genlerini hedefleyen primer dizileri sırasıyla 438 ve 621 bp fragmanını tanımlayacak şekilde aşağıdaki gibidir.

*bla*_{OXA-48} 438bp;

- OXA-48-Forward; 5'-GCGTGGTTAAGGATGAACAC-3',
- OXA-48-Reverse; 5'-CATCAAGTTCAACCCAACCG-3',

*bla*_{NDM} 621bp;

- NDM-Forward; 5'-GGTTTGGCGATCTGGTTTTC-3',
- NDM-Reverse; 5'-CGGAATGGCTCATCACGATC-3'

3.3.2.3. PZR reaksiyon miksi

Toplam 50 µL reaksiyon karışımı olacak şekilde 4µL DNA, 25 µL *Taq* PCR master Mix kiti ve her bir primerden 10 µmol/L içeren 50 µL'lik bir reaksiyon karışımı PZR'ye tabi tutulmuştur. 250 ünite *Taq* DNA Polimeraz içeren *Taq* PCR Master Mix kiti kullanılmıştır.

3.3.2.4. Amplifikasyon

Amplifikasyon koşulları termal döngü cihazında aşağıdaki gibi programlanmıştır: [59]

1. Ön Denatürasyon: 94°C'de 10 dakika
2. 36 döngü:
 - Denatürasyon: 94°C'de 30 saniye
 - Bağlanma: 52°C'de 40 saniye
 - Uzama: 72°C'de 50 saniye
3. Final: 72°C'de 5 dakika

3.3.2.5 PZR ürünlerinin jel elektroforezinde analizi

PZR ürünleri %2'lik agaroz jel elektroforezi ile değerlendirilmiştir. Agaroz jel için 0,5X TBE (44,5 mM Trisma Base; 44,5 mM Borik asit; 1mM EDTA; pH8.4) kullanılmıştır. %2'lik agaroz jel 200 ml 0,5X TBE, 4 gr agaroz ve 4 µL etidyum bromür (EtBr) kullanılarak hazırlanmıştır. Agaroz jel, elektroforez tankına dökülüp donduktan sonra PZR ürünleri jel yükleme solüsyonu ile süspanse edilip, 20 µL'si jeldeki kuyucuklara yüklenmiştir. Güç kaynağı 100 V'a ayarlanmış ve jele yüklenen PZR ürünleri 1 saat yürütülmüştür. Jel UV ışık altında değerlendirilmiştir. *bla*_{NDM-1} taşıyan *K. pneumoniae* CDC529 ve *K. pneumoniae bla*_{OXA-48} doğrulanmış pozitif suşlar [60] pozitif kontrol olarak; *K. pneumoniae* ATCC 700603 ve *E. coli* ATCC 25922 negatif kontrol olarak kullanılmıştır.

3.4. Gentamisin, Amikasin ve Plazomisin Duyarlılıklarının Belirlenmesi

K. pneumoniae ve *E. coli* izolatlarının gentamisin, amikasin ve plazomisin antibiyotiklerine duyarlılıklarının belirlenmesi amacıyla gradiyent difüzyon testi [MİK Test Strip (Liofilchem, Roseto degli Abruzzi, İtalya)] kullanılmıştır. Bu amaçla 0.5 McFarland bulanıklık standardında hazırlanan bakteri süspansiyonu 'Mueller-Hinton Agar' üzerine steril bir eküvyon ile yayılmıştır. Yaklaşık 15 dk yüzeyin kuruması beklendikten sonra, oda sıcaklığına getirilmiş antibiyotik şeritleri agar yüzeyine yerleştirilmiştir. $35 \pm 2^\circ\text{C}$ 'de 16-20 saat inkübasyondan sonra gentamisin, amikasin ve plazomisin MİK değerleri değerlendirilmiştir. Elips şeklindeki inhibisyon bölgesiyle antibiyotik şeridinin kesiştiği bölgedeki sayısal değer, MİK değeri olarak kabul edilmiştir. Gradyent difüzyon testi ile elde edilen MİK değerlerinin, çift kat seri dilüsyon değerlerine tam denk gelmediği durumlarda, MİK değeri bir üst konsantrasyona yükseltilmiştir. İzolatların gentamisin ve amikasin antibiyotiklerine duyarlılıklarının belirlenmesi amacıyla CLSI ve EUCAST tarafından önerilen sınır değerler kullanılmıştır [55,57]. Plazomisin için henüz CLSI ve EUCAST tarafından önerilen sınır değerlerin bulunmaması nedeniyle, FDA tarafından önerilen sınır değerler kullanılmıştır (Tablo 5) [61]. Gradyent difüzyon testi için kalite kontrol suşu olarak *E. coli* ATCC 25922 kullanılmıştır.

Tablo 5. Gentamisin, amikasin ve plazomisin antibiyotiklerinin *Enterobacteriaceae* için MİK sınır değerleri (mg/L) ve duyarlılık kategorileri

	S	I	R
Gentamisin (CLSI/EUCAST)	$\leq 4 / \leq 2$	8 / -	$\geq 16 / > 2$
Amikasin (CLSI/EUCAST)	$\leq 16 / \leq 8$	32 / -	$\geq 64 / > 8$
Plazomisin (FDA)	≤ 2	4	≥ 8

S: Duyarlı, I: Orta düzeyde duyarlı, R: Dirençli

3.5. İstatistiksel Analiz

Farklı bakteri grupları arasındaki antibiyotik (gentamisin, amikasin, plazomisin) duyarlılık oranlarının karşılaştırılması amacıyla Pearson ki kare testi kullanılmıştır. Aynı bakteri grubu içerisinde, farklı iki antibiyotik için elde edilen duyarlılık oranlarının karşılaştırılması amacıyla McNemar testi kullanılmıştır. P-değerinin 0,05'ten küçük olarak bulunması durumunda, oranlar arasındaki farklılık istatistiksel olarak anlamlı kabul edilmiştir.

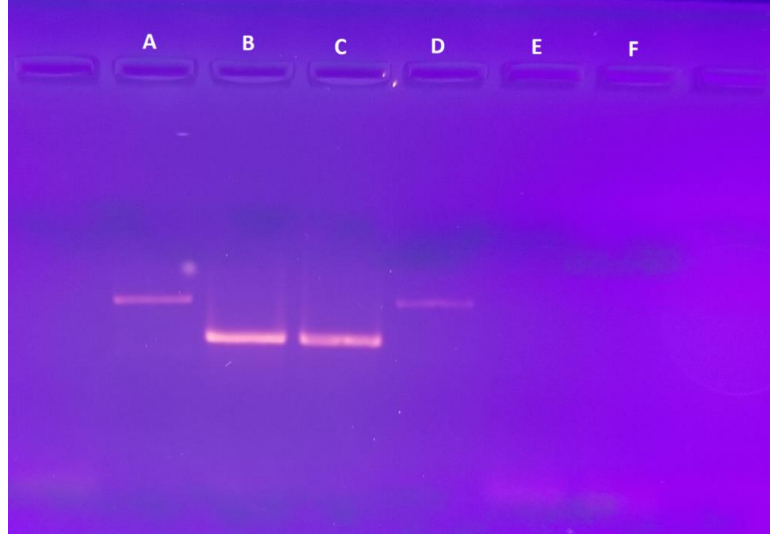
4. BULGULAR

Çalışma süresi boyunca, EUCAST veya CLSI kriterlerine göre en az bir karbapenem (imipenem, meropenem, ertapenem) dirençli bulunan 102 (83 *K. pneumoniae*, 19 *E. coli*) izolatın 83'ünde (68 *K. pneumoniae*, 15 *E. coli*) karbapenemaz geni tespit edilmiştir. Elli dört *K. pneumoniae* ve 15 *E. coli* izolatında *bla_{OXA-48}*, 11 *K. pneumoniae* izolatında *bla_{NDM}*, 3 *K. pneumoniae* izolatında hem *bla_{OXA-48}* hem *bla_{NDM}* saptanmıştır. *E. coli* izolatlarında *bla_{NDM}* saptanmamıştır. Karbapenemaz geni saptanan 83 izolattan 60'ı (*bla_{OXA-48}* saptanan 31 *K. pneumoniae* ile 15 *E. coli*, *bla_{NDM}* saptanan 11 *K. pneumoniae*, *bla_{OXA-48}* ve *bla_{NDM}* saptanan 3 *K. pneumoniae*) 'karbapenem dirençli izolat grubu' olarak çalışmaya dahil edilmiştir. Karbapenem dirençli 60 izolattaki karbapenemaz kodlayan genlerin dağılımı Tablo 6'da gösterilmiştir.

