



**KLİNİK ÖRNEKLERDEN İZOLE EDİLEN
ESCHERICHIA COLI, KLEBSIELLA PNEUMONIAE ve
PSEUDOMONAS AERUGINOSA SUŞLARINDA
KOLİSTİN DİRENCİNİN MİKRODİLÜSYON YÖNTEMİYLE ARAŞTIRILMASI**

Elanur VELİOĞLU

Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı

**Tez Danışmanı
Prof. Dr. Osman AKTAŞ**

Yüksek Lisans Tezi – 2021

T.C.
ATATÜRK ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**KLİNİK ÖRNEKLERDEN İZOLE EDİLEN
ESCHERICHIA COLI, KLEBSIELLA PNEUMONIAE VE
PSEUDOMONAS AERUGINOSA SUŞLARINDA
KOLİSTİN DİRENCİNİN MİKRODİLÜSYON
YÖNTEMİYLE ARAŞTIRILMASI**

Elanur VELİOĞLU

**Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı
Yüksek Lisans Tezi**

**Tez Danışmanı
Prof. Dr. Osman AKTAŞ**

ERZURU

İÇİNDEKİLER

TEŞEKKÜR	I
ÖZET	II
ABSTRACT	III
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ	IV
ŞEKİLLER DİZİNİ	V
TABLolar DİZİNİ	VI
1. GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER	4
2.1. <i>Enterobacteriaceae</i> Ailesi'nin Temel Özellikleri	4
2.1.1. <i>Escherichia coli</i>	8
2.1.2. <i>Klebsiella pneumoniae</i>	11
2.2. <i>Pseudomonadaceae</i> Ailesi'nin Temel Özellikleri	12
2.2.1 <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	13
2.3. Kolistin	17
2.4. Bakterilerde KOL Direnci	19
3. MATERYAL VE METOT	23
3.1. Örneklerinin Alınması ve Gönderilmesi	23
3.2. Örneklerin Kültürü	23
3.3. Kültürde Üreyen Mikroorganizmaların Tanısı	23
3.4. Bakterilerin Stoğa Alınması	24
3.5. Suşların Canlandırılması ve MacFarland Bulanıklığının Ayarlanması	24
3.6. Katyon Ayarlı Mueller Hinton Buyyonunun Hazırlanması	24
3.7. KOL Buyyon Mikrodilüsyon Testi ve Sonuçların Yorumlanması	25
3.8. Diğer Antibiyogram işlemleri ve ESBL tespiti	28
3.9. İstatistiksel Analizler	28
4. BULGULAR	29
5. TARTIŞMA	35
6. SONUÇ VE ÖNERİLER	42
7. KAYNAKLAR	44
EKLER	55
EK-1. ETİK BİLDİRİM VE İNTİHAL BEYAN FORMU	55
EK-2. ETİK KURUL ONAY FORMU	56

TEŞEKKÜR

Yüksek lisans tezi olarak sunduğum bu çalışmayı, değerli bilgi ve katkıları ile yöneten, tezimin bütün aşamalarında yardımını esirgemeyen hocam Sayın Prof. Dr. Osman AKTAŞ'a en derin saygı ve şükranlarımı sunarım.

Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı bölüm hocalarıma, özellikle tez çalışmalarımın yönlendirilmesine katkı sunan Prof. Dr. Ülkü ALTOPRAK ve yüksek lisans eğitim sürecimin başında yakın desteğini gördüğüm Dr. Erkan ÖZMEN'e şükranlarımı sunarım. Başta Abdullah YEŞİLYURT olmak üzere çalışmalarına destek olan Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı çalışanlarına teşekkür ederim. Ayrıca, hiçbir zaman maddi manevi desteklerini esirgemeyen sevgili babam Abdulkerim VELİOĞLU, annem Ayşe VELİOĞLU ve abim Mustafa VELİOĞLU'na minnet duygularımı sunarım.

Elanur VELİOĞLU

ÖZET

Klinik Örneklerden İzole Edilen *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae* ve *Pseudomonas aeruginosa* Suşlarında Kolistin Direncinin Araştırılması

Amaç: *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae* ve *Pseudomonas aeruginosa* çoklu ilaç direnci kazanabilen ve enfeksiyonlarının tedavisinde sorunlar yaşanan bakterilerdendir. Böyle durumlarda son çare antibiyotik olarak kullanılan kolistin direncinin tespiti enfeksiyonun tedavi açısından önemlidir. Bu çalışma, yöremizdeki enfeksiyonlardan da sıklıkla izole edilen bu üç bakterinin kolistin direnci hakkında ilk bilgileri elde etmek için plânlanmıştır.

Materyal ve Metot: Çalışmaya, farklı olguların çeşitli klinik örneklerinden ardışık olarak izole edilen 91 *E. coli*, 69 *K. pneumoniae* ve 37 *P. aeruginosa* olmak üzere toplam 197 suş dâhil edilmiştir. Bakteri izolatlarının kolistin direnci mikrodilüsyon yöntemiyle araştırıldı. Diğer antibiyotiklere duyarlılık Mueller-Hinton agarda disk difüzyon yöntemi ya da VITEK® 2 cihazı ile otomatize duyarlılık test sistemiyle araştırılmıştır.

Bulgular: Kolistinin 32 µg/ml'lik dilüsyonunda sadece 1 (%1.1) *E. coli* suşunda direnç gözlenmiştir. *Klebsiella pneumoniae* suşlarında kolistin direnci 16 µg/ml'de; *Pseudomonas aeruginosa* suşlarında ise 4 µg/ml ve daha düşük konsantrasyonlarda gözlemlendi. Sonuçta, *E. coli* suşlarının %12.1'i; *Klebsiella pneumoniae* suşlarının %11.6'sı ve *Pseudomonas aeruginosa* suşlarının da %5.4'ü kolistin direnci gösterdi. Bu üç bakteride toplam kolistin direncinin %10.7 olduğu tespit edildi. Bu bakterilere etkili antimikrobikler imipenem, meropenem, amikasin olmuş ancak sefalosporin grubu antibiyotiklere *E.coli* suşlarının ¼'ü, *Klebsiella pneumoniae* suşlarının yarısından fazlası ve *Pseudomonas aeruginosa* suşlarının sefepim hariç yine yarısından fazlası dirençli bulundu.

Sonuç: Gram-negatif bakterilerde kolistin direnci dikkat çekici boyutlardadır. Erzurum'da idrar yolları enfeksiyonları başta olmak üzere çeşitli mikrobik hastalıklardan sıklıkla izole edilen *E. coli*, *Klebsiella pneumoniae* ve *Pseudomonas aeruginosa* suşlarının diğer antibiyotiklere de dirençli oluşu tedavi seçeneklerini kısıtlayan bir sonuçtur. Kolistin direncinin yaygınlaşmaması için öncelikli olarak diğer antimikrobiklere direnç gelişiminin önüne geçilmesi gerekmektedir.

Anahtar Kelimeler: Antimikrobiyal direnç, *E. coli*, Erzurum, *Klebsiella pneumoniae*, kolistin, Mikrodilüsyon yöntemi, *Pseudomonas aeruginosa*.

ABSTRACT

Investigation of Colistin Resistance in *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae* and *Pseudomonas aeruginosa* Strains Isolated from Clinical Samples

Aim: *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae* and *Pseudomonas aeruginosa* are bacteria that can acquire multi-drug resistance and problems may occur in the treatment of their infections. In such cases, determining colistin resistance used as a last resort antibiotic is important in terms of the treatment of the infection. This study was planned to obtain the first information about the colistin resistance of these three bacteria, which are frequently isolated from infections in our region.

Material and Method: A total of 197 strains, 91 *E. coli*, 69 *K. pneumoniae* and 37 *Pseudomonas aeruginosa*, which were isolated consecutively from various clinical specimens of different patients, were included in the study. Colistin resistance of bacterial isolates was investigated by the microdilution method. Susceptibility to other antibiotics was investigated by disc diffusion method on Mueller-Hinton agar or by automated susceptibility testing system with VITEK® 2 device.

Results: Colistin resistance was observed in only 1 (1.1%) *E. coli* strain at a 32 µg/ml dilution of colistin. Colistin resistance in *Klebsiella pneumoniae* strains at 16 µg/ml; it was observed in *Pseudomonas aeruginosa* strains at 4 µg/ml and lower concentrations. As a result, 12.1% of *E. coli* strains, 11.6% of *Klebsiella pneumoniae* strains and 5.4% of *Pseudomonas aeruginosa* strains also showed colistin resistance. Total colistin resistance was found to be 10.7% in these three bacteria. The most effective antimicrobials against these bacteria were imipenem, meropenem, and amikacin, but ¼ of the *E.coli* strains, more than half of the *Klebsiella pneumoniae* strains, and more than half of the *Pseudomonas aeruginosa* strains, excluding cefepime, were found to be resistant to cephalosporin group antibiotics.

Conclusion: Colistin resistance is remarkable in the Gram-negative bacteria. The resistance of *E. coli*, *Klebsiella pneumoniae*, and *Pseudomonas aeruginosa* strains, which are frequently isolated from various microbial diseases, especially urinary tract infections in Erzurum, to other antibiotics is a result that limits treatment options. In order for colistin resistance not to become widespread, it is necessary to prevent the development of resistance to other antimicrobials.

Key Words: Antimicrobial resistance, colistin, *E. coli*, Erzurum, *Klebsiella pneumoniae*, microdilution method, *Pseudomonas aeruginosa*

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

ADP	: Adenozin difosfat
Dab	: Diaminobütirik asit
<i>E. coli</i>	: <i>Escherichia coli</i>
EAEC	: Enteroagregatif <i>E. coli</i>
ECDC	: European Centre for Disease Prevention and Control
EHEC	: Enterohemorajik <i>E. coli</i>
EIEC	: Enteroinvaziv <i>E. coli</i>
EMB	: Eosin methilene blue
EPEC	: Enteropatojenik <i>E. coli</i>
ETEC	: Enterotoksijenik <i>E. coli</i>
GNB	: Gram-negatif bakteriler
HUS	: Hemolitik üremik sendrom
İYE	: İdrar yolları enfeksiyonu (UTIs = Urinary Tract Infections)
KAMHB	: Katyon ayarlı Mueller-Hinton buyyonu
KDE	: Karbapeneme dirençli <i>Enterobacteriaceae</i>
KOB	: Koloni oluşturan birim
KOL	: Kolistin
Leu	: Lösin
LPS	: Lipopolisakarit
mcr	: Mobile colistin resistance
MHB	: Mueller-Hinton buyyonu
Thr	: Treonin;

ŞEKİLLER DİZİNİ

<u>Sekil No</u>	<u>Sayfa No</u>
Şekil 2.1. EMB agarda <i>E. coli</i> kolonileri.....	7
Şekil 2.2. EMB agarda <i>K. pneumoniae</i> kolonileri.....	7
Şekil 2.3. EMB agarda <i>P. aeruginosa</i> kolonileri.....	17
Şekil 2.4. KOL A ve B'nin kimyasal yapısı	18
Şekil 2.5. KOL'in bakteri hücre zarı üzerindeki etkisi.....	21
Şekil 3.1. Mikrodilüsyon işlemi	26
Şekil 3.2. Mikrodilüsyon yöntemiyle MİK tayini	27
Şekil 4.1. GNB'lerde KOL direncinin karşılaştırılması	30

TABLÖLAR DİZİNİ

<u>Tablo No</u>	<u>Sayfa No</u>
Tablo 2.1. GNB’lerde polimiksin direnç mekanizmalarının özeti	20
Tablo 3.1. Kolistin için EUCAST MİK sınır değerleri	26
Tablo 4.1. Örnek tiplerine göre bakterilerin dağılımı	28
Tablo 4.2. GNB izolatlarının cinsiyet gruplarındaki dağılımı ve kolistin direnci	28
Tablo 4.3. GNB’lerde kolistin direnci.....	29
Tablo 4.4. <i>E. coli</i> izolatlarının çeşitli antibiyotiklere direnç profilleri.....	31
Tablo 4.5. ESBL pozitif <i>E. coli</i> izolatlarında kolistin direnci.....	31
Tablo 4.6. <i>K. pneumoniae</i> izolatlarının çeşitli antibiyotiklere direnç profilleri	32
Tablo 4.7. ESBL pozitif <i>K. pneumoniae</i> izolatlarında kolistin direnci	33
Tablo 4.8. <i>P. aeruginosa</i> izolatlarının çeşitli antibiyotiklere direnç profilleri.....	33