Tablo 6. Çalışmaya dahil edilen karbapenem dirençli izolatlardaki karbapenemaz genlerinin dağılımı

Karbapenemaz geni	Mikroorganizma		Toplam
	<i>K. pneumoniae</i> (n=45)	<i>E. coli</i> (n=15)	
<i>bla_{OXA-48}</i>	31	15	46
<i>bla_{NDM}</i>	11	-	11
<i>bla_{OXA-48}</i> ve <i>bla_{NDM}</i>	3	-	3

Şekil 3'te *bla_{OXA-48}* pozitif bir izolat, *bla_{NDM}* pozitif bir izolat ile her iki genin negatif bulunduğu izolatlara ait örnek bir agaroz jel elektroforez görüntüsü gösterilmiştir.



Şekil 3. A: *bla*_{NDM} pozitif kontrol; B: *bla*_{OXA-48} pozitif kontrol; C: *bla*_{OXA-48} pozitif izolat; D: *bla*_{NDM} pozitif izolat; E: *bla*_{OXA-48} negatif izolat; F: *bla*_{NDM} negatif izolat

Çalışmaya dahil edilen 60 adet karbapenem dirençli izolatın imipenem, meropenem ve ertapenem antibiyotiklerine direnç durumları Tablo 7'de gösterilmiştir.

Çalışmaya dahil edilen toplam 180 suşun çoğunluğu (%63,3) idrardan izole edilmiştir. Toplam 105 *K. pneumoniae* izolatının 60'ı (%57,1) idrardan, 30'u kandan (%28,6), 15'i (%14,3) diğer örneklerden izole edilmiştir. Toplam 75 *E. coli* izolatının 54'ü (%72) idrardan, 8'i yaradan (%10,7), 7'si (%9,3) kandan, 6'sı (%8) diğer örneklerden izole edilmiştir. Çalışmaya dahil edilen *K. pneumoniae* ve *E. coli* suşlarının izole edildikleri klinik örnek tipleri Tablo 8'de gösterilmiştir.

Tablo 7. Karbapeneme dirençli izolatların imipenem, meropenem ve ertapenem antibiyotiklerine direnç oranları

	KD <i>K. pneumoniae</i> (n=45)		KD <i>E. coli</i> (n=15)		KD Toplam (n=60)	
	n(%) S/ n(%) I/ n(%) R		n(%) S/ n(%) I/ n(%) R		n(%) S/ n(%) I/ n(%) R	
	CLSI	EUCAST	CLSI	EUCAST	CLSI	EUCAST
İmipenem	13(28,9)/14(31,1)/18(40)	22(48,9)/9(20)/14(31,1)	3(20)/5(33,3)/7(46,7)	3(20)/7(46,7)/5(33,3)	16(26,7)/19(31,7)/25(41,7)	25(41,7)/16(26,7)/19(31,7)
Meropenem	7(15,6)/5(11,1)/33(73,3)	9(20)/9(20)/27(60)	1(6,7)/2(13,3)/12(80)	1(6,7)/8(53,3)/6(40)	8(13,3)/7(11,7)/45(75)	10(16,7)/17(28,3)/33(55)
Ertapenem	3(6,7)/5(11,1)/37(82,2)	0(0)/0(0)/45(100)	0(0)/0(0)/15(100)	0(0)/0(0)/15(100)	3(5)/5(8,3)/52(86,7)	0(0)/0(0)/60(100)

KD: Karbapenem dirençli, S: Duyarlı, I: Orta duyarlı, R: Dirençli

Tablo 8. Çalışmaya dahil edilen *K. pneumoniae* ve *E. coli* suşlarının izole edildikleri klinik örnek tipleri

Klinik Örnek	Mikroorganizma		Toplam (n=180)
	<i>K. pneumoniae</i> (n=105)	<i>E. coli</i> (n=75)	
İdrar	60	54	114
Kan	30	7	37
Yara	7	8	15
DTA*	5	1	6
Balgam	2	-	2
Dren Sıvısı	-	3	3
Doku	-	2	2
Vajinal Sürüntü	1	-	1

*DTA: Derin trakeal aspirat

GSBL-negatif izolatlar karşı en etkili aminoglikozidler plazomisin ve amikasin olarak bulunmuş olup, bu grup izolatlar arasında plazomisin ve amikasine direnç gözlenmemiştir. GSBL-pozitif izolatların duyarlılık oranının en yüksek (%100) olduğu aminoglikozid plazomisin olarak bulunmuş olup, bu grup izolatlar arasında da plazomisine direnç gözlenmemiştir. GSBL-pozitif izolatlar arasındaki gentamisin duyarlılık oranı (%68,3), GSBL-negatif izolatlar (%96,7) göre daha düşük saptanmış, oranlar arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ($p<0,001$). GSBL-pozitif izolatlar arasındaki amikasin duyarlılık oranı da (CLSI kriterlerine göre %96,7, EUCAST kriterlerine göre %93,3), GSBL-negatif izolatlar (%100) göre düşük saptanmış olsa da, oranlar arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır (CLSI kriterleri esas alındığında $p=0,496$; EUCAST kriterleri esas alındığında $p=0,119$). GSBL-negatif ve GSBL-pozitif izolatların gentamisin, amikasin ve plazomisine duyarlılıkları sırasıyla Tablo 9 ve Tablo 10'da gösterilmiştir.

Karbapenem dirençli izolatlar içerisinde *K. pneumoniae* ve *E. coli*'nin gentamisin, amikasin ve plazomisine duyarlılık oranları karşılaştırıldığında; tüm aminoglikozidler için *K. pneumoniae*'da saptanan duyarlılık oranlarının *E. coli*'de saptanan duyarlılık oranlarından daha düşük olduğu görülmüş ve oranlar arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur (gentamisin için $p=0,011$; amikasin için CLSI kriterleri esas alındığında $p=0,001$, EUCAST kriterleri esas alındığında $p<0,001$; plazomisin için $p=0,032$). Karbapenem dirençli *K. pneumoniae* ve karbapenem dirençli *E. coli* izolatlarının gentamisin, amikasin ve plazomisine duyarlılıkları Tablo 11'de gösterilmiştir. Tüm karbapenem dirençli izolatlar ($n=60$) arasında plazomisine duyarlılık oranı (%71,7), amikasin (CLSI kriterlerine göre %56,7, EUCAST kriterlerine göre %51,7) ve gentamisine (%45) kıyasla daha yüksek bulunmuştur. Plazomisin ile gentamisin duyarlılık oranı arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ($p<0,001$). Plazomisin ile amikasin duyarlılık oranı arasındaki fark da istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur (amikasin için CLSI kriterleri esas alındığında $p=0,004$; EUCAST kriterleri esas alındığında $p<0,001$)(Tablo 11).

Tablo 9. GSBL üretmeyen izolatların gentamisin, amikasin ve plazomisine duyarlılıkları

	GSBL (-) <i>K. pneumoniae</i> (n=30)		GSBL (-) <i>E. coli</i> (n=30)		GSBL (-) Toplam (n=60)	
	n(%) S/ n(%) I/ n(%) R		n(%) S/ n(%) I/ n(%) R		n(%) S/ n(%) I/ n(%) R	
	CLSI	EUCAST	CLSI	EUCAST	CLSI	EUCAST
Gentamisin	29(96,7)/0(0)/1(3,3)	29(96,7)/-1(3,3)	29(96,7)/0(0)/1(3,3)	29(96,7)/-1(3,3)	58(96,7)/0(0)/2(3,3)	58(96,7)/-2(3,3)
Amikasin	30(100)/0(0)/0(0)	30(100)/-0(0)	30(100)/0(0)/0(0)	30(100)/-0(0)	60(100)/0(0)/0(0)	60(100)/-0(0)
	FDA		FDA		FDA	
Plazomisin	30(100)/0(0)/0(0)		30(100)/0(0)/0(0)		60(100)/0(0)/0(0)	

33

Tablo 10. GSBL üreten izolatların gentamisin, amikasin ve plazomisine duyarlılıkları

	GSBL (+) <i>K. pneumoniae</i> (n=30)		GSBL (+) <i>E. coli</i> (n=30)		GSBL (+) Toplam (n=60)	
	n(%) S/ n(%) I/ n(%) R		n(%) S/ n(%) I/ n(%) R		n(%) S/ n(%) I/ n(%) R	
	CLSI	EUCAST	CLSI	EUCAST	CLSI	EUCAST
Gentamisin	21(70)/0(0)/9(30)	21(70)/-9(30)	20(66,7)/1(3,3)/9(30)	20(66,7)/-10(33,3)	41(68,3)/1(1,7)/18(30)	41(68,3)/-19(31,7)
Amikasin	30(100)/0(0)/0(0)	29(96,7)/-1(3,3)	28(93,3)/2(6,7)/0(0)	27(90)/-3(10)	58(96,7)/2(3,3)/0(0)	56(93,3)/-4(6,7)
	FDA		FDA		FDA	
Plazomisin	30(100)/0(0)/0(0)		30(100)/0(0)/0(0)		60(100)/0(0)/0(0)	

Tablo 11. Karbapenem dirençli izolatların gentamisin, amikasin ve plazomisine duyarlılıkları

	KD <i>K. pneumoniae</i> (n=45)		KD <i>E. coli</i> (n=15)		KD Toplam (n=60)	
	n(%) S/ n(%) I/ n(%) R		n(%) S/ n(%) I/ n(%) R		n(%) S/ n(%) I/ n(%) R	
	CLSI	EUCAST	CLSI	EUCAST	CLSI	EUCAST
Gentamisin	16(35,6)/0(0)/29(64,4)	16(35,6)/-/29(64,4)	11(73,3)/0(0)/4(26,7)	11(73,3)/-/4(26,7)	27(45)/0(0)/33(55)	27(45)/-/33(55)
Amikasin	20(44,4)/5(11,1)/20(44,4)	17(37,8)/-/28(62,2)	14(93,3)/0(0)/1(6,7)	14(93,3)/-/1(6,7)	34(56,7)/5(8,3)/21(35)	31(51,7)/-/29(48,3)
	FDA		FDA		FDA	
Plazomisin	29(64,4)/0(0)/16(35,6)		14(93,3)/0(0)/1(6,7)		43(71,7)/0(0)/17(28,3)	

KD: Karbapenem dirençli

34

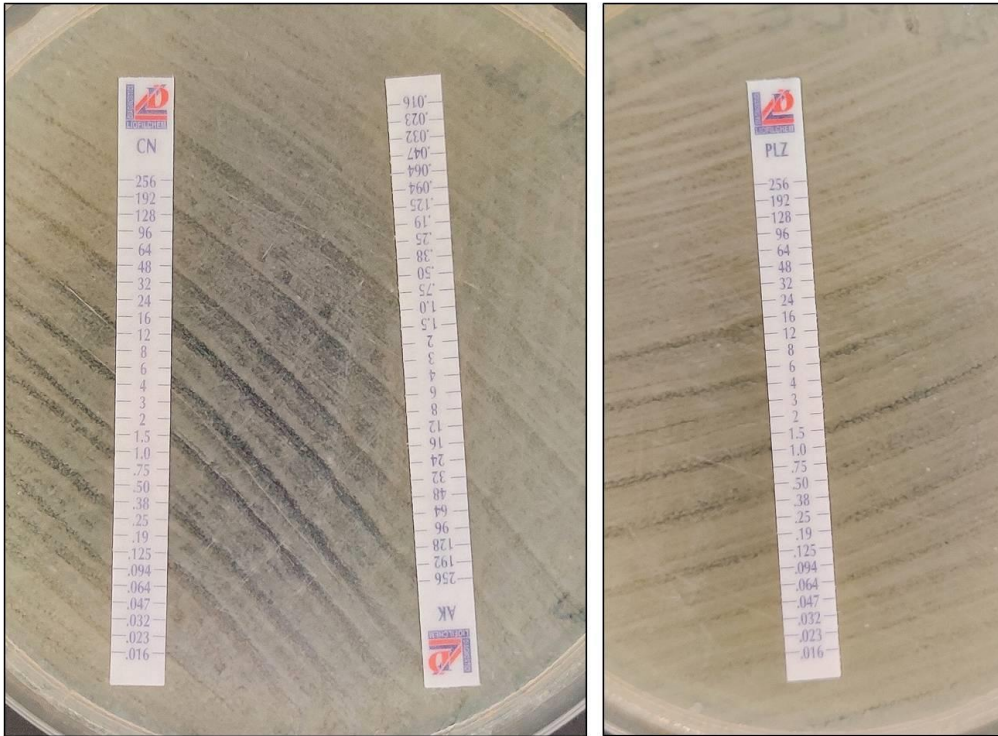
Tablo 12. Karbapenem duyarlı ve karbapenem dirençli izolatların gentamisin, amikasin ve plazomisine duyarlılıkları

	Karbapenem duyarlı (n=120)		Karbapenem dirençli (n=60)		Toplam (n=180)	
	n(%) S		n(%) S		n(%) S	
	CLSI	EUCAST	CLSI	EUCAST	CLSI	EUCAST
Gentamisin	99(82,5)	99(82,5)	27(45)	27(45)	126(70)	126(70)
Amikasin	118(98,3)	116(96,7)	34(56,7)	31(51,7)	152(84,4)	147(81,7)
	FDA		FDA		FDA	
Plazomisin	120(100)		43(71,7)		163(90,6)	

Karbapenem duyarlı izolatlar (n=120) ile karbapenem dirençli izolatların (n=60) gentamisin, amikasin ve plazomisin duyarlılık oranları karşılaştırıldığında; tüm aminoglikozidler için karbapenem dirençli izolatlarda saptanan duyarlılık oranlarının, karbapenem duyarlı izolatlardan daha düşük olduğu görülmüş ve oranlar arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur (gentamisin, amikasin ve plazomisin için $p<0,001$). Karbapenem duyarlı izolatlar ile karbapenem dirençli izolatların gentamisin, amikasin ve plazomisine duyarlılıkları Tablo 12'de gösterilmiştir.

Çalışmaya dahil edilen GSBL-negatif, GSBL-pozitif ve karbapenem dirençli izolatların gentamisin, amikasin ve plazomisin için MİK₅₀, MİK₉₀ ve MİK aralığı değerleri Tablo 13'te gösterilmiştir.

Toplamda 180 izolatın 17'si (%9,4) plazomisine dirençli bulunmuş olup, 17 izolatın tamamında bu antibiyotiğe karşı yüksek düzey direnç (MİK : >256 mg/L) saptanmıştır. On yedi izolatın 16'sı *K. pneumoniae*, 1'i ise *E. coli*'dir. Plazomisine dirençli izolatların hepsi gentamisin ve amikasin de dirençli bulunmuştur. Gentamisin, amikasin ve plazomisine dirençli bulunan bir izolatın gradiyent difüzyon testine ait fotoğraflar Şekil 4'te gösterilmiştir.



Şekil 4. Gentamisin, amikasin ve plazomisine dirençli bir *E. coli* izolatı. Gentamisin, amikasin ve plazomisin MİK : >256 mg/L.

Tablo 13. GSBL üretmeyen, GSBL üreten ve karbapenem dirençli izolatların gentamisin, amikasin, plazomisin için MİK₅₀, MİK₉₀ ve MİK aralığı değerleri

	GSBL (-) (n=60)			GSBL (+) (n=60)			Karbapenem Dirençli (n=60)			Toplam (n=180)		
	MİK ₅₀	MİK ₉₀	MİK Aralığı	MİK ₅₀	MİK ₉₀	MİK Aralığı	MİK ₅₀	MİK ₉₀	MİK Aralığı	MİK ₅₀	MİK ₉₀	MİK Aralığı
Gentamisin	0,5	0,5	0,25->256	0,5	128	0,125->256	32	>256	0,25->256	0,5	>256	0,125->256
Amikasin	2	4	1-8	2	8	1-32	8	>256	1->256	2	128	1->256
Plazomisin	0,5	1	0,25-2	0,5	1	0,125-2	0,5	>256	0,25->256	0,5	2	0,125->256

Plazomisine dirençli izolatların tamamı 'karbapenem dirençli izolat grubu' içerisinde saptanmış olup; 9 izolatta *bla*_{OXA-48}, 5 izolatta *bla*_{NDM}, 3 izolatta hem *bla*_{NDM} hem de *bla*_{OXA-48} saptanmıştır. Her iki genin birlikte saptandığı 3 izolat da plazomisine dirençli bulunmuştur. Sadece *bla*_{NDM} geni saptanan izolatlar arasında saptanan gentamisin, amikasin ve plazomisin duyarlılık oranları; sadece *bla*_{OXA-48} geni saptanan izolatlardan düşük bulunmuştur. Bununla birlikte; oranlar arasındaki fark hiçbir aminoglikozid için istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır (gentamisin için p=0,416; amikasin için CLSI kriterleri esas alındığında p=0,285, EUCAST kriterleri esas alındığında p=0,508; plazomisin için p=0,073). Sadece *bla*_{NDM} saptanan izolatların %45,5'inde (5/11), sadece *bla*_{OXA-48} saptanan izolatların ise %19,6'sında (9/46) plazomisin direnci görülmüştür.