1. GİRİŞ

Çoklu ilaca dirençli Gram-negatif bakteri (GNB)'lerde antibiyotik direncinin artması dünya çapında önemli sağlık sorunlarına neden olmaktadır. GNB'ler arasında 1970'lerde antibiyotik direncinde görülen artışın günümüzde kritik bir küresel krize dönüştüğü; özellikle de hastane kaynaklı olanların tedavisinde alternatif tedavinin giderek sınırlanmasına neden olduğu gerçeği ile karşı karşıyayız. Çalışma kapsamına dâhil ettiğimiz *Escherichia coli* (*E. coli*), *Klebsiella pneumoniae* (*K. pneumoniae*) ve *Pseudomonas aeruginosa* (*P. aeruginosa*) suşlarının çoklu ilaç direnci gösteren, hatta bütün ilaçlara dirençli suşlarının çoklu direnç mekanizmaları barındırdığını belirtilmektedir.¹

GNB'lerin florokinolonlar ve aminoglikozidlerin yanı sıra tüm beta-laktamlara karşı direnç prevalanslarındaki hızlı artış, kolistin tedavisi seçeneği olarak yeniden değerlendirilmesine yol açmıştır.² Bu bakterilerin (*E. coli*, *K. pneumoniae* ve *P. aeruginosa*) yöremiz halkından sıklıkla izole edildiği dikkate alındığında antibiyotik dirençlerinin yakından takip edilmesi önem arz etmektedir. Kliniklerde antibiyotik direnci görülen olgularda özellikle kolistin (KOL) kullanımı ön plana çıkmaktadır. Bu nedenle GNB'lerde KOL direncinin tespit edilmesi tedavi açısından önemli olmaktadır. Bu düşünceler ışığında, klinik mikrobiyoloji laboratuvarlarında izole edilen Gram-negatif patojenin KOL direnç durumlarının araştırılması ve bu bakterilerin farklı yörelerde direnç prevalansının bilinmesi orada alınması gereken tedbirler konusunda önemli bir fikir ve bilgiye sahip olunacağını söylemek mümkündür.

KOL, bakteri zarlarını bozarak hücre ölümüne neden olan polimiksin olarak bilinen antibiyotiktir. İlk kez 1947 yılında keşfedilen eski bir katyonik polipeptit antibiyotik grubunun bir üyesidir.³ KOL'in keşfinden sonra birkaç yıl kullanılmış ancak

ne yazık ki toksik yan etkileri nedeniyle kullanımdan kaldırılmış ancak çoklu ilaç direncine sahip GNB'lerin küresel yayılımı bu antibiyotiğin kullanımını yeniden gündeme getirmiştir.

KOL, günümüzde *P. aeruginosa*, *Acinetobacter baumannii* ve karbapenem dirençli *Enterobacteriaceae* (KDE) gibi bakterilerin neden olduğu ciddi enfeksiyonları tedavi etmek için kullanılmaktadır.⁴ Hayvan ve insan tıbbında yaygın olarak kullanılmakta olup KDE üyelerinin neden olduğu şiddetli enfeksiyonları olan hastalarda mevcut son tedavi seçeneklerinden biri haline gelmiştir.⁵ Bakterilerin KOL direnci transpoze edilebilir genetik elementler (örneğin, mcr genleri olan plazmidler) üzerinde kodlanabilir. İlk mobil KOL direnci (mobile colistin resistance = mcr) geni mcr-1, 2015 yılında tanımlanmış ve günümüzde bu sayı mcr-9'a kadar yükselmiştir.⁶ Kromozomal KOL direncinin, lipopolisakkaridin (LPS) modifikasyonu ile ilişkili olduğu bilinmektedir.⁷ KOL'e dirençli bakteri suşlarını tespit etmek ve direnç mekanizmalarını belirlemek için klasik mikrobiyolojiden moleküler biyoloji yöntemlerine kadar çeşitli yöntemler kullanılmaktadır. Disk duyarlılık testi KOL direncinin saptanmasında güvenilir olmadığı ve KOL duyarlılık testi için dilüsyon yöntemlerinin tercih edilmesi gerektiği belirtilmektedir.⁸

Klinik örneklerden elde edilen KOL'e dirençli *Enterobacteriaceae* izolatlarının gerçek prevalansı hala tam olarak belirlenemediği; bu konuyu ele alan çok az raporun bulunduğu; enterobakteriyel izolatlarda polimiksin direnci ilk olarak 2013 yılında Avrupa antimikrobiyal sürveyans raporuna dâhil edilmesine rağmen rapor edilen izolat sayısının az olması nedeniyle temsili bir prevalans oranının elde edilemediği belirtilmektedir.⁹ Ayrıca insan kaynaklı tüm *Enterobacteriaceae* izolatlarında KOL rutin olarak test edilmemiştir. Bu da bu antibiyotiğe direncin boyutlarının anlaşılmasında zorluk yaratmaktadır.

Biz bu çalışmada yöremizde daha önce KOL direnci araştırılmamış olan ve insan enfeksiyonlarından klinik mikrobiyoloji laboratuvarımızda ardışık olarak izole edilen izole edilen *Enterobacteriaceae* yesi *E. coli* ve *K. pneumoniae* suşlarının yanısıra *P. aeruginosa* suşlarının KOL dirençlerini araştırdık. Bu alışma ile yöremizdeki kolistin direnci prevalasını belirleyerek epidemiyolojik verilere bir girdi sağlanması amaçlanmıştır.



2. GENEL BİLGİLER

Polimiksin E olarak da bilinen KOL, çeşitli GNB'ye, özellikle de *Enterobacteriaceae* ailesine karşı etkili bir antimikrobiyaldır. Son zamanlarda, KOL direncinin geniş çapta yayılması, sadece insanlarda değil hayvanlarda da KDE enfeksiyonlarının tedavisi için son çare olarak bu antibiyotik bilim çevrelerinin ilgi odağı olmuştur.¹⁰ Çalışmamızda GNB'lerin üç farklı türünde KOL direnci araştırılmıştır. Çalışmaya dâhil edilen bu bakterilerin temel özellikleri ve bu bakterilere karşı antimikrobiyal etkinliği araştırılan KOL ile ilişkili bilgiler aşağıda verilmiştir.

2.1. *Enterobacteriaceae* Ailesi'nin Temel Özellikleri

Enterobacteriaceae ailesi, tıbbi açıdan önemli GNB'lerin en büyük, en heterojen grubudur. *Enterobacteriaceae* ailesinin PubMed kayıtlarında 25'in üzerinde tanımlanmış ve 15 kadar tanımlanmayı bekleyen olmak üzere toplamda 40'tan fazla cins ve yüzlerce tür/ alttür bulunmaktadır.¹¹ Bu cinsler, biyokimyasal özellikler, antijenik yapı, DNA-DNA hibridizasyonu ve 16s rRNA dizilemesi temelinde sınıflandırılmıştır.¹²

Enterobacteriaceae, dünya çapında toprakta, suda, bitkilerde bulunan ve insanlar dâhil çoğu hayvanın normal bağırsak florasının bir parçası olan organizmalardır. Aile üyelerinin çoğu fırsatçı patojen olup doğal ortamda yaşar ve bazen yaygın antibiyotiklere karşı dirençlidir.¹³ Bu bakteriler, insanlarda tüm bakteremilerin % 30 ile % 35'ine, idrar yolu enfeksiyonlarının (UTIs) % 70'inden fazlasına ve bağırsak enfeksiyonlarının çoğunun etkenidir.¹⁴ Bazı organizmalar (örneğin, *Salmonella*, serotip *typhi*, *Shigella* türleri, *Yersinia pestis*) her zaman insanda hastalık etkeniyken diğerleri (örneğin, *E. coli*, *K. pneumoniae* ve *Proteus mirabilis*) fırsatçı enfeksiyonlara neden olabilen normal vücut florası üyeleridir. Ailenin bazı üyeleri, hayvanların ve insanların bağırsak yolunda yaşarken önemli bir kısmı toprak, su, bitkiler veya böcekler gibi

değişik habitatta yaşamarını sürdürürler.¹⁵ *Enterobacteriaceae* enfeksiyonları organizmanın endojen yayılmasından kaynaklanabilir ve neredeyse tüm vücut bölgelerini kapsayabilir.

Enterobacteriaceae ailesinin üyeleri orta büyüklükte (03 ile 1.0 x 1.0 ile 6.0 µm) Gram-negatif boyanan çomak biçimli organizmalardır. Ortak bir antijeni paylaşırlar (enterobakteriyel ortak antijen) ya peritrik flagella ile hareketli ya da hareketsizdirler ve spor oluşturmazlar. Hareketsiz olan *Shigella* ve *Klebsiella* istisnaları dışında, bu bakteriler peritrik flagellaya sahiptir. Tüm üyeler kanlı agar ve MacConkey agar gibi ortamlarda hızlı, aerobik ve anaerobik olarak büyüyebilir. *Enterobacteriaceae* üyelerinin neredeyse tamamı fakültatif anaerobtur. Glikozu fermente ederler, nitratları nitritlere indirgerler ve oksidaz negatiftirler. Sitokrom oksidaz aktivitesi *Enterobacteriaceae* üyelerini diğer birçok fermentatif ve non-fermentatif GNB'lerden ayırmak için kullanılır.

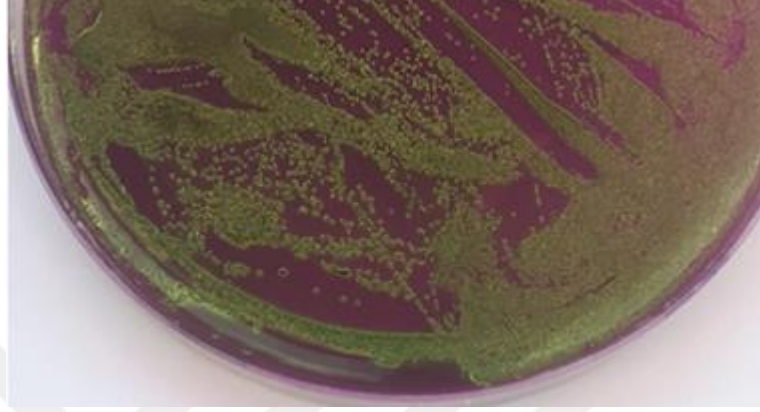
Enterobacteriaceae somatik O polisakkariti, kapsüler K antijenleri ve flagellar H proteinleri olmak üzere üç ana antijen grubuna göre sınıflandırılır.¹⁶ Isıya dayanıklı LPS başlıca hücre duvarı antijenidir ve üç bileşenden oluşur: En dıştaki somatik O polisakkaridi önemli bir virülans faktörü olan endotoksin özelliğindeki lipid A içerir. *Enterobacteriaceae* üyelerinin birçoğunda kromozom aracılı ortak fimbriya ve konjugatif plazmitler üzerinde kodlanan cinsiyet pilusları olmak üzere iki sınıfa ayrılan fimbrialar bulunur.¹⁷ Ortak fimbrialar, bakterinin özgün konakçı hücre reseptörlerine yapışmasında; cinsiyet veya konjugatif pilusları ise rekombinasyon olaylarında rol oynarlar.

Enterobacteriaceae ailesinin üyelerinde çok sayıda virülans faktörü tanımlanmıştır. Bazıları tüm cinsler için ortak iken bazıları belirli virulan suşlara özgüdür. Önemli virülans faktörlerinin birisi endotoksindir. Endotoksin GNB'lerde

ortak bir virölans faktörüdür. Bu toksinin aktivitesi, hücre lizisinde salınan LPS'nin lipid A bileşenine bağlıdır. Bir diğer faktör kapsüldür. Kapsüllü *Enterobacteriaceae* suşları, hidrofobik fagositik hücre yüzeyini iten hidrofilik kapsüler antijenler tarafından fagositer hücrelerin kendilerini fagosit etmelerini engellerler. Yaklaşık 20 proteinden oluşan Tip III salgı sistemi ise virölans faktörlerini hedeflenen konakçı hücrelerine iletmek için görev yaparlar. Bu sistem bakterinin invazyonu ve hücre içi sağkalımında rol oynar.¹⁸ Tip III salgı sisteminin yokluğunda bakteriler virölanslarını kaybeder. *Enterobacteriaceae* ailesinin bazı üyeleri bazı büyüme faktörlerini bağlayarak konakçıya zarar verirler. Özellikle demir, bakterilerin ihtiyaç duyduğu önemli bir büyüme faktörüdür. Patojen bakteriler konaktaki proteinlere bağlı demiri kullanabilmek için çeşitli mekanizmalar geliştirmiştir. Bunların içinde en bilineni sideroforlar olup bunlar demir bağlama yeteneği olan düşük molekül ağırlıklı bileşiklerdir. Bağırsak bakterilerinde enterobaktin ve aerobaktin olmak üzere iki tip siderofor tanımlanmıştır.¹⁹ Yine, sistemik enfeksiyonlara neden olabilen virölans organizmalar genellikle antikorlara dirençlidirler. Aynı şekilde *Enterobacteriaceae* üyeleri yeni kullanıma giren antibiyotiklere bile hızlı bir şekilde direnç geliştirebilmektedirler. Bu özellikleri bu aile üyelerinin yakından takip edilmesi gerektiği açıkça ortaya çıkmaktadır.

Enterobacteriaceae ailesinin mikrobiyolojik tanısında direkt mikroskopik incelemede Gram-negatif çomakların görülmesi önemlidir. Bu inceleme sadece bir ön bilgi almak açısından önemlidir. Tanı için diğer mikrobiyolojik işlemlere geçmek gerekir. *Enterobacteriaceae* ailesinin tanısında altın standart kültürde bakterilerin üretilmesidir. Besiyerlerinde kolay ürerler. BOS ve cerrahi operasyonda toplanan doku gibi steril örneklerden kanlı agar besiyerinde; normalde diğer organizmalarla kontamine olmuş örneklerin (dışkı, balgam gibi) kültürü MacConkey agar, eozin metilen mavisi (EMB) agarda kültürü yapılır. MacConkey agar ve EMB agar laktozu fermente eden

Enterobacteriaceae üyelerinin fermente etmeyenlerden ayırt edilmesini sağlar. Şekil 2.1’de belirgin metalik parlaklık gösteren *E. coli* ve Şekil 2.2’de *K. pneumoniae*’nin EMB agardaki sümüksü yapı gösteren kapsüllü kolonileri görülmektedir.



Şekil 2.1. EMB agarda *E. coli* kolonileri



Şekil 2.2. EMB agarda *K. pneumoniae* kolonileri

Kültürde üreyen *Enterobacteriaceae* üyelerinin tanısında öncelikle biyokimyasal yöntemlerden yararlanılır. Bakterinin glikoz, laktoz, mannitol gibi şekerleri fermente edip etmediği; çeşitli enzimlere sahip olup olmadığı besiyerlerinde 24 saatten daha kısa bir sürede tanımlanabilmektedir. Gerek kültürde üreyen bakterilere gerekse klinik örneklerde uygulanan serolojik testler tanıda önemli yer tutar. Serolojik testler özellikle klinik önemi olan bakteri serotiplerinin (örneğin, *E. coli* O157 ve *Yersinia*

enterocolitica 08 gibi) serotiplerinin belirlenmesinde yararlı olmaktadır. Enterobacteriaceae üyelerinin tanısında da diğer bakterilerin tanısında olduğu gibi otomotize sistemler kullanılmakta; tanıda moleküler mikrobiyolojik yöntemlere ihtiyaç duyulmamaktadır.

2.1.1. *Escherichia coli*

Escherichia coli, *Escherichia* cinsinin en yaygın ve önemli üyesidir. *E. coli*, insanlarda ve hayvanlarda bakteriyel enfeksiyonun en sık görülen nedenlerinden biri olup enterit, idrar yolu enfeksiyonu, sepsis ve neonatal menenjit gibi klinik enfeksiyonların önde gelen nedenidir. *E. coli* enfeksiyonlarının tedavisi, antimikrobiyal direncin ortaya çıkmasıyla tehdit altındadır. Çoklu ilaca dirençli *E. coli* suşlarının prevalansı, esas olarak plazmitler gibi hareketli genetik elementlerin yayılması nedeniyle dünya çapında artmaktadır.²⁰ İnsan ve hayvanların gastrointestinal kanalının normal sakinlerindendir. Ancak bağırsaklar delindiğinde bu bakteriler periton boşluğuna girerek fırsatçı patojenlik gösterirler. Ayrıca *E. coli* suşları plazmit ve bakteriyofaj gibi hareketli elementleri içeren patojenite adalarında veya bakteriyofaj DNA'sında kodlanmış spesifik virülans faktörleri kazandıklarında gastrointestinal ve ekstraintestinal hastalığa neden olurlar.²¹ *E. coli* suşları sepsisli olgulardan izole edilen en yaygın GNB'lerdendir. Toplumdan edinilen komplike olmayan idrar yolu enfeksiyonlarının (İYE'lerin) % 80'inden fazlasından sorumludurlar.²² Bu bakteriler hastane enfeksiyonlarında en sık izole edilen bakterilerdendir ve gelişmekte olan ülkelerde gastroenteritin önde gelen etkenleri olarak görülmektedir. Enfeksiyonların çoğu endojen kaynaklıdır. Antibiyotik tedavisi sırasında normal intestinal floranın bozulması, deri ve mukoza hastalıkları, travmalar, ameliyatlar, venöz kateterizasyon, trakeal entübasyon ve immünsüpresif tedavi koliform grubu bakterilerin enfeksiyon riskini artırır.²³

E.coli suşları insanlarda sıklıkla gastroenterite neden olmaktadır. Gastroenterite neden olan *E. coli* suşları beş ana gruba ayrılır: Enterotoksijenik (ETEC), Enteropatojenik (EPEC), Enteroagregatif (EAEC), Enterohemorajik ya da Shiga toksin üreten *E.coli* (EHEC/STEC) ve Enteroinvaziv (EIEC).²⁴

ETEC'in neden olduğu hastalık yaygın olarak gelişmekte olan ülkelerde görülür. Hastalık bulaşı yüksektir, bu nedenle enfeksiyonlar öncelikle dışkı ile kontamine yiyecek veya su tüketimi yoluyla kazanılır. Kişiden kişiye bulaş görülmez. Bir ile iki günlük bir inkübasyon süresinden sonra ETEC gelişmesini takiben ortalama 3 ile 5 gün devam eden salgısal ishal görülür.

EPEC ise yoksul ülkelerde ishal ile ilişkilendirilir. Gelişmiş ülkelerde, kreşlerde nadiren salgınlar yapar. Koruyucu bağışıklık geliştirdikleri için daha büyük çocuklarda ve yetişkinlerde nadir görülür. ETEC hastalığının aksine, EPEC kişiden kişiye yayılır. Hastalık şiddetli ve uzun süreli sulu ishal ile karakterize iken ateş ve kusma da görülen semptomlar arasındadır.

EAEC suşlarının, gelişmekte olan ülkelerdeki bebeklerde ve bu ülkelere seyahat edenlerde dehidratasyonla birlikte kalıcı sulu ishalin etkenidir. EAEC Amerika Birleşik Devletleri, Avrupa ülkeleri ve Japonya gibi gelişmiş ülkelerde çocukluk çağı diyaresinin önemli bir etkeni olarak kabul edilmektedir. EAEC, çocuklarda kronik ishal ve büyüme geriliği ile ilişkilendirilen birkaç bakteriden biridir. Bakteriler, bir "üst üste yığılmış tuğla" düzeninde, otoaglutinasyonları ile karakterize edilir.

EHEC gelişmiş ülkelerde yaygındır. EHEC hastalığı en çok sıcak aylarda ve en fazla 1- 4 yaşındaki çocuklarda görülür. Çoğu enfeksiyon, az pişmiş et veya et ürünleri, kontamine su, pastörize edilmemiş süt veya meyve suları, ıspanak gibi pişmemiş sebzeler ve iyi yıkanmamış meyvelerin tüketimiyle ilişkilendirilir.²⁵ Enfekte olmak için 100'den az bakterinin alınması yeterlidir ve kişiden kişiye yayılır. EHEC'in neden

olduğu hastalık hafif, komplike olmayan ishalden şiddetli karın ağrısı ve kanlı ishal ile hemorajik kolit gibi farklı semptomlar gösterir. Hemolitik üremik sendrom (HÜS), akut böbrek yetmezliği, trombositopeni ve mikroangiyopatik hemolitik anemi ile karakterizedir. HÜS çoğunlukla on yaşın altındaki çocuklarla ilişkilidir ve çoğunluğu 5 yaşın altındaki çocuklarda görülür. Tipik HÜS'ün% 90'ından fazlasına Shiga toksin üreten *E. coli* (STEC) neden olur.²⁶ Komplike olmayan hastalıkta, tedavi edilmeyen hastaların çoğunda 4 ile 10 gün sonra semptomlar düzelir. EHEC'nin en yaygın suşu, serotip O157: H7'dir.

EIEC, fenotipik olarak *Shigella* türleri ile yakından ilişkilidir ve shigellosis'e benzer şekilde enterokolit sendromuna neden olur.²⁷ Bakteriler, kolondaki epitelyumu istila edebilir, bu da hastalığın başlangıçta sulu ishal ile karakterize olmasının başlıca nedenidir. Hastaların çok az bir kısmında ateş, karın ağrısı, dışkı örneklerinde kan ve lökositlerden oluşan dizanterik form görülür. *Shigella flexneri* ve EIEC suşlarının, çok benzer patojenite mekanizmalarıyla insanlarda hastalığa neden olduğu bilinmektedir. Enfeksiyondaki temel erken adımlar, kolonik epitel hücrelerinin istilasını, bakteri çoğalması ve bitişik hücrelere yayılmasıdır. Bu virülans özelliklerinin ortaya çıkması için gerekli genler, büyük bir virülans plazmiti (pINV) üzerinde bulunur ve merkezi bir düzenleyici tarafından kontrol edilen regulonlarda düzenlenir.²⁸ Bu genler bakterinin kolon epiteline istilasına aracılık eder. Bakteriler daha sonra fagositik vakuolü parçalayarak sitoplazmaya geçer ve orada çoğalırlar. Oradan bitişik epitel hücrelerine geçerler ve enflamatuar infiltrasyonla birlikte epitel hücre yıkımı ve kolonda ülserasyon yapabilirler.

E.coli suşları ekstraintestinal enfeksiyonlarda da yaygın olarak gözlenir. En sık İYE'de karşımıza çıkarlar. İnsanlarda İYE enfeksiyonunun majör etkenlerindendir. Bu bakteriler üretrayı kontamine ederek mesaneye çıkabilir ve oradan da böbrek ve prostata

göç edebilirler. Bu bakteriler, mesaneyi ve üst üriner sistemi kapayan hücrelere bağlanan adhezinler ve eritrositler ile diğer hücre tiplerini parçalayan α -hemolisin (HlyA) üretirler. HlyA, İYE'den izole edilen *E. coli*'nin en önemli salgısal virülans faktörüdür. Bu toksin, mukozal bariyerleri geçmek, konakçı besinlere ve demir depolarına erişim sağlamak ve T lenfositler ve nötrofiller gibi efektör bağışıklık hücrelerine zarar vermek için konakçı hücreleri parçalayabilir.²⁹ Yaptıkları bir diğer ekstraintestinal enfeksiyon yenidoğan menenjitidir. Ayrıca üriner veya gastrointestinal sistem enfeksiyonlardan kaynaklanan septisemilere de neden olurlar.

2.1.2. *Klebsiella pneumoniae*

Enterobacteriaceae ailesi üyesi olup Gram-negatif bir bakteridir. *Klebsiella* türleri su, toprak ve hayvanlar dâhil olmak üzere doğada her yerde bulunur ve tıbbi cihazlarına kolonize olabilirler. *K. pneumoniae*, büyük bir eklenti plazmit genomuna ve kromozomal gen lokuslarına sahip bir diğer patojendir. Bu yardımcı genom, *K. pneumoniae* suşlarını fırsatçı, hipervirülen ve çoklu ilaca dirençli gruplara ayırır ve bu bakteriyi yakından ilişkili iki türden, *K. variicola* ve *K. quasipneumoniae*'den ayırır.³⁰ *Klebsiella* cinsinin üyeleri, izole kolonilerin mukoid görünümünden ve organizmanın in vivo, artmış virülansından sorumlu olan belirgin bir kapsüle sahiptir. Bu cinsin en sık izole edilen üyeleri *K. pneumoniae* ve *Klebsiella oxycota*'dır. *Klebsiella* popülasyonun %5'i, normal solunum yolları ve intestinal florada bulunur. Bu çomak biçimli bakterinin son zamanlarda nozokomiyal enfeksiyonlarda görülme sıklığı artmıştır. *Klebsiella* aynı zamanda toplum kaynaklı önemli sayıda enfeksiyondan da sorumludur. *Klebsiella* türleri, pnömoni, idrar yolu enfeksiyonları (İYE), kan dolaşımı enfeksiyonları ve sepsis gibi çok çeşitli hastalıklara neden olur. Bu enfeksiyonlar özellikle yeni doğanlar, yaşlılar ve bağışıklığı baskılanmış bireyler arasında önemli bir sorundur. Bu enfeksiyonların tanımlayıcı bir özelliği, morbidite ve mortalitesidir ve bunlarla ilişkili

Klebsiella suşları hipervirülan olarak kabul edilir. Çoklu ilaca dirençli suşların artan izolasyonu, *Klebsiella* enfeksiyonlarının tedavisi için terapötik seçenekleri önemli ölçüde daraltmış veya bazı durumlarda tamamen ortadan kaldırmıştır.³¹ Toplumda veya hastane enfeksiyonlarında primer lobar pnömoniye neden olur. *Klebsiella* türlerinin neden olduğu pnömoni bazen haftalar veya aylar sürebilen kronik bir hastalık olarak kendini gösterebilmektedir.