Sadece *bla*_{OXA-48} geni saptanan *K. pneumoniae* (n=31) izolatlarındaki gentamisin, amikasin ve plazomisin duyarlılık oranları; sadece *bla*_{OXA-48} geni saptanan *E. coli* (n=15) izolatlarına kıyasla düşük bulunmuştur. Bununla birlikte plazomisin duyarlılıkları arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmamış (p=0,125); gentamisin ve amikasin duyarlılıkları arasındaki fark ise istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur (gentamisin için p=0,028; amikasin için CLSI kriterleri esas alındığında p=0,003; EUCAST kriterleri esas alındığında p<0,001). Farklı karbapenemaz genleri saptanan izolatların gentamisin, amikasin ve plazomisin duyarlılık oranları Tablo 14'te gösterilmiştir.

Tablo 14. Farklı karbapenemaz genleri saptanan izolatların gentamisin, amikasin ve plazomisin duyarlılık oranları

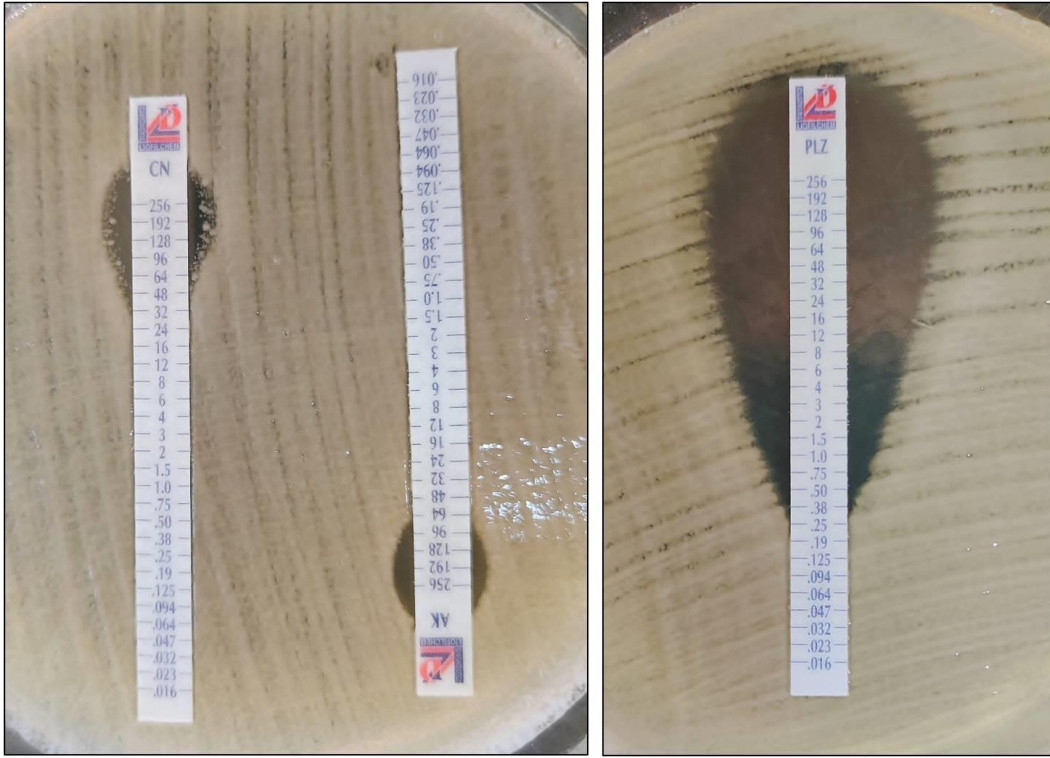
Karbapenemaz geni	Gentamisin, n(%)		Amikasin, n(%)		Plazomisin, n(%)
	CLSI	EUCAST	CLSI	EUCAST	FDA
<i>bla</i> _{OXA-48} (n=46)	23(50)	23(50)	29(63)	26(56,5)	37(80,4)
<i>K. pneumoniae</i> (n=31)	12(38,7)	12(38,7)	15(48,4)	12(38,7)	23(74,2)
<i>E. coli</i> (n=15)	11(73,3)	11(73,3)	14(93,3)	14(93,3)	14(93,3)
<i>bla</i> _{NDM} (n=11)	4(36,4)	4(36,4)	5(45,5)	5(45,5)	6(54,5)
<i>bla</i> _{OXA-48} + <i>bla</i> _{NDM} (n=3)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)

Gentamisin ve amikasin antibiyotiklerinden sadece birisine duyarlı olmayan izolatlar arasında plazomisin duyarlılık oranı %100 bulunmuştur. CLSI kriterlerine göre gentamisin ve amikasine duyarlı olmayan izolatlarda plazomisin duyarlılık oranı %19; EUCAST kriterlerine göre gentamisin ve amikasine duyarlı olmayan izolatlarda plazomisin duyarlılık oranı %29,2 olarak bulunmuştur. Farklı 'aminoglikozid duyarlılık profilleri'ne sahip izolat gruplarında plazomisine duyarlılık oranları Tablo 15'te gösterilmiştir.

Tablo 15. Farklı aminoglikozid duyarlılık profillerine sahip izolat gruplarında plazomisine duyarlılık oranları

Aminoglikozid duyarlılık profili	Plazomisine duyarlı izolat sayısı (oranı)
Gentamisin ve amikasine duyarlı (CLSI) (n=119)	119(100)
Gentamisin ve amikasine duyarlı (EUCAST) (n=117)	117(100)
Sadece gentamisine duyarlı olmayan (CLSI) (n=33)	33(100)
Sadece gentamisine duyarlı olmayan (EUCAST) (n=30)	30(100)
Sadece amikasine duyarlı olmayan (CLSI) (n=7)	7(100)
Sadece amikasine duyarlı olmayan (EUCAST) (n=9)	9(100)
Gentamisin ve amikasine duyarlı olmayan (CLSI) (n=21)	4(19)
Gentamisin ve amikasine duyarlı olmayan (EUCAST) (n=24)	7(29,2)

Gentamisin ve amikasinine dirençli; plazomisine ise duyarlı bulunan bir izolatın gradiyent difüzyon testine ait fotoğraflar Şekil 5'te gösterilmiştir.



Şekil 5. Gentamisin ve amikasinine dirençli; plazomisine duyarlı bir *K. pneumoniae* izolatı. Gentamisin ve amikasin MİK: 96 mg/L, plazomisin MİK: 0,38 mg/L

Tüm izolatlar (n=180) dikkate alındığında; *K. pneumoniae* izolatlarındaki (n=105) gentamisin, amikasin ve plazomisin duyarlılık oranları, *E. coli* izolatlarına (n=75) kıyasla daha düşük saptanmış; oranlar arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur (gentamisin için p=0,013; amikasin için p<0,001; plazomisin için p=0,002). Tür ve direnç fenotipi ayrımı yapılmaksızın tüm izolatlara (n=180) karşı gentamisin, amikasin ve plazomisinin etkinlikleri karşılaştırıldığında; izolatların duyarlılık oranının en yüksek olduğu (%90,6) aminoglikozid plazomisin olmuştur. Plazomisin ve gentamisin duyarlılık oranları arasındaki fark ile plazomisin ve amikasin duyarlılık oranları arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur (gentamisin ve plazomisin duyarlılıkları karşılaştırıldığında p<0,001 ; amikasin ve plazomisin duyarlılıkları karşılaştırıldığında CLSI kriterleri esas alındığında p=0,001, EUCAST kriterleri esas alındığında p<0,001).

5. TARTIŞMA

Çalışmamızda plazomisin, amikasin ve gentamisinin in-vitro etkinlikleri; GSBL üreten, GSBL üretmeyen ve karbapenem dirençli *K. pneumoniae* ile *E. coli* izolatlarından oluşan toplam 180 bakteriye karşı saptanmış ve karşılaştırılmıştır. GSBL üreten ve GSBL üretmeyen, karbapenemlere duyarlı izolatlar arasında plazomisine karşı direnç saptanmamış; ancak karbapeneme dirençli izolatlar arasında plazomisin direnç oranı %28,3 olarak bulunmuştur. Plazomisin direnci, karbapenem dirençli *K. pneumoniae* izolatları arasında %35,6'ya; *bla_{NDM}* geni saptanan izolatlar arasında (*bla_{OXA-48}* ve *bla_{NDM}* genlerinin birlikte saptandığı 3 izolat hariç) %45,5'e yükselmiştir.

Walkty ve ark. tarafından yürütülen çalışmada da, GSBL üreten ve GSBL üretmeyen *K. pneumoniae* ile *E. coli* izolatlarına karşı plazomisinin yüksek etkinlik gösterdiği saptanmıştır [62]. Walkty ve ark., GSBL üreten *K. pneumoniae* (n=73) ve *E. coli* (n=343) izolatları arasında plazomisin duyarlılık oranlarını sırasıyla %98,6 ve %100 olarak rapor etmişlerdir. Aynı çalışmada, GSBL üretmeyen *K. pneumoniae* (n=966) ve *E. coli* (n=2751) izolatları arasında plazomisin duyarlılık oranlarını sırasıyla %99,9 ve %99,4 olarak bulmuşlardır. Bu sonuçlar çalışmamızın sonuçları ile uyumludur.