K. pneumoniae suşlarının birçok antibiyotiğe direnç kazanması endişe verici boyutlara ulaşmış ve bu antibiyotik direncinin bir sonucu olarak, İYE gibi basit enfeksiyonlar tedaviye yanıt vermez olmuş, pnömoni ve bakteremi gibi daha ciddi enfeksiyonların tedavisi zorlaşarak, hayatı tehdit edici hale gelmiştir. *K. pneumoniae*'da yaygın olarak iki ana antibiyotik direnci türü gözlenmiştir. Bir mekanizma, bakterileri sefalosporinlere ve monobaktamlara dirençli hale getiren geniş spektrumlu β -laktamazların (ESBL'ler) ekspresyonunu içerir. Daha da rahatsız edici olan diğer direnç mekanizması, bakterileri karbapenemler de dâhil olmak üzere hemen hemen tüm β -laktamlara dirençli hale getiren *K. pneumoniae* tarafından karbapenemazların ekspresyonudur.³²

2.2. *Pseudomonadaceae* Ailesi'nin Temel Özellikleri

Pseudomonadaceae çok geniş ve önemli bir Gram-negatif boyanan bakteri ailesidir. Ailenin üyeleri, toprakta, tatlı sularda, deniz suyunda ve diğer birçok niş ve çevresel habitatta serbest yaşayan saprofitler türleri olduğu gibi bitki ve hayvanlarda önemli sayıda hastalık yapan türleri de bulunmaktadır. *Pseudomonadaceae* ailesinin ortak olan temel morfolojik özellikleri arasında düz ya da hafif kavisli çomak biçimli hücreler, polar bir ya da daha fazla flagellalarının varlığı, Gram-negatif oluşları ve spor oluşturmamaları sayılabilir. Bu morfolojik özellikler, *Pseudomonas*, *Xanthomonas*, *Gluconobacter*, *Zoogloea*, *Nitrosomonas*, *Nitrobacter*, *Thiobacillus*, *Sphaerotilus*,

Leptothrix, *Caulobacter*, *Asticcacaulis*, *Methanomonas*, *Comamonas*, *Alginas* gibi birçok bakteri türü tarafından paylaşılır. İlk dört cins, şu anda *Pseudomonadaceae* ailesinin üyeleri olarak bu listenin geri kalanından ayrılmıştır. Bu aile yaklaşık bir asır önce Winslow ve arkadaşlarınca oluşturulmuş ve tanımı yıllar içinde önemli değişikliklere uğramıştır.³³ Bu değişim daha sonraki yıllar içinde de cins ve tür seviyesinde devam etmiştir. Ailenin bazı üyeleri onları konak savunmasından koruyan polisakkaritlerden yapılmış bir tür yalancı kapsüle (glikokaliks) sahiptir. *Pseudomonadaceae* ailesini diğer bakteri gruplarından ayırt edici özellikleri arasında: Oksidaz pozitifler (sitokrom c oksidaz enzimleri vardır); nonfermentatifler; çoğu glikozu, 6-fosfogliseraldehit dehidrojenaz ve aldolazın aracılık ettiği Entner Doudoroff yolu ile metabolize eder; polar flagellaları ile hareketlidirler. Yine bazılarının patojenite indikatörü olarak düşünülen floresan pigmenti pyoverdinin türevlerini üretmesi bu ailenin önemli özelliklerindendir.³⁴ *Pseudomonadaceae* ailesi oksidaz üretmeleri, polar flagella içermeleri ve fermentasyon yapmamaları ile *Enterobacteriaceae* ailesinden ayrılırlar.

Pseudomonadaceae üyeleri genellikle zorunlu aerob olsalar da, bazıları; ortamdaki nitratları solunumlarında elektron alıcısı olarak kullanır ve anaerobik olarak da büyüebilirler. Bu bakteriler geniş sıcaklık aralıklarında büyüebilirler, optimum üreme sıcaklığı ise 37° C'dir. Temel ve basit besiyerlerinde gelişebilir ve hemen hemen bakteriyoloji laboratuvarında rutin olarak kullanılan tüm kültür ortamlarında ürerler.

2.2.1 *Pseudomonas aeruginosa*

P. aeruginosa deri, kulak, göz, idrar yolları, solunum yolları, kalp ve akciğer dokularını etkileyen geniş bir enfeksiyon yelpazesi ile ilişkili fırsatçı bir insan patojendir. Nazokomiyal enfeksiyonlara neden olan *P. aeruginosa* suşlarının görülme sıklığı, çok ilaca dirençli suşların artışı ve kronik enfeksiyonlar sırasında bakterinin gösterdiği adaptif antimikrobiyal direnç, dünya çapında insan sağlığına ciddi bir tehdit

oluşturmaktadır.³⁵ İnsanlarda ciddi enfeksiyonlarla kendini gösteren bu bakterinin dâhil olduğu olan *Pseudomonas* cinsi başlangıçta, morfolojik benzerlikleri nedeniyle bir arada gruplandırılan fermentatif olmayan bakterilerin geniş, heterojen bir koleksiyonundan oluşuyordu. Genellikle tek bir hücreye benzeyen hücre çiftleri halinde düzenlendikleri için psödomonadlar olarak anılırlar. Bu cins 1992 yılında bir dizi yeni cinse (*Burkholderia* ve *Stenotrophomonas* dâhil) bölünmüştür. Bu bölünmeye rağmen, *Pseudomonas* cinsi en fazla sayıda tanımlanmış türe sahip Gram-negatif organizma olup tanımlanmış tür sayısı 220'den fazladır.³⁶ Bugün, *Pseudomonas* cinsinin 255 tür ve 18 alt türle temsil edildiği belirtilmiştir.³⁷ *P. aeruginosa* en önemli *Pseudomonas* türüdür.

Cinsin üyeleri toprakta, çürüyen organik madde, bitki örtüsü ve suda bulunur. Ne yazık ki, hastane ortamında yiyecek, lavabolar, tuvaletler, yer bezleri, solunum tedavisi ve diyaliz ekipmanı gibi nemli rezervuarlarda ve hatta dezenfektan solüsyonlarda da bulunurlar.³⁸ *P. aeruginosa*, normal insan mikrobiyotasının bir parçası olmayan fırsatçı bir insan patojenidir. Hastanede yatan hastalarda, bağışıklığı zayıflamış bireylerde (AIDS'li kişilerde), kemoterapi alan nötropenik hastalarda ve yanıkları olan kişilerde akut enfeksiyonlara neden olur. *P. aeruginosa* kistik fibroz, kötü huylu dış kulak iltihabı, “yüzücü kulağı”, ventilasyon alan hastalarda pnömoni, kontakt lens keratiti ve travmatik endoftalmide rol oynayan patojenler arasında yer almaktadır.³⁹

Pseudomonas türleri genellikle hareketli, düz veya hafif kavisli Gram-negatif 0.5 ila 1.0 X 1.5 ila 5.0 µm büyüklüğündeki çomaklardır. Bazı suşlar, bir polisakkarit kapsülün bolluğundan dolayı mukoid görünür. Bu suşlar kistik fibrozlu hastalarda yaygındır. Mukoid kolonileri oluşturan bakteriler, diğerlerine göre daha virülandır. *Pseudomonas*lar belirgin meyvemsi kokular veren büyük, opak, düz koloniler üretir. Su ve toprak kaynaklı izolatlar küçük yuvarlak koloniler oluştururken solunum yolları, idrar gibi klinik örneklerden elde edilen izolatlar mukoid koloniler oluşturabilir.

Büyüme rengi, organizma tarafından üretilen pigmentlerin türüne bağlı olarak değişir. Pseudomonaslar tarafından üretilen pigmentleri: yeşilimsi sarı floresan pigment pyoverdin; mavimsi yeşil pigment piyosiyanin; kırmızı pigment pyorubin ve kahverengi pigment pyomelanin.⁴⁰

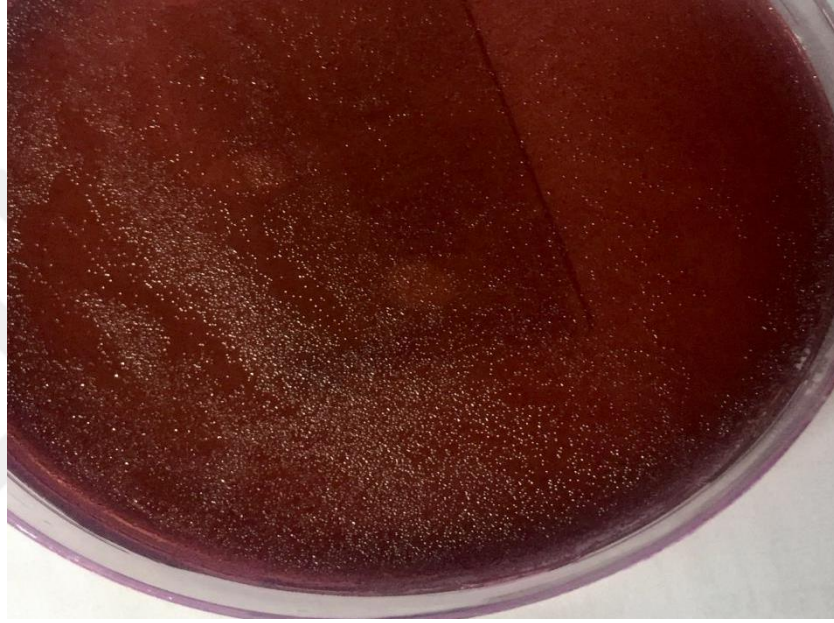
P. aeruginosa, yapısal bileşenler, toksinler ve enzimler dâhil olmak üzere birçok virülans faktörüne sahiptir. Ek olarak, tip III salgı sistemi olan *Pseudomonas* tarafından kullanılan salınımm sistemi, toksinlerin konakçı hücreye enjekte edilmesinde özellikle etkilidir. Glikokaliks-kapsüler materyal gibi yüzey yapıları, mukozal yüzeylere yapışmada ve hücrelerin fagositoza ve immünolizine karşı dirençte rol oynar. GNB'lerin diğer bir genel bileşeni endotoksindir, ancak bu hücre duvarı bileşeninin toksisitesi, *P. aeruginosa*'da nispeten düşüktür. Hastalıkta olası bir rolü olan bir dizi proteolitik enzim tarif edilmiştir: kolajenaz, fibrinolizin, elastaz, kazeinaz jelatinaz, ve proteolitik enzimler tanımlanmıştır.⁴¹ Virülans faktörlerinin çeşitliliğine rağmen, *P. aeruginosa*'nın hastalığa neden olması için birden fazla faktörün birlikte işlev görmesi gerektiğine inanılmaktadır. *P. aeruginosa*'nın konakçı hücrelerle etkileşime geçmesinde ve onlara tutunmasında hücre zarındaki proteinler, lipidler ve şekerler aracılık eder. *P. aeruginosa* flagellası, tip 4 pilusları konakçı hücrelere veya mukus katmanlarına taşınmasını ve bunlara bağlanmasını, çevrelerinin mekanik özelliklerini algılamasını ve yüzeydeki biyofilm gelişiminin erken aşamasını kolaylaştırmasını sağlayan güçlü virülans faktörleridir.⁴² Yine, önemli virülans faktörlerinden olan ve AlgI, AlgJ ve AlgF olmak üzere üç proteinin bir kompleksi olan yüksek moleküler kütleli aljinat gibi yapısal bileşenleri konak hücrelerine yapışmayı kolaylaştırırlar.⁴³ Aljinat, bakteri yüzeyinde belirgin bir kapsül oluşturan ve organizmayı fagositozdan ve antibiyotik aktivitesinden koruyan bir mukoid ekzopolisakkarittir. *P. aeruginosa*'nın bu mukoid suşları kistik fibroz veya diğer kronik solunum hastalıkları olan hastalarda etkili olurlar.

Bir diğerk virulans faktörü LPS'nin lipid-A bileşeni endotoksin aktivitesinden sorumludur. Eksotoksin A (ETA), tedavisi zor çoklu ilaca dirençli *P. aeruginosa* suşları tarafından üretilen en güçlü bakteriyel virölans faktörlerinden biridir. Bu toksinin hayatı tehdit eden nozokomiyal enfeksiyonların ortak nedeni olduğu ve dünya çapında enfeksiyonların patogenezeine, bulaşmasına ve ilaç direncine yeni bir paradigma kazandırdığına inanılmaktadır.⁴⁴ Ekzotoksin üreten suşaların neden olduğu enfeksiyonlar orta kulak iltihabı, otitis eksterna, keratit, bakteremi, endokardit, pnömoni, ürosepsis örneklerinde olduğu gibi vücudun herhangi bir yerinde meydana gelebilir. Enfeksiyonlar, yoğun bakım ünitelerinde olanlar, özellikle ventilatöre bağımlı kişiler ve kistik fibroz, kanser, diyabet, travma, cerrahi ve neonatal bebekler gibi halihazırda çok hasta olan kişiler için ölümcül olabilir.

P. aeruginosa doğası gereği birçok antibiyotiğe dirençlidir *P. aeruginosa*, nozokomiyal gastrointestinal, idrar yolu ve kan dolaşımı enfeksiyonları dâhil ciddi enfeksiyonlarda yer alır. Bu organizmanın neden olduğu enfeksiyonun tedavisi, β -laktam ve penem grubu gibi birçok antibiyotiğe karşı doğal olarak dirençli oluşları ve Beta-laktamlar aminoglikozitler ve florokinolonlar dâhil olmak üzere birden fazla antibiyotik sınıfına karşı direnç edinme yetenekleri nedeniyle tedavisi zordur.⁴⁵ Bakteri, antimikrobiyal ajanların etkisine, bakteri hücre duvarının düşük geçirgenliği ve eflüks, antibiyotik inaktivasyonu, modifikasyonu ve antibiyotiğin hedef bölgelerinde değişikliğe neden olarak karşı koyar.⁴⁶ *P. aeruginosa* suşlarının antibiyotiklere direncinde porin proteinlerinin mutasyonu önemli bir yer tutmaktadır.

Pseudomonasların laboratuvar tanısı mikroskopide GNB'lerin görülmesi; kültürde bakterinin üretilmesi temeline göre konulur. Kanlı agar, MacConkey agar ve EMB agarda kolay ürerler (Şekil 2.3.'te *P. aeruginosa*'nın EMB agardaki koloni morfolojisi görölmektedir). Genellikle zorunlu aerob olsalar da, bazıları ortamda

nitratlar solunum elektron alıcısı olarak işlev görür ve anaerobik olarak da büyüyebilirler. *P. aeruginosa*, anaerobik solunum sırasında daha sağlam biyofilm oluşturur. Ancak, anaerobiosis ile tetiklenen kistik fibroziste biyofilm oluşumunun arkasındaki moleküler temel henüz net bir şekilde tanımlanmamıştır.⁴⁷ Pseudomonasların gereksindikleri optimum sıcaklık 37°C; optimum pH ise nötral ve nötrale yakın seviyelerdir.

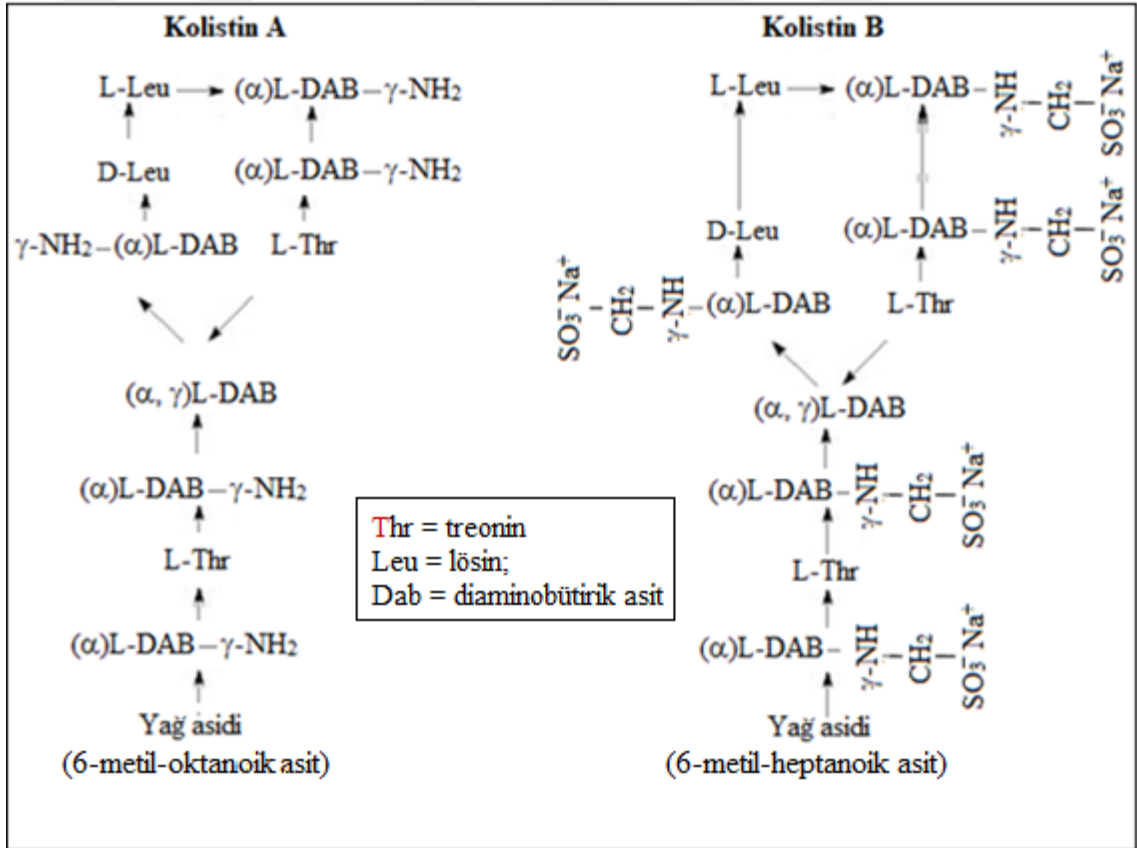


Şekil 2.3. EMB agarda *P. aeruginosa* kolonileri

2.3. Kolistin

Polimiksin E olarak da adlandırılan ve etkisini bakterinin hücre membranı üzerinde gösteren KOL, polimiksin grubuna ait bir antibiyotiktir. Bu antibiyotik 1940'larda keşfedilmiş, ancak nefrotoksisite ve nörotoksisite gibi yan etkileri nedeniyle klinik kullanımı 1970'lerden itibaren büyük ölçüde terk edilmiştir.⁴⁸ Bununla birlikte, GNB'lerde, özellikle *P. aeruginosa*, *Acinetobacter baumannii*, *K. pneumoniae* ve *E. coli* suşlarında çoklu ilaç direncinin artması nedeniyle 2010'lu yılların ortalarından itibaren yeniden kullanılmaya başlanmıştır. Polimiksinler, Gram-pozitif bakteri

Paenibacillus polymyxa (eski adı *Bacillus polymyxa*) tarafından üretilen antibakteriyel peptidlerdir. Polimiksinler A, B, C, D, E olmak üzere 5 gruba ayrılmıştır; klinik uygulamada yaygın olarak kullanılan Polimiksin B (PMB) ve Polimiksin E (KOL)'dir. Polimiksin A, C ve D, aşırı derecede toksik oldukları için klinik uygulamada kullanılmamaktadır.⁴⁹ Her iki tip polimiksin (PMB ve KOL), yağ asidine bağlı bir tripeptit yan zinciri ile bir dekapeptit halkası oluşturan D- ve L-amino asitlerden oluşur. KOL A ve B'nin kimyasal yapısı Bialvaei ve Samadi'den adapte edilerek Şekil 2.4 de sunulmuştur.²



Şekil 2.4. KOL A ve B'nin kimyasal yapısı.

Farklı polimiksin grupları genellikle amino asitlerin ve terminal serbest yağ asitlerinin bileşimine bağlı olarak ortaya çıkmaktadır. KOL, tripeptid yan zincirle birlikte D ve L- aminoasitlerinin oluşturduğu heptapeptid halkasının bir

kombinasyonudur.⁵⁰ Beş peptit bileşeni, fizyolojik vücut sıvısında katyonik karakteristiğe sahip serbest amin bileşenine (NH₄⁺) bağlanır. Peptit ucu hidrofilik; yağ asidi kısmı hidrofobiktir.⁵¹

Günümüzde KOL direnç oranı %10 gibi düşük oranda olsa da, bu oranın zaman içerisinde giderek ivme kazandığı belirtilmektedir.⁵² Katyonik bir peptid olan KOL, GNB'lerin dış zarlarında bulunan anyonik LPS ve fosfolipidlere bağlanarak hücre zarının düzenini bozar. LPS moleküllerini bir arada kalmasını sağlayan magnezyum ve kalsiyumu katyonların yerini değiştirerek, dış membranda permeabilite artışına neden olur ve sonuçta hücre içi içeriğini kaybeden bakteri ölür.⁵³

KOL genellikle *Pseudomonas Acinetobacter*, *E. coli*, *Enterobacter*, *Klebsiella*, *Salmonella*, *Shigella*, *Stenotrophomonas maltophilia*, *H. influenzae*, *Bordetella pertussis* gibi GNB'ler üzerinde etkili olan bir antibiyotik olarak bilinir. Polimiksin B'nin Gram-pozitif bakterilere ve anaeroblara karşı etkinliği olmadığı ifade edilmektedir.⁵⁴ Ancak bu antibiyotiğin sadece Gram-negatiflere değil *S. aureus*, *Streptococcus gordonii*, *Streptococcus agalactiae* ve *Listeria monocytogenes* gibi Gram-pozitif bakterilere de etkili olduğu belirtilmektedir.¹

2.4. Bakterilerde KOL Direnci

KOL, *Enterobacteriaceae*'nin çoğu üyesine ve yaygın fermentatif olmayan GNB'lere karşı etkilidir. Maalesef KOL'e dirençli *Escherichia coli* ve *Klebsiella pneumoniae* suşları küresel olarak artmaktadır. Özellikle KDE üyeleri arasında KOL direncinin hızla artması European Centre for Disease Prevention and Control (ECDC) tarafından endişe verici olarak değerlendirilmektedir.⁵⁵ KDE'deki KOL direncine hastane ortamlarında sıklıkla rastlanmaktadır. İlk olarak, KOL direncinin kromozomal mekanizmalarla ortaya çıktığı gösterildi. Ancak, son yıllarda plazmid aracılı mobil KOL direncinin “mcr” genleri tarafından da bakteriye kazandırıldığı bildirilmiştir. “Mcr” gen