Çalışmamızda plazomisin direnci sadece karbapeneme dirençli izolatlarda görülmüştür. Bununla birlikte karbapenem dirençli izolatlarda plazomisin duyarlılık oranı (%71,7); gentamisin (%45) ve amikasin (EUCAST kriterlerine göre %51,7; CLSI kriterlerine göre %56,7) duyarlılık oranından anlamlı olarak yüksek bulunmuştur.

Karbapenem dirençli *Enterobacteriaceae* izolatları arasında plazomisin duyarlılığının araştırıldığı çalışmalarda farklı sonuçların elde edildiği görülmektedir. Çalışmamızda, karbapenem dirençli izolatlar arasındaki plazomisin duyarlılık oranı Serio ve ark. tarafından rapor edilen oran ile uyumludur. Serio ve ark. tarafından yürütülen, 19 farklı ülkeden toplam 488 adet karbapenem dirençli *Enterobacteriaceae* izolatının dahil edildiği çalışmada plazomisine duyarlılık oranı %76,4 olarak saptanmıştır [52]. Jacobs ve ark. tarafından yürütülen ve 697 adet karbapenem dirençli *K. pneumoniae* izolatının dahil edildiği diğer bir çalışmada, izolatların %97,6'sı plazomisine duyarlı bulunmuştur. Aynı çalışmada, izolatlar arasında gentamisin duyarlılık oranı %53,3; amikasin duyarlılık oranı %64,1 olarak bulunmuştur [63].

Yunanistan'da 14 hastanenin katılımıyla yapılan ve karbapenem duyarlı olmayan 300 adet *K. pneumoniae*'nin dahil edildiği bir çalışmada, plazomisin duyarlılık oranı %87 olarak bulunmuştur. Aynı çalışmada; izolatlar arasında gentamisin duyarlılık oranı EUCAST kriterlerine göre %43, CLSI kriterlerine göre %61,3 olarak bulunmuştur. Amikasin duyarlılık oranı ise EUCAST kriterlerine göre %18, CLSI kriterlerine göre %31,3 olarak bulunmuştur [64].

Plazomisin çoğu aminoglikozid modifiye edici enzimden etkilenmeyen bir antibiyotik olsa da, 16S rRNA metiltransferaz enzimi üreten bakterilere karşı etkinlik gösterememektedir [52,58]. 16S rRNA metiltransferaz enzimleri, bakterilerde ribozomun 30S alt ünitesinde aminoglikozidlerin bağlandığı bölgenin metilasyonuna neden olmakta ve aminoglikozidlerin bağlanmasını engellemektedir. 16S rRNA metiltransferaz enzimlerinin, plazomisin de dahil olmak üzere tüm aminoglikozidlere karşı yüksek düzey dirence neden olduğu bilinmektedir [44,58].

Enterobacteriaceae içerisinde tanımlanan ve aminoglikozid direncine yol açan ilk 16S rRNA metiltransferaz geni, 2000 yılında üriner sistem enfeksiyonundan izole edilen bir *K. pneumoniae* suşunda rapor edilmiş ve *ArmA* (aminoglycoside resistance methylase) olarak adlandırılmıştır [65]. Şu ana kadar 10 tip 16S rRNA metiltransferaz geni (*rmtA*, *rmtB*, *rmtC*, *rmtD*, *rmtE*, *rmtF*, *rmtG*, *rmtH*, *armA*, *npmA*) tanımlanmıştır [58].

Bazı araştırmacılar, *Enterobacteriaceae*'da plazomisin MİK değerlerinin 64 mg/L ve üzerinde saptanmasına yol açan tek direnç mekanizmasının 16S rRNA metiltransferazlar olduğunu öne sürmektedir [52]. Bizim çalışmamızda, plazomisin direnci saptanan 17 izolatın tamamında; gentamisin, amikasin ve plazomisin MİK değerleri ≥ 256 mg/L olarak bulunmuştur. Çalışmamızda aminoglikozidlere dirençten sorumlu mekanizmalar araştırılmamış olsa da, tüm aminoglikozidlere karşı yüksek düzey direnç saptanan 17 izolatın 16S rRNA metiltransferaz enzimine sahip olabileceği düşünülmektedir. Bu izolatlarda 16S rRNA metiltransferaz enzimlerini kodlayan gen varlığının PZR yöntemi ile araştırılması faydalı olacaktır.

16S rRNA metiltransferaz genlerinin genellikle büyük konjugatif plazmidler üzerinde bulunduğu ve bakteriler arasında yayılma potansiyelinin olduğu bilinmektedir [58]. Ayrıca 16S rRNA metiltransferazların bakterilerde sıklıkla diğer direnç mekanizmaları (GSBL, metallo-beta-laktamazlar, OXA tipi karbapenemazlar) ile birlikte bulunduğu bildirilmektedir [66]. Özellikle *bla_{NDM}* ile 16S rRNA metiltransferaz genlerinin ilişkisi vurgulanmakta olup [66], bazı çalışmalarda 16S rRNA metiltransferaz enzimlerini

kodlayan genler ile *bla_{NDM}*'nin sıklıkla birlikte bulunduğu gösterilmiştir [58,67,68,69]. Hidalgo ve ark. tarafından yürütülen çalışmada 16S rRNA metiltransferaz genlerinden birisi olan *rmtF* ile *bla_{NDM}* arasında ilişki bulunmuştur [68]. Taylor ve ark. tarafından yürütülen çalışmada 16S rRNA metiltransferaz üreten 762 *Enterobacteriaceae* izolatının 712'sinde (%93,4) karbapenemaz geni saptanmış; 712 izolatın 592'sinde (%83,1) *bla_{NDM}* tespit edilmiştir [69]. Literatürde 16S rRNA metiltransferaz genleri ile *bla_{NDM}* arasında bir ilişkinin gösterilemediği çalışmalara da rastlamak mümkündür. Galani ve ark. tarafından yürütülen çalışmada, NDM karbapenemaz üreten 50 adet *K. pneumoniae* izolatının hiçbirisinde 16S rRNA metiltransferaz geni saptanmamıştır [64]. NDM karbapenemaz ile 16S rRNA metiltransferazlar arasındaki ilişkinin coğrafi olarak değişkenlik gösterebildiği düşünülmektedir [70].

Çalışmamızda plazomisin ve diğer aminoglikozidlere karşı yüksek düzey direnç saptanan 17 izolatın 5'inde *bla_{NDM}*, 9'unda *bla_{OXA-48}*, 3'ünde hem *bla_{NDM}* hem de *bla_{OXA-48}* saptanmıştır. İki genin birlikte saptandığı 3 izolat dahil edilmediğinde; çalışmamızda *bla_{NDM}* saptanan izolatların %45,5'inde (5/11), *bla_{OXA-48}* saptanan izolatların ise %19,6'sında (9/46) yüksek düzey plazomisin direnci görülmüştür. Yüksek düzey plazomisin direncinin 16S rRNA metiltransferaz enzimi varlığının bir göstergesi olduğu kabul edilirse; *bla_{NDM}* saptanan izolatların yaklaşık yarısının, *bla_{OXA-48}* saptanan izolatların ise yaklaşık beşte birinin 16S rRNA metiltransferaz ürettiği kanaati oluşmaktadır. Kesin bir sonuca varmak için moleküler yöntemlerin kullanılması gerekmektedir. Çalışmamızda *bla_{NDM}* saptanan izolatlar arasındaki plazomisin duyarlılık oranı, *bla_{OXA-48}* saptanan izolatlardakinden düşük bulunsa da, oranlar arasındaki farklılık istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır. Çalışmaya dahil edilen *bla_{NDM}* pozitif izolat sayısının (n=11) düşük olmasının, sonuçlara etki etmiş olabileceği düşünülmektedir. Çalışmamızda *bla_{NDM}* saptanan izolatlar arasındaki plazomisin duyarlılık oranı (%54,5), Serio ve ark. tarafından yürütülen çalışmada bulunan oran ile (%66) benzerlik göstermektedir [52]. Fleischmann ve ark. tarafından yürütülen çalışmada, *bla_{NDM}* geni saptanan 42 *Enterobacterales* izolatı arasında plazomisine duyarlılık oranı daha düşük (%35,7) bulunmuştur [70].

Çalışmamızda, sadece *bla_{OXA-48}* saptanan 46 izolat arasında plazomisin duyarlılık oranı %80,4 olarak bulunmuştur. Martins ve ark. tarafından yürütülen çalışmada, *bla_{OXA-48}* saptanan 12 *Enterobacteriaceae* izolatının 11'inde (%91,7) plazomisin MİK değeri ≤ 2 mg/L (duyarlı) olarak bulunmuştur [71]. Fleischmann ve ark. tarafından yürütülen çalışmada, *bla_{OXA-48}* benzeri gen taşıyan 20 adet *Enterobacterales* izolatının 10'u (%50) plazomisine duyarlı olarak bulunmuştur [70]. OXA-48 enzimi üreten izolatlar arasındaki

plazomisin duyarlılık oranlarının da, çalışmalar arasında değişkenlik gösterdiği görülmektedir.

Çalışmamızda GSBL üreten, karbapenemlere duyarlı izolatlar arasında plazomisin direncinin görülmemesi, GSBL ve 16S rRNA metiltransferaz enzimleri birlikteliğinin bu izolatlarda olmadığını düşündürmektedir.

Plazomisinin komplike idrar yolu enfeksiyonları tedavisinde kullanımı FDA tarafından 2018 yılında onaylansa da bu antibiyotik henüz ülkemizde kullanıma girmemiştir. Türkiye'de 14 hastaneden toplanan ve kandan izole edilen toplam 714 adet Enterobacterales izolatına karşı plazomisin ve diğer aminoglikozidlerin etkinliğinin araştırıldığı bir çalışmanın sonuçları 2020 yılında yayınlanmıştır [58]. Bu çalışmada izolatların plazomisin haricindeki aminoglikozidlere karşı duyarlılık kategorilerinin belirlenmesi amacıyla EUCAST kriterleri kullanılmıştır. Toplamda; izolatların %7,4'ünde amikasin, %7,7'sinde plazomisin, %31,5'inde netilmisin, %32,9'unda gentamisin ve %34,7'sinde tobramisin direnci gözlenmiştir. Çalışmaya izolat gönderen 14 merkez ayrı ayrı değerlendirildiğinde, plazomisin duyarlılık oranının %0 ile %39,6 arasında değişkenlik gösterdiği görülmüştür. Bizim çalışmamızda tüm izolatlar (n=180) göz önüne alındığında plazomisin direnç oranı %9,4; EUCAST kriterleri kullanıldığında amikasin direnç oranı %18,3, gentamisin direnç oranı %30 olarak bulunmuştur. Çalışmamızda saptanan plazomisin ve gentamisin direnç oranının Gür ve ark. tarafından yürütülen çalışmadaki oranlarla uyumlu olduğu; amikasin direnç oranının ise Gür ve ark. tarafından yürütülen çalışmadaki orandan yüksek olduğu görülmektedir [58]. Antibiyotiklere direnç oranlarının kurumlar arasında farklılık gösterebildiği bilinmektedir. Ayrıca, çalışmamıza eşit sayıda 'GSBL üreten, GSBL üretmeyen ve karbapeneme dirençli izolat' dahil edilirken, Gür ve ark. tarafından yürütülen çalışmaya dahil edilen izolatlar arasında böyle bir sınıflama yapılmamıştır. Çalışmamıza sadece *K. pneumoniae* ve *E. coli* izolatları dahil edilmişken, Gür ve ark. tarafından yürütülen çalışmaya *K. pneumoniae* ve *E. coli*'ye ek olarak *K. oxytoca*, *Enterobacter* spp., *Citrobacter* spp. ve *S. marcescens* izolatları da dahil edilmiştir. Bu hususların iki çalışmada saptanan antibiyotik direnç oranları üzerinde etkisinin olduğu düşünülmektedir.

Hem gentamisin hem de amikasine duyarlı olmayan izolatlar arasında plazomisin duyarlılık oranı, çalışmamızda %30'un altında bulunmuştur. Martins ve ark. tarafından yürütülen çalışmada gentamisin ve amikasine duyarlı olmayan *Enterobacteriaceae* izolatlarının %60'ında plazomisin MİK değeri ≤ 2 mg/L (duyarlı) olarak bulunmuştur [71].

Galani ve ark. tarafından yürütülen çalışmada bu oran %77,9 olarak bulunmuştur [64]. Bu çalışmalarla kıyaslandığında, çalışmamızdaki oranın düşüklüğü dikkati çekmektedir.

Çalışmamızın klinik izolat toplama aşamasında; karbapenem direnci ile karşılaşılan izolatların çoğunluğunu *K. pneumoniae* oluşturmuştur. Karbapenem dirençli *E. coli* izolatlarının görülme sıklığının *K. pneumoniae* izolatlarından daha düşük olması yanında; *E. coli* izolatlarında görülen gentamisin, amikasin ve plazomisin duyarlılığının *K. pneumoniae* izolatlarından yüksek olduğu dikkati çekmektedir. Ayrıca *bla_{NDM}* saptanan izolatlar ile *bla_{NDM}* ve *bla_{OXA-48}*'in birlikte saptandığı izolatların tamamının *K. pneumoniae* olması dikkat çekicidir. Dolayısıyla karbapenem dirençli *K. pneumoniae*'nin, karbapenem dirençli *E. coli*'den daha büyük bir sorun olduğu düşünülmektedir.

6. SONUÇ VE ÖNERİLER

Genişlemiş spektrumlu-beta laktamaz üretmeyen, GSBL üreten ve karbapenem dirençli gruplardan oluşan toplam 180 adet *K. pneumoniae* ve *E. coli* izolatına karşı plazomisin, gentamisin ve amikasinin in vitro etkinliklerinin karşılaştırıldığı çalışmamızın bulguları ışığında; *K. pneumoniae* ve *E. coli*'ye karşı plazomisinin etkinliğinin gentamisin ve amikasinden yüksek olduğu kanaatine varılmıştır. Klinik uygulamada plazomisinin güvenliği ve etkinliği ile ilgili sınırlı bilgi olması nedeniyle ve bakterilerde plazomisin direncinin artmasını önlemek amacıyla, bu yeni antibiyotiğin bakteriyel enfeksiyonların tedavisinde ilk seçenekler arasında yer almaması gerektiği düşünülmektedir.

Hem gentamisine hem de amikasine duyarlı olmayan izolatlar arasında plazomisin duyarlılık oranının %30'un altında saptanmış olması nedeniyle, bu direnç profiline sahip izolatlar karşı plazomisinin etkinlik göstermeyebileceği akılda tutulmalıdır.

Çalışmamızda karbapenemaz üreten *K. pneumoniae* izolatlarının %35,6'sında yüksek düzey plazomisin direnci saptanmasına karşılık, karbapenemaz üreten *E. coli* izolatlarında bu oranın %6,7 olarak saptanması; karbapenemaz üreten *K. pneumoniae* izolatlarının sıklıkla 16S rRNA metiltransferaz enzimi de ürettiğini düşündürmektedir. Bu durumda, karbapenemaz üreten *K. pneumoniae* izolatlarının önemli bir kısmında, plazomisin de dahil olmak üzere diğer aminoglikozidlere karşı dirençle karşılaşılabilirliği unutulmamalıdır. Karbapenem dirençli *K. pneumoniae* izolatlarında plazomisin duyarlılık oranının (%64,4), karbapenem dirençli *E. coli* izolatlarındaki plazomisin duyarlılık oranına (%93,3) kıyasla anlamlı olarak düşük bulunması nedeniyle; plazomisinin karbapenem dirençli *E. coli* izolatlarıyla gelişen enfeksiyonlar için daha iyi bir seçenek olacağı düşünülmektedir. Yüksek düzey plazomisin direnci görülen izolatlarda 16S rRNA metiltransferaz enzimi kodlayan genlerin araştırılmamış olması çalışmamızın bir kısıtlılığıdır. Bu izolatlarda 16S rRNA metiltransferaz enzimi kodlayan genlerin PZR yöntemiyle araştırılması halinde; plazomisine direnç mekanizmaları, genlerin varlığı, tipleri ve izolatlar arasındaki dağılımı konusunda bilgi sahibi olunabilecektir. Yine de çalışmamızın, yeni bir antibiyotik olan plazomisinin ülkemizdeki farklı direnç fenotiplerine sahip *Enterobacteriaceae* izolatlarına karşı etkinliği konusunda önemli bilgiler sağladığı düşünülmektedir.