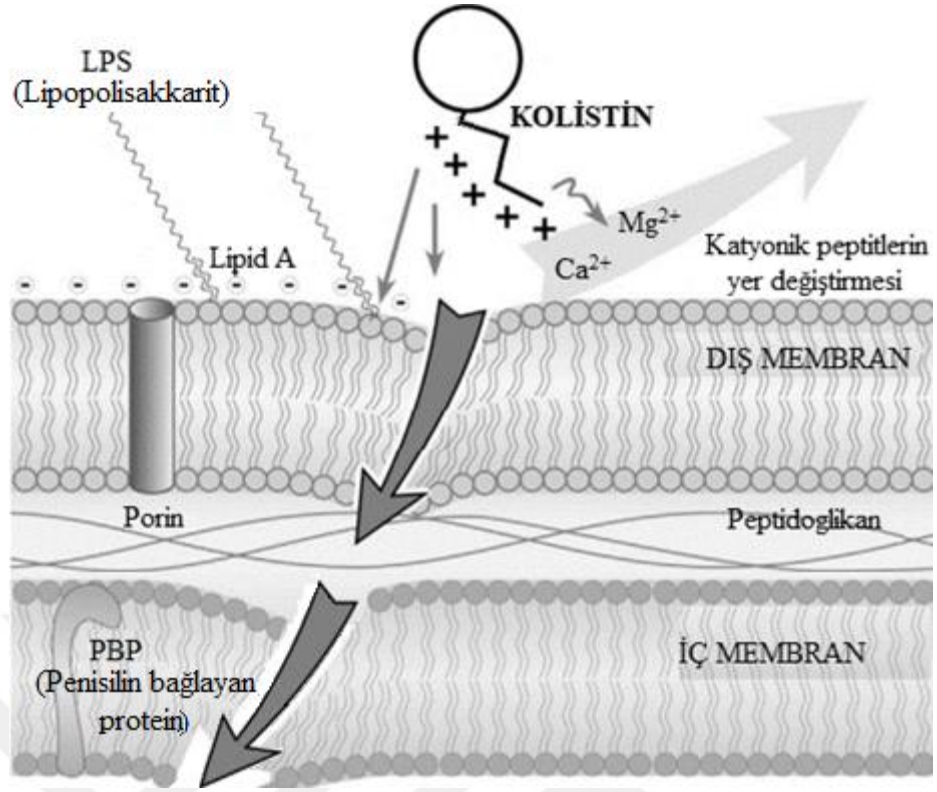
ailesi (mcr-1'den mcr-10'a), KOL direncinin hızlı yayılmasını kolaylaştıran yatay transfer edilebilirlikleri nedeniyle halk sağlığı için büyük bir tehdit unsurudur. Bu genlerin pEtN'nin bakteriyel lipid A'nın fosfat grubuna eklenmesini katalizleyen, dış zarın negatif yükünü azaltan, böylece pozitif yüklü KOL ile afinitesini zayıflatan ve ilaç direncine neden olan fosfoetanolamin (pEtN) transferazı kodladığı anlaşılmıştır.⁵⁶

GNB'ler üzerindeki polimiksin etkisindeki ilk ve kritik adım, pozitif yüklü peptit ile negatif yüklü LPS arasındaki elektrostatik etkileşimdir. Polimiksinlere direnç mekanizmalarının çoğu, bu ilk etkileşimi durduran veya azaltan LPS'ye yapılan değişikliklere dayanmaktadır. Çok sayıda tür, net negatif yükünü azaltarak lipid A'nın modifikasyonu için farklı mekanizmalar geliştirmiştir. *P. aeruginosa*, *Salmonella enterica* serovar *typhimurium* ve *E. coli*'de, lipid A'nın 4-amino-4-deoksi-L-arabinoz (L-Ara4N) ve / veya fosfoetanolamin (PEtn) ile modifikasyonu, LPS'nin net negatif yükünü azaltır.⁵⁷ Böylece polimiksinlere karşı direnci arttırır. Polimiksin direncine neden olan LPS modifikasyonunda ayrıca yüksek Fe^{3+} konsantrasyonları ve düşük pH'da rol oynar.⁵⁸ LPS'nin modifikasyonu, polimiksinlere karşı tek direnç mekanizması değildir. *K. pneumoniae*'de, kapsül varlığı polimiksin direnci için kritik öneme sahiptir. *S. typhimurium*'da mig-14 geni, polimiksin direncinde rol oynar.⁵⁹ *Vibrio cholerae*, polimiksin sülfata direnç, dış zar porini OmpU'ya bağlıdır.⁶⁰ Tablo 2.1'de GNB'lerde polimiksinlere karşı gözlenen ana direnç mekanizmalarının bir özeti verilmiştir.⁵⁴

Tablo 2.1. GNB’lerde polimiksin direnç mekanizmalarının özeti

Bakteri	Polimiksine direnç mekanizması
<i>E. coli</i>	Lipid PmrA / PmrB tarafından kontrol edilen hem L-Ara4N hem de PEtn ile bir modifikasyon
<i>K. pneumoniae</i>	Kapsül polisakkarit üretimini artırır
<i>P. aeruginosa</i>	Lipid A modifikasyonları, PmrA/PmrB tarafından kontrol edilen L-Ara4N ile
<i>S. enterica serovar Typhimurium</i>	Hem L-Ara4N hem de PEtn ile PmrA / PmrB tarafından kontrol edilen Lipid A modifikasyonu, mig-14 geni direnç için gereklidir, ancak direnç LPS modifikasyonunu içermez
<i>Burkholderia cenocepacia</i>	Tam bir LPS iç çekirdek oligosakkarit gereklidir
<i>Helicobacter pylori</i>	Lipid A modifikasyonu
<i>Yersinia pestis</i>	Lipid PmrA / PmrB 38 tarafından kontrol edilen L-Ara4N ile bir modifikasyon
<i>Vibrio cholerae</i>	ToxR tarafından düzenlenen dış zar proteini OmpU varlığı

Martis ve arkadaşlarının çalışmalarından yararlanılarak hazırlanan Şekil 2.5’te ise KOL’in bakteri zarı üzerindeki etkisi şematize edilmiştir.⁶¹ Şekilde KOL’in katyonik siklik decapeptit yapısı, GNB’lerin dış hücre zarından kalsiyum ve magnezyumun yerini değiştirip anyonik LPS moleküllerine bağlanarak hücre zarında geçirgenlik değişikliklerine ve hücre içeriğinin sızmasına neden olduğu şematize edilmiştir. KOL, LPS'nin lipit A kısmına bağlanarak, bir anti-endotoksin aktivitesi gösterir.



Şekil 2.5. KOL'in bakteri hücre zarı üzerindeki etkisi.

KOL direnci temel olarak "dilüsyon" yöntemiyle araştırılır. KOL'in agarda zayıf diffüze olması nedeniyle "disk difüzyon yöntemi uygun değildir. Difüzyon testleriyle saptanan direnç, sıvı dilüsyon yöntemleriyle doğrulanmalıdır.⁵⁴ Dilüsyon testleri "tüp dilüsyon" ve "agar dilüsyon" olmak üzere iki şekilde uygulanmaktadır. Dilüsyon yöntemi makro ve mikro olmak üzere iki şekilde yapılabilir. İki yöntemin arasındaki fark; makro dilüsyon yönteminde test tüpleri kullanılırken, diğer yöntemde mikropipler kullanılır.

3. MATERİYAL VE METOT

Bu çalışma, Atatürk Üniversitesi Tıp Fakültesi Klinik Araştırmalar Etik Kurulu'nun 28.05.2020 tarihli 06 nolu toplantısında 71 nolu karar ile etik kurul onayı almıştır.

3.1. Örneklerinin Alınması ve Gönderilmesi

Atatürk Üniversitesi Sağlık Araştırma ve Uygulama Hastanesine Eylül 2019 – Haziran-2020 tarihleri arasında başvuran ya da hastanede yatan olguların idrar, kan, gaita, yara, balgam, kulak akıntısı örnekleri rutin yöntemlerle alınmış ve ilgili kliniklerden laboratuvarımıza gönderilmiştir. Gelen örnekler koruyucu içermeyen tüplerde toplanmış ve dondurulmamış örnekler laboratuvara ulaşır ulaşmaz ya da en geç bir saat içerisinde kültür işlemine tabi tutulmuştur. Laboratuvarlarımızda; sızdıran kaplarda gelen örnekler; foley kateter uçları, kateterli hastaların idrar toplama torbalarından alınan idrar örnekleri kültür için kabul edilmemiştir.

3.2. Örneklerin Kültürü

Alınan farklı örnekler için rutin kültür yöntemleri uygulandı. Kültür işleminde Eosin Methylene Blue (EMB) agar, MacConkey agar ve Kanlı agar plakları ve kan kültürü tüpleri kullanıldı. Kan kültürü dışında ekimi yapılan besiyerleri etüve yerleştirilmiş ve 35-37°C'de 18-24 saat inkübasyona bırakılmıştır. Kan kültürleri için otomatize Bactec sistemi kullanıldı; 24-48 saat içinde üreyen bakteriler EMB ve kanlı agara pasajlandı.

3.3. Kültürde Üreyen Mikroorganizmaların Tanısı

İnkübasyon sonunda üreyen mikroorganizmaların kolonilerin morfolojileri değerlendirilmiş ve mikroorganizmaların tür ya da cins seviyesinde tanısı gerçekleştirilmiştir. İşleme alınan bakteriler Gram boyama, besiyerinde koloni morfolojisi; katalaz, oksidaz, koagülaz, triptofonaz, üreaz enzimlerinin üretimi; üç

şekerli demirli agar (TSI agar) üzerindeki üreme özellikleri ve hareket test sonuçlarına göre tanımlanmıştır. Tanısı yapılan bakterilerin MacConkey agar plaklarında saf kültürleri elde edilmiştir.

3.4. Bakterilerin Stoğa Alınması

Önce stok besiyerleri hazırlandı. Bunun için stok besiyeri mediumdan 5 gram tartıldı, katılaşması için 5 g agar balon jöjeye eklendi. Üzerine 1000 ml dH₂O eklendi, çalkalama işleminden sonra 121°C’de 15 dakika otoklavlandı. Otoklavdan alınan balon jöjede ki besiyeri 5 ml’lik cam tüplere konuldu ve 45°’lik bir eğim verilerek besiyeri katılaşmaya bırakıldı. Besiyerleri gün içinde kullanılacaksa +4°C’de, daha sonra kullanılacaksa soğuk hava deposunda saklandı. Çalışmaya başlamadan önce saf olarak izole edilen *E. coli*, *K. pneumoniae* ve *P. aeruginosa* suşları stok besiyerine ekilerek 37°C’de bir gece inkübasyona bırakıldı, üreme olduğu gözlemlendikten sonra bakteriler çalışmanın yapılacağı zamana kadar eksi 80°C’de muhafaza edildi.

3.5. Suşların Canlandırılması ve MacFarland Bulanıklığının Ayarlanması

Çalışma yapılacağı zaman -80°C’de saklanan suşlar çıkarılarak yaklaşık yarım saat çözülmesi beklendi. Çözülen stok besiyerinden yuvarlak uçlu öze ile bir miktar stok bakteriden alınarak canlandırma işlemi için kanlı agar besiyerine ekildi. Besiyeri 37°C’de bir gece bekletilerek yeniden bakteri kolonileri elde edildi. Elde edilen bakteri suşundan antibiyogram çalışmasında kullanılmak üzere 0,5 McFarland bulanıklığı (2×10^8 koloni oluşturan birim (KOB)/ml) ayarlandı.

3.6. Katyon Ayarlı Mueller Hinton Buyyonunun Hazırlanması

Kalsiyum ve magnezyum katyonları eklenmiş Mueller-Hinton buyyon (MHB) tüp dilüsyon antibiyogram işlemlerinde kullanılan temel besiyeridir. Çalışmamızda katyon ayarlı Mueller Hinton buyyonu (KAMHB) olarak Oxoid firmasının (Oxoid™, United Kingdom) Ca⁺⁺ (her litreye 2.552 mg) ve Mg⁺⁺ (her litreye 4.085 mg) iyonlarını

içeren Divalan Katyonik “CMO405 Mueller Hinton Broth” kullanıldı Bu besiyerinin içeriğinde; Sığır et suyu (300 gr), kazein hidrolizat (17,5 g), nişasta (1,5 g) bulunmaktadır.

Üretici firmanın talimatları doğrultusunda, toz halindeki bu karışımdan 21 gram alınarak içerisinde 1000 ml saf su bulunan balon jojeye konuldu. Çözelti 121°C’de 15 dakika otoklavlandı. Hazırlanan besiyerleri kısa zaman içerisinde kullanılacaksa +4°C’de, uzun süre kullanılmayacaksa soğuk hava deposunda muhafaza edildi.