KAYNAKLAR

1. Murray PR, Rosenthal KS, Pfaller MA, ed. *Enterobacteriaceae*. In: Medical microbiology [Internet]. 2013. Available from: www.StudentConsult.com
2. Nordmann P, Dortet L, Poirel L. Carbapenem resistance in *Enterobacteriaceae*: Here is the storm! Trends Mol Med. 2012;18(5):263–72.
3. Özinel MA. *Enterobacteriaceae*. Wilke Topçu A, Söyletir G, Doğanay M, ed. Enfeksiyon hastalıkları ve mikrobiyolojisi: Etkenlere göre enfeksiyonlar. 3. basım. İstanbul: Nobel Tıp Kitabevleri; 2008. s. 2126-36.
4. Donnenberg MS. *Enterobacteriaceae*. Bennett JE, Dolin R, Blaser MJ, ed. Mandell, Douglas, and Bennett's principles and practice of infectious diseases. 8th ed. Canada: Elsevier Saunders; 2015. p. 2502–17.
5. Bacterial cell structure. Willey JM, Sherwood LM, Woolverton CJ, ed. Prescott's microbiology. 4th ed. New York: The McGraw-Hill Companies; 2014. p. 42-81.
6. Pathogenesis of bacterial infection. Riedel S, Morse SA, Mietzner T, Miller S, ed. Jawetz, Melnick & Adelberg's medical microbiology. 28th ed. USA: McGraw-Hill Education; 2019. p. 155-69.
7. Koçoğlu E, Aslan M, Akçalı A. Tıbbi Bakteriyoloji: Taksonomi, Morfoloji, Fizyoloji ve Virülans. Başustaoğlu A, Us D, ed. Koneman renkli atlas ve tanısal mikrobiyoloji kitabı. 7. basım. Ankara: Hipokrat Yayınevi; 2017. s. 173–212.
8. Çelikkbilek N, Çöplü N, Apan TZ, Karakullukçu A, Vilken T, Kaya S, ve ark. *Enterobacteriaceae* ailesi. Başustaoğlu AC, Us AD, ed. Koneman renkli atlas ve tanısal mikrobiyoloji kitabı. 7. basım Ankara: Hipokrat Yayıncılık; 2017. s. 213-315.
9. Fındık D. *Escherichia* türleri. Wilke-Topçu A, Söyletir G, Doğanay M, ed. Enfeksiyon hastalıkları ve mikrobiyolojisi: Etkenlere göre enfeksiyonlar. 3. basım. İstanbul: Nobel Tıp Kitabevleri; 2008. s. 2136-47.
10. Baran I, Nikolic Güngör Ö, Yayla B. *Enterobacteriaceae*. Başustaoğlu AC, Us AD, ed. Sherris tıbbi mikrobiyoloji. 7. basım. Ankara: Hipokrat Yayıncılık; 2019. s. 613-644.
11. Karamanlıoğlu D, Aysert-Yıldız P, Kaya M, Sarı N. Extended-spectrum β -lactamase production rates and antibiotic susceptibilities among enterobacteriaceae isolated from urine cultures. Klimik Derg. 2019;32(3):233–9.

12. Uğur AR, Türk-Dağı H, Tuncer İ, Fındık D, Arslan U. İdrar kültürlerinden izole edilen *Escherichia coli* suşlarının antibiyotik duyarlılığı ve genişlemiş spektrumlu beta-laktamaz oranı. ANKEM Derg. 2013;27(1):13-18.
13. Flores-Mireles AL, Walker JN, Caparon M, Hultgren SJ. Urinary tract infections: Epidemiology, mechanisms of infection and treatment options. Nat Rev Microbiol. 2015;13(5):269-84.
14. Özakın C. *Klebsiella* türleri. Wilke-Topçu A, Söyletir G, Doğanay M, ed. Enfeksiyon hastalıkları ve mikrobiyolojisi: Etkenlere göre enfeksiyonlar. 3. basım. İstanbul: Nobel Tıp Kitabevleri; 2008. s. 2147-49.
15. Martin RM, Bachman MA. Colonization, infection and the accessory genome of *Klebsiella pneumoniae*. Front Cell Infect Microbiol. 2018;8(4).
16. Friedlaender C. Ueber die schizomyceten bei der acuten fibrösen pneumonie. Arch Pathol Anat Physiol. 1882;87:319–24.
17. Schroll C, Barken KB, Krogfelt KA, Struve C. Role of type 1 and type 3 fimbriae in *Klebsiella pneumoniae* biofilm formation. BMC Microbiol. 2010;10(179).
18. Holden VI, Bachman MA. Diverging roles of bacterial siderophores during infection. Metallomics [Internet]. 2015;7(6):986–95. Available from: <http://dx.doi.org/10.1039/C4MT00333K>
19. Bachman MA, Oyler JE, Burns SH, Caza M, Lépine F, Dozois CM, et al. *Klebsiella pneumoniae* yersiniabactin promotes respiratory tract infection through evasion of lipocalin 2. Infect Immun. 2011;79(8):3309–16.
20. Padilla E, Llobet E, Doménech-Sánchez A, Martínez-Martínez L, Bengoechea JA, Albertí S. *Klebsiella pneumoniae* AcrAB efflux pump contributes to antimicrobial resistance and virulence. Antimicrob Agents Chemother. 2010;54(1):177–83.
21. Hsieh PF, Lu YR, Lin TL, Lai LY, Wang JT. *Klebsiella pneumoniae* type VI secretion system contributes to bacterial competition, cell invasion, type-1 fimbriae expression, and in vivo colonization. J Infect Dis. 2019;219(4):637-47.
22. Peirano G, Pitout JDD. Extended spectrum β -lactamase producing *Enterobacteriaceae*: Update on molecular epidemiology and treatment options. Drugs [Internet]. 2019;79(14):1529–41. Available from: <https://doi.org/10.1007/s40265-019-01180-3>
23. Şadan G. Beta-laktam antibiyotikler. Türkiye Klinikleri J Pharmacol-Special Topics. 2003;1(2):194-202.

24. Lynch JP 3rd, Clark NM, Zhanel GG. Evolution of antimicrobial resistance among *Enterobacteriaceae* (focus on extended spectrum β -lactamases and carbapenemases). *Expert Opin Pharmacother*. 2013;14(2):199-210.
25. Partridge SR. Resistance mechanisms in *Enterobacteriaceae*. *Pathology*. 2015;47(3):276-84.
26. Abraham EP, Chain E. An enzyme from bacteria able to destroy penicillin. *Nature*. 1940;146(3713):837.
27. Bonomo RA. β -Lactamases: A focus on current challenges. *Cold Spring Harb Perspect Med* [Internet]. 2017;7(1):a025239. Available from: <http://perspectivesinmedicine.cshlp.org/>
28. Jacoby GA. Transmissible antibiotic resistance. Fong IW, Shlaes D DK, ed. *Antimicrobial Resistance in the 21st Century* [Internet]. 2nd ed. Springer International Publishing AG; 2018. p. 341–81. Available from: https://doi.org/10.1007/978-3-319-78538-7_11
29. Thabit AK, Crandon JL, Nicolau DP. Antimicrobial resistance: Impact on clinical and economic outcomes and the need for new antimicrobials. *Expert Opin Pharmacother*. 2015;16(2):159-77.
30. Cantón R, Novais A, Valverde A, Machado E, Peixe L, Baquero F, et al. Prevalence and spread of extended-spectrum β -lactamase-producing *Enterobacteriaceae* in Europe. *Clin Microbiol Infect*. 2008;14(1):144-53.
31. Wilson H, Török ME. Extended-spectrum β -lactamase-producing and carbapenemase-producing *Enterobacteriaceae*. *Microb Genomics*. 2018;4(7):e000197.
32. Paterson DL. Resistance in gram-negative bacteria: *Enterobacteriaceae*. *Am J Med*. 2006;119(6):20-8.
33. Drawz SM, Bonomo RA. Three decades of beta-lactamase inhibitors. *Clin Microbiol Rev*. 2010;23(1):160-201.
34. Logan LK, Weinstein RA. The epidemiology of carbapenem-resistant *Enterobacteriaceae*: The impact and evolution of a global menace. *J Infect Dis*. 2017;215(1):28-36.
35. Iovleva A, Doi Y. Carbapenem-resistant *Enterobacteriaceae*. *Clin Lab Med*. 2017;37(2):303-15.
36. van Duin D, Doi Y. The global epidemiology of carbapenemase producing *Enterobacteriaceae*. *Virulence*. 2017;8(4):460-9.

37. Potter RF, D'Souza AW, Dantas G. The rapid spread of carbapenem-resistant *Enterobacteriaceae*. *Drug Resist Updat*. 2016;29:30-46.
38. Poirel L, Héritier C, Tolün V, Nordmann P. Emergence of oxacillinase-mediated resistance to imipenem in *Klebsiella pneumoniae*. *Antimicrob Agents and Chemother*. 2004;48(1):15–22.
39. World Health Organization. WHO publishes list of bacteria for which new antibiotics are urgently needed [homepage on the Internet]. c2017 [cited January, 2021]. Available from: <https://www.who.int/news/item/27-02-2017-who-publishes-list-of-bacteria-for-which-new-antibiotics-are-urgently-needed>
40. Iredell J, Brown J, Tagg K. Antibiotic resistance in *Enterobacteriaceae*: Mechanisms and clinical implications. *BMJ*. 2015;352:h6420.
41. Peri AM, Doi Y, Potoski BA, Harris PNA, Paterson DL, Righi E. Antimicrobial treatment challenges in the era of carbapenem resistance. *Diagn Microbiol Infect Dis*. 2019;94(4):413-25.
42. Walkty A, Adam H, Baxter M, Denisuik A, Lagace-Wiens P, Karlowisky JA, et al. In vitro activity of plazomicin against 5,015 gram-negative and gram-positive clinical isolates obtained from patients in canadian hospitals as part of the CANWARD study, 2011-2012. *Antimicrob Agents Chemother*. 2014;58(5):2554-63.
43. Wilke Topçu A. Aminoglikozidler. Wilke Topçu A, Söyletir G, Doğanay M, ed. *Enfeksiyon Hastalıkları ve Mikrobiyolojisi: Sistemlere Göre Enfeksiyonlar*. 3. basım. İstanbul: Nobel Tıp Kitabevleri; 2008. s. 294-303.
44. Eljaaly K, Alharbi A, Alshehri S, Ortwine JK, Pogue JM. Plazomicin: A novel aminoglycoside for the treatment of resistant Gram-negative bacterial infections. *Drugs*. 2019;79(3):243-69.
45. Krause KM, Serio AW, Kane TR, Connolly LE. Aminoglycosides: An overview. *Cold Spring Harb Perspect Med*. 2016;6:a027029.
46. Murray P, Rosenthal K, Pfaller M, ed. Antibacterial agents. In: *Medical microbiology*. 7th ed. China: Elsevier Saunders; 2013. p. 165–73.
47. Jackson J, Chen C, Buising K. Aminoglycosides: How should we use them in the 21st century?. *Curr Opin Infect Dis*. 2013;26(6):516-25.
48. Kothari U, Krilov LR. Aminoglycosides. *Pediatr Rev*. 2012;33(11):531-3.
49. Castanheira M, Davis AP, Serio AW, Krause KM, Mendes RE. In vitro activity of plazomicin against *Enterobacteriaceae* isolates carrying genes encoding

- aminoglycoside-modifying enzymes most common in US Census divisions. *Diagn Microbiol Infect Dis*. 2019;94(1):73-7.
50. Connolly LE, Riddle V, Cebrik D, Armstrong ES, Miller LG. A multicenter, randomized, double-blind, phase 2 study of the efficacy and safety of plazomicin compared with levofloxacin in the treatment of complicated urinary tract infection and acute pyelonephritis. *Antimicrob Agents Chemother*. 2018;62(4):e01989-17.
51. Ramirez MS, Tolmasky ME. Amikacin: Uses, resistance, and prospects for inhibition. *Molecules*. 2017;22(12).
52. Serio AW, Keepers T, Krause KM. Plazomicin is active against metallo- β -lactamase-producing *Enterobacteriaceae*. *Open Forum Infect Dis*. 2019;6(4).
53. ZEMDRI™ Highlights Of Prescribing Information. Zemdri (plazomicin) package insert [Internet]. Available from: www.fda.gov/medwatch
54. Aydemir S, Gülay Z, Coplu N, Gür D. Antibiyotik duyarlılık testleri, EUCAST: Uygulama, yorum ve uzman kurallar [Internet]. Gür D, editor. TMC; Available from: <https://www.researchgate.net/publication/309732190>
55. CLSI. M100-ED30: 2020 Performance standards for antimicrobial susceptibility testing. 30th ed. CLSI; 2020.
56. Lutgring JD, Limbago BM. The problem of carbapenemase-producing-carbapenem-resistant *Enterobacteriaceae* detection. *J Clin Microbiol* [Internet]. 2016;54(3):529–34. Available from: jcm.asm.org
57. EUCAST. Breakpoint tables for interpretation of MICs and zone diameters [Internet]. 11th ed. EUCAST, editor. 2021. Available from: http://www.eucast.org/fileadmin/src/media/PDFs/EUCAST_files/Breakpoint_tables/v_5.0_Breakpoint_Table_01.pdf
58. Gür D, Hasdemir U, Çakar A, Çavuşoğlu İ, Çelik T, Aksu B. Comparative in vitro activity of plazomicin and older aminoglycosides against Enterobacterales isolates; prevalence of aminoglycoside modifying enzymes and 16S rRNA methyltransferases. *Diagn Microbiol Infect Dis* [Internet]. 2020;97(4). Available from: <https://doi.org/10.1016/j.diagmicrobio.2020.115092>
59. Poirel L, Walsh TR, Cuvillier V, Nordmann P. Multiplex PCR for detection of acquired carbapenemase genes. *Diagn Microbiol Infect Dis*. 2011;70(1):119-23.
60. Uskudar-Guclu A, Guney M, Sig AK, Kilic S, Baysallar M. Arising prevalence of OXA-48 producer *Escherichia coli* and OXA-48 with NDM co-producer *Klebsiella pneumoniae* strains. *Rev Rom Med Lab*. 2019;27(3):319-26.

61. Plazomicin-injection, FDA identified interpretive criteria [homepage on the internet]. c2019 [cited January, 2021]. Available from: <https://www.fda.gov/drugs/development-resources/plazomicin-injection>
62. Walkty A, Karlowsky JA, Baxter MR, Adam HJ, Zhanel GG. In vitro activity of plazomicin against Gram-negative and Gram-positive bacterial pathogens isolated from patients in canadian hospitals from 2013 to 2017 as part of the CANWARD surveillance study. *Antimicrob Agents Chemother* [Internet]. 2018;63(1):e02068-18. Available from: <https://doi.org/10.1128/AAC.02068-18>
63. Jacobs MR, Good CE, Hujer AM, Abdelhamed AM, Rhoads DD, Hujer KM et al. ARGONAUT II study of the in vitro activity of plazomicin against carbapenemase-producing *Klebsiella pneumoniae*. *Antimicrob Agents Chemother*. 2020;64(5):e00012-20.
64. Galani I, Nafplioti K, Adamou P, Karaiskos I, Giamarellou H, Souli M. Nationwide epidemiology of carbapenem resistant *Klebsiella pneumoniae* isolates from Greek hospitals, with regards to plazomicin and aminoglycoside resistance. *BMC Infect Dis* [Internet]. 2019;19(1). Available from: <https://doi.org/10.1186/s12879-019-3801-1>
65. Galimand M, Courvalin P, Lambert T. Plasmid-mediated high-level resistance to aminoglycosides in *Enterobacteriaceae* due to 16S rRNA methylation. *Antimicrob Agents Chemother*. 2003;47(8):2565-71.
66. Shaer KM, Zmarlicka MT, Chahine EB, Piccicacco N, Cho JC. Plazomicin: A next-generation aminoglycoside. *Pharmacotherapy*. 2019;39(1):77-93.
67. Castanheira M, Deshpande LM, Woosley LN, Serio AW, Krause KM, Flamm RK. Activity of plazomicin compared with other aminoglycosides against isolates from European and adjacent countries, including *Enterobacteriaceae* molecularly characterized for aminoglycoside-modifying enzymes and other resistance mechanisms. *J Antimicrob Chemother*. 2018;73(12):3346-54.
68. Hidalgo L, Hopkins KL, Gutierrez B, Ovejero CM, Shukla S, Douthwaite S, et al. Association of the novel aminoglycoside resistance determinant rmtF with NDM carbapenemase in *Enterobacteriaceae* isolated in India and the UK. *J Antimicrob Chemother*. 2013;68(7):1543-50.
69. Taylor E, Sriskandan S, Woodford N, Hopkins KL. High prevalence of 16S rRNA methyltransferases among carbapenemase-producing *Enterobacteriaceae* in the UK and Ireland. *Int J Antimicrob Agents*. 2018;52(2):278-82.

70. Fleischmann WA, Greenwood-Quaintance KE, Patel R. In vitro activity of plazomicin compared to amikacin, gentamicin, and tobramycin against multidrug-resistant aerobic Gram-negative bacilli. *Antimicrob Agents Chemother.* 2020;64(2):e01711-19.
71. Martins AF, Bail L, Ito CAS, Nogueira KS, Dalmolin TV, Martins AS et al. Antimicrobial activity of plazomicin against *Enterobacteriaceae*-producing carbapenemases from 50 Brazilian medical centers. *Diagn Microbiol Infect Dis.* 2018;90(3):228-32.