3.7. KOL Buyyon Mikrodilüsyon Testi ve Sonuçların Yorumlanması

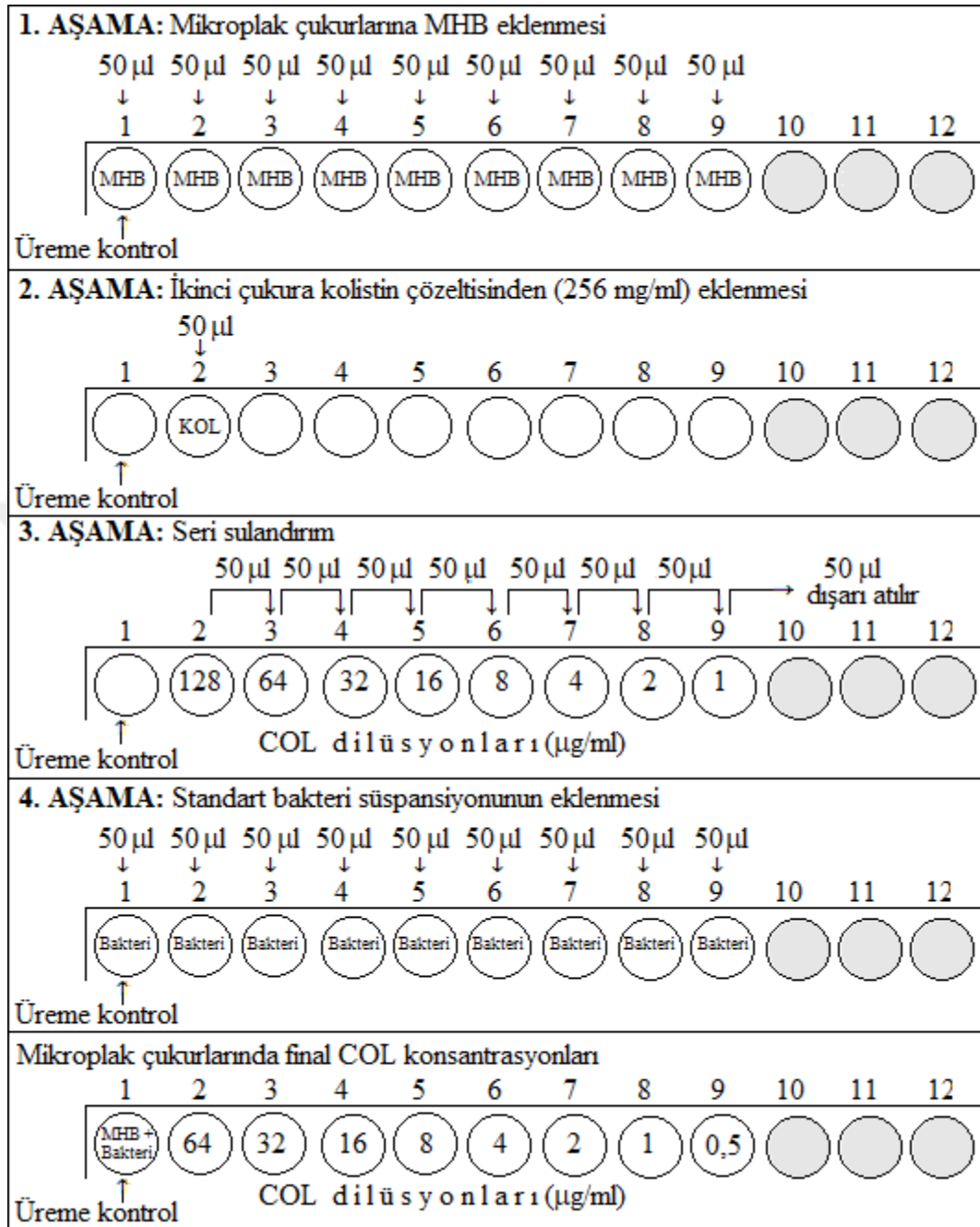
Test edilecek antibiyotiklerin seri sulandırılmaları U tabanlı mikropalak çukurlarında KAMHB içinde yapıldı. Mikrodilüsyon duyarlılık testinde ticari olarak temin edilen liyofilize KOL sülfat (colistin sulfate salt, 100 mg; Sigma-Aldrich) kullanıldı. Distile su ile toz halindeki liyofilize KOL sülfat’ın 2560 µg/ml olacak şekilde stok çözeltisi elde edildi. Bu çözeltiden küçük hacimler halinde steril tüplere aktararak farklı test seanslarında kullanılmak üzere -20°C’de muhafaza edildi. Mikrodilüsyon işlemi aşağıda belirtilen şekilde gerçekleştirildi:

1. Testte kullanılacak KOL stok çözeltisi, stoklanmış bakteriler, KAMHB’ler oda sıcaklığına alınarak çözülmeleri ve kullanıma hazır hale getirildi.
2. Steril otomatik pipet kullanılarak mikropalakların kuyucuklarının her birine (sıralı dokuz kuyucuk kullanıldı) 50 µl KAMHB eklendi. İlk kuyucuk kontrol kuyucuğu olarak belirlendi, bu kuyucuğa sadece antibiyotik ve bakterinin standart inokulumu (2×10^8 KOB/ml) ilave edildi.
3. Daha önce hazırladığımız stok çözeltisinden alındı ve bir tüpte 10 ml distile su ile sulandırılarak 256 µg/ml’lik antibiyotik çözeltisi kullanıma hazır hale getirildi. Bu çözeltiden çalışmanın yapılacağı ikinci kuyucuğa 50 µl aktarıldı. İkinci tüpten itibaren, bir pipetle antibiyotik ve besiyeri karıştırıldı

ve bu karışımdan 50 µl alınarak yanındaki kuyucuğa aktarıldı ve karıştırıldı. Bu şekilde son kuyucuğa kadar aynı işlem yapılarak seri dilüsyonlarla KOL yoğunluğu her kuyucukta yarı yarıya düşürülmüş oldu. Son kuyucuktan alınan 50 µl çözelti dışarı atıldı.

4. Böylece, kuyucukların ikincisinde 128, üçüncüsünde 64 µg/ml, dördüncüsünde 32 µg/ml, beşincisinde 16 µg/ml, altıncısında 8 µg/ml, yedincisinde 4 µg/ml, sekizincisinde 2 µg/ml ve dokuzuncusunda 1 µg/ml antibiyotik sulandırımı elde edildi.
5. Bu işlem tamamlandıktan sonra ilk kontrol kuyucuğu da dâhil olmak üzere tüm kuyucuklara MacFarland eşeline göre ayarlanmış bakteri solüsyonundan 50 µl eklendi. Böylece çukurlardaki sulandırım oranları yarı yarıya düşürülmüş ve µg/ml olmak üzere ilk kuyucuktan itibaren sırasıyla 64, 32, 16, 8, 4, 2, 1 ve 0,5 µg/ml'ye ayarlanmış oldu.
6. Üzeri mikropalak bantı ile kapatılan mikropalaklar 37°C'de 24 saat aerobik inkübasyona bırakıldı. Ertesi gün inceleme yapıldı.
7. Bir günlük inkübasyon sonunda etüvden çıkarılan mikropalaklarda kuyucuklarda üremenin olup olmadığı bulanıklığa bakılarak tespit edildi. Bakteri üremesinin inhibe olduğu, bulanıklığın görülmediği kuyucuktaki antibiyotik konsantrasyonu MİK olarak değerlendirildi.
8. MİK sonuçları Tablo 3.1'de verilen EUCAST ölçütlerine göre değerlendirildi.⁶² Buna göre *Enterobacteriaceae* (*E. coli* ve *K. pneumoniae* için) için MİK ≤ 2 µg/ml duyarlı; *P. aeruginosa* için ise MİK ≤ 4 µg/ml duyarlı olarak kabul edildi.

Yukarıda ayrıntıları anlatılan ve çalışmamızda gerçekleştirilen mikrodilüsyon işleminin bir özeti Şekil 3.1'de verilmiştir.



Şekil 3.1. Mikrodilüsyon işlemi.

Tablo 3.1. KOL için EUCAST MİK sınır değerleri

Bakteri	Duyarlı	Orta duyarlı	Dirençli
<i>Enterobacteriaceae</i>	≤ 2	-	> 2
<i>Pseudomonas spp.</i>	≤ 4	-	> 4

Şekil 3.2’de KOL direncini buyyon mikrodilüsyon yöntemiyle araştırdığımız bir mikroplak görülmektedir.



Şekil 3.2. Mikrodilüsyon yöntemiyle MİK tayini

3.8. Diğer Antibiyogram işlemleri ve ESBL tespiti

KOL dışında diğer antibiyotiklerle duyarlılık testi genel olarak Mueller-Hinton agarda disk difüzyon yöntemiyle ya da VITEK® 2 cihazı ile otomatize duyarlılık test sistemi kullanılarak yapılmıştır. VITEK® 2 cihazı ile yapılan duyarlılık test sonuçları "Clinical and Laboratory Standards Institute" (CLSI) ölçütlerine göre; değerlendirilmiştir. ESBL varlığı ise yine CLSI önerileri doğrultusunda gerçekleştirildi. Buna göre, disk difüzyon yöntemiyle sefotaksime ≤ 22 mm, seftriaksona ≤ 19 mm, seftazidim ya da aztreonama ≤ 17 mm çapındaki duyarlılığın azaldığını gösteren inhibisyon zon çapları ESBL yönünden pozitif olarak değerlendirildi.

3.9. İstatistiksel Analizler

Alınan sonuçlar Microsoft Office 2000 Excel programına girilmiş ve tablo ve grafiklerin oluşturulmasında bu programdan yararlanılmıştır. İstatistiksel analizler değişkenler arası ilişkiyi belirlemek amacıyla X^2 (Ki-kare) testi uygulanmış ve bu testin sonuçlarına göre $p < 0.05$ değerleri önemli kabul edilmiştir.

4. BULGULAR

GNB'lerin yarısından fazlası (% 55.8'i) idrardan, ¼'üne yakını (% 23.4'ü) yaradan ve geri kalan % 20.8'i de diğer (BOS, aspirat, balgam, kan, kulak) örneklerden izole edilmiştir (Tablo 4.1). GNB'lerin diğer örneklerle göre idrardan izole edilme oranı istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ($\chi^2 = 57.9831$; $p < 0.00001$).

Tablo 4.1. Örnek tiplerine göre bakterilerin dağılımı*

Örnek	<i>E. coli</i> n (%)	<i>K. pneumoniae</i> n (%)	<i>P. aeruginosa</i> n (%)	Toplam n (%)	χ^2	p
İdrar	74 (81.3)	31 (44.9)	5 (13.5)	110 (55.8)	57.9831	<0.00001
Yara	13 (14.3)	16 (23.2)	17 (45.9)	46 (23.4)		
Diğer	4 (4.4)	22 (31.9)	15 (40.5)	41 (20.8)		
Toplam	91 (100.0)	69 (100.0)	37 (100.0)	197 (100.0)		

* Yüzdelere sütun yüzdesidir

Yapılan çalışmada belirlenen bakterilerden her biri farklı hastaya ait ardışık olarak izole edilen 91 *E. coli*, 69 *K. pneumoniae* ve 37 *P. aeruginosa* olmak üzere toplam 197 GNB izolatının KOL direnci araştırılmıştır. GNB suşlarının % 49.7'si kadın, % 50.3'ü de erkek olgulardan izole edilmiş; KOL'e dirençli suşların % 7.1'i kadınlardan, %14.1'i de erkeklerden izole edilmiştir (Tablo 4.2). KOL direncinin erkeklerde kadınlara göre yüksek oluşu istatistiksel olarak anlamlı değildi ($\chi^2 = 2.0476$; $p = 0.152$).

Tablo 4.2. GNB izolatlarının cinsiyet gruplarındaki dağılımı ve KOL direnci

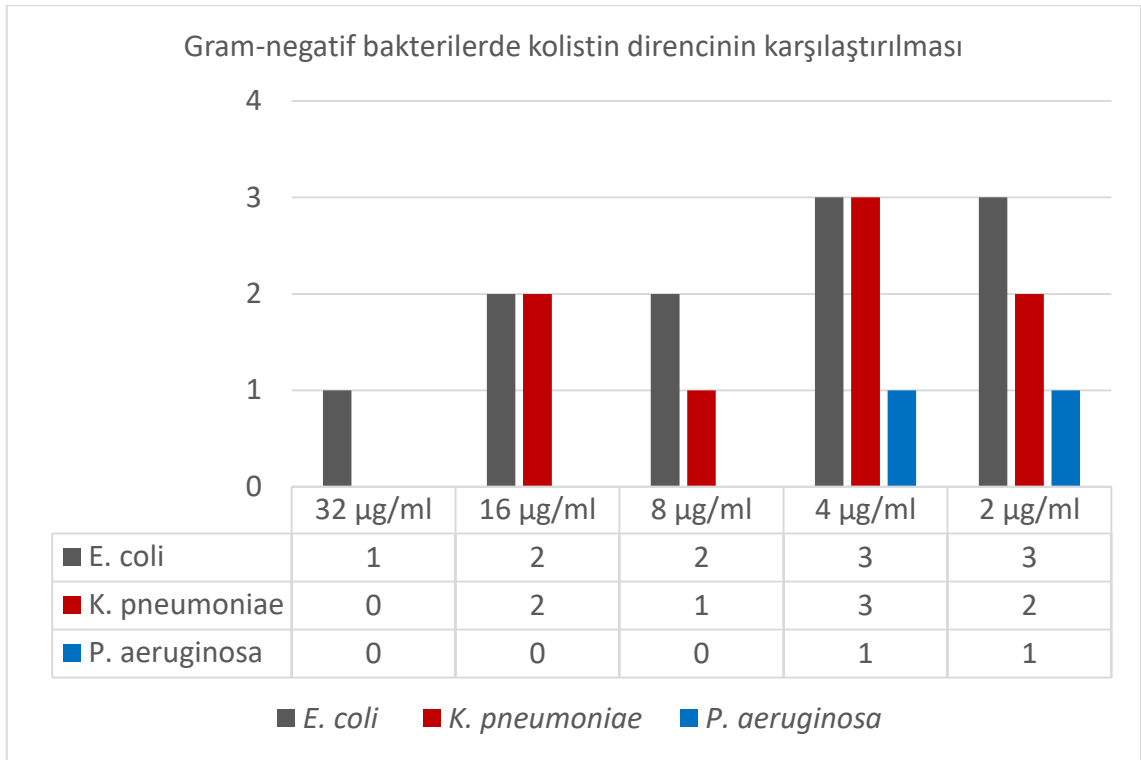
Cinsiyet	Olguların dağılımı n (%)	KOL direnci n (%)	χ^2	p
Kadın	98	7 (7.1)	2.0476	0.152
Erkek	99	14 (14.1)		
Toplam	197	21 (10.7)		

GNB'lerde KOL direnci Tablo 4.3'de verilmiştir. Tablo'da direnç sayıları farklı olgulara aittir. Yüksek konsantrasyonlarda dirençli bulunan suşların düşük konsantrasyonlara olan dirençleri rakamlara dâhil edilmemiştir. Çalışmamızda KOL'in 64 µg/ml'lik dilüsyonuna bakterilerin tümü duyarlı bulundu. *E. coli* suşlarının %12.1'i; *K. pneumoniae* suşlarının %11.6'sı ve *P. aeruginosa* suşlarının da %5.4'ü KOL direnci göstermiştir. Toplam sayısı 197 olan bu üç GNB bakteri birlikte değerlendirildiğinde toplam KOL direncinin %10.7 olduğu tespit edilmiştir. Çalışmamızda 80 (%87.9) *E. coli* suşu, 61 (%88.4) *K. pneumoniae* suşu ve 35 (94.6) *P. aeruginosa* suşu olmak üzere toplam 176 (%89.3) GNB kolistin 2 µg/ml konsantrasyonlarının altındaki kolistin dozlarına duyarlı bulunmuştur.

Tablo 4.3. GNB'lerde KOL direnci

Konsantrasyon	<i>E. coli</i> (n:91)		<i>K. pneumoniae</i> (n:69)		<i>P. aeruginosa</i> (n:37)		Toplam (n:197)	
	Sayı	%	Sayı	%	Sayı	%	Sayı	%
64 µg/ml	-	-	-	-	-	-	-	-
32 µg/ml	1	1.1	-	-	-	-	1	0.5
16 µg/ml	2	2.2	2	2.9	0	-	4	2.0
8 µg/ml	2	2.2	1	1.4	0	-	3	1.5
4 µg/ml	3	3.3	3	4.3	1	2.7	7	3.6
2 µg/ml	3	3.3	2	2.9	1	2.7	6	3.0
Toplam direnç	11	12.1	8	11.6	2	5.4	21	10.7

Şekil 4.1'de *Enterobacteriaceae* ailesine ait bakterilerin *P. aeruginosa* suşlarına göre KOL direncinin daha yüksek olduğu; *E. coli* ve *K. pneumoniae* suşlarının birbirlerine yakın bir dirençlilik sergilendiği görülmektedir.



Şekil 4.1. GNB’lerde KOL direncinin karşılaştırılması

Çalışmamızda üçü KOL direnci olan dört *K. pneumoniae* suşu tüm antibiyotiklere dirençli ve tümü KOL duyarlılığına sahip 31 *E. coli*, 12 *K. pneumoniae* ve 6 *P. aeruginosa* suşu olmak üzere toplam 49 GNB izolatu tüm antibiyotiklere duyarlı bulundu. Tablo 4.4’de *E. coli* izolatlarının çeşitli antibiyotiklere direnç profilleri verilmiştir. Suşların en duyarlı olduğu antibiyotikler karbapenem grubu antibiyotiklerden imipenem (%100) meropenem (%96.7) ve ertapenem (%94.5) olmuştur. KOL’e %24.2 oranında dirençli olan en yüksek direnç ise TMP-SMX (%47.3), sefuroksim (%40.7), ampisilin/sülbaktam (%37.4), siprofloksasine (%37.4) karşı tespit edilmiştir.

Tablo 4.4. *E. coli* izolatlarının çeşitli antibiyotiklere direnç profilleri

Antibiyotik	<i>E. coli</i> (n:91)			
	Duyarlı		Dirençli	
	n	%	N	%
İmipenem	91	100.0	0	0
Meropenem	88	96.7	3	3.3
Ertapenem	86	94.5	5	5.5
Amikasin	80	87.9	11	12.1
Piperasilin/Tazobaktam	74	81.3	17	18.7
Seftazidim	67	73.6	24	26.4
Gentamisin	64	70.3	27	29.7
Sefepim	62	68.1	29	31.9
Seftriakson	59	64.8	32	35.2
Cefixime	59	64.8	32	35.2
Sefotaxime	58	63.7	33	36.3
Ciprofloxacın	57	62.6	34	37.4
Ampisilin/Sulbaktam	57	62.6	34	37.4
Sefuroksim	54	59.3	37	40.7
TMP-SMX	48	52.7	43	47.3
KOL (mikrodilüsyon)	80	87.9	11	12.1

Tablo 4.5’de ESBL pozitif ve negatif *E. coli* izolatlarının KOL direnç farklılıkları görülmektedir. ESBL üretimi *E. coli* izolatlarının 26 (% 28.6)’sında pozitif bulunmuştur. ESBL üreten suşlarda KOL direnci ESBL üretmeyenlere göre anlamlı derecede yüksek olduğu görülmüştür ($\chi^2 = 11.9541$; $p = 0.000545$)

Tablo 4.5. ESBL pozitif *E. coli* izolatlarında KOL direnci

ESBL	KOL’e duyarlı		KOL’e dirençli		χ^2	p
	n	%	n	%		
Pozitif (n: 26)	18	46.2	8	53.8	11.9541	0.000545
Negatif (n: 65)	62	87.7	3	12.3		

Tablo 4.6’da *K. pneumoniae* izolatlarının antibiyogram sonuçları görülmektedir. *K. pneumoniae* suşlarının antibiyotiklere karşı genel olarak dirençli olduğu tespit edildi. Suşların en duyarlı olduğu antibiyotikler karbapenemlerden imipenem (%85.5) meropenem (%73.9); aminoglikozitlerden amikasin (%73.9) ve gentamisin (%69.6) olmuştur. KOL’e %18.8 oranında dirençli olan suşlarda en yüksek direnç sefuroksim (%73.9), sefotaksim (%68.1) ve seftriaksona (%68.1) karşı tespit edilmiştir.

Tablo 4.6. *K. pneumoniae* izolatlarının çeşitli antibiyotiklere direnç profilleri

Antibiyotik	<i>K. pneumoniae</i> (n:69)			
	Duyarlı		Dirençli	
	n	%	N	%
İmipenem	59	85.5	10	14.5
Meropenem	51	73.9	18	26.1
Amikasin	51	73.9	18	26.1
Gentamisin	48	69.6	21	30.4
Ertapenem	39	56.5	30	43.5
TMP-SMX	32	46.4	37	53.6
Cefixime	29	42.0	40	58.0
Piperasilin/Tazobaktam	28	40.6	41	59.4
Ampisilin/Sulbaktam	25	36.2	44	63.8
Seftazidim	24	34.8	45	65.2
Sefepim	24	34.8	45	65.2
Ciprofloksacin	23	33.3	46	66.7
Seftriakson	22	31.9	47	68.1
Sefotaxime	22	31.9	47	68.1
Sefuroksim	18	26.1	51	73.9
KOL (mikrodilüsyon)	61	88.4	8	11.6

Tablo 4.7’de ESBL üretimlerine göre *K. pneumoniae* suşlarının KOL direnç oranları görülmektedir. *K. pneumoniae* izolatlarının 21 (% 30.4)’inde ESBL pozitif bulunmuştur. *K. pneumoniae* suşlarında KOL direnci ESBL üreten ve üretmeyen suşlarda istatistiksel olarak anlamlı bir fark göstermemiştir. ($\chi^2 = 0.2134$; p= 0.64415).

Tablo 4.7. ESBL pozitif *K. pneumoniae* izolatlarında KOL direnci

ESBL	Duyarlı		Dirençli		χ^2	p
	n	%	n	%		
Pozitif (n: 21)	18	85.7	3	14.3	0.2134	0.64415
Negatif (n: 48)	43	89.6	5	10.4		

Tablo 4.8’de *P. aeruginosa* izolatlarının çeşitli antibiyotiklere direnç oranları görülmektedir. Suşların en duyarlı olduğu antibiyotikler bir aminoglikozit olan amikasin (%94.6) ve bir karbapenem olan meropenemdi (%85.3). KOL direnci %5.4 olarak tespit edilen çalışmada suşların %40’ından fazlasının diğer antibiyotiklere dirençli olduğu görüldü.

Tablo 4.8. *P. aeruginosa* izolatlarının çeşitli antibiyotiklere direnç profilleri

Antibiyotik	<i>P. aeruginosa</i> (n:37)			
	Duyarlı		Dirençli	
	n	%	n	%
Amikasin	35	94.6	2	5.4
Meropenem	29	85.3	5	14.7
Piperasilin/Tazobaktam	22	59.5	15	40.5
Sefepim	18	51.4	17	48.6
İmipenem	18	51.4	17	48.6
Ciprofloxacın	16	47.1	18	52.9
Gentamisin	13	43.3	17	56.7
Seftazidim	16	43.2	21	56.8
Seftriakson	13	35.1	24	64.9
KOL (mikrodilüsyon)	35	94.6	2	5.4

5. TARTIŞMA

Sirekbasan ve Yıldız;⁶³ 2020’de yayınlanan makalelerinde 1947-2019 yılları içinde KOL direnciyle ilişkin toplam 1454 makalenin analizini yapmışlar ve makalelerin sayısında 2015’ten sonra çarpıcı bir artış olduğunu bildirmişlerdir. Bu analize göre KOL direnciyle ilişkin yayınlarında Türkiye önde gelen 15 ülke arasında 13. sırada yer almıştır. Sirekbasan ve Yıldız, araştırmaları süresi içinde Türkiye kaynaklı toplam 53 makalenin onaylandığını, en yüksek sayının (14 ile) 2019 yılına ait olduğunu bildirmişlerdir. Sirekbasan ve Yıldız, KOL direnci ile ilgili makalelerin dünya çapında özellikle son yıllarda olmak üzere sürekli bir artış gösterdiğini, bu sonucun aslında KOL direncinin küresel bir sağlık sorunu olduğunun da göstergesi olduğunu vurgulamışlardır. Bu sonuç pek çok yazar tarafından kabul görmüştür. Örneğin, Bialvaei ve Samadi ², patojen GNB’lerin florokinolon ve aminoglikozitlerin yanı sıra karbapenem, monobaktam, sefalosporin ve geniş spektrumlu penisilinler de dâhil olmak üzere tüm β -laktamlara direnç prevalansındaki hızlı artış dikkat çekici boyutlara ulaştığını belirtmektedirler. Bakterilerde küresel temelde artış gösteren bu çoklu ilaç direnci sadece insan sağlığı açısından değil aynı zamanda hayvan sağlığı açısından da büyük önem taşımaktadır. İnsanlara, hayvanlarla doğrudan temasla ya da kontamine hayvan tabanlı gıda maddelerinin oral yoldan alınmasıyla çoklu direnç gösteren bakterilerin aktarılabilceği belirtilmektedir.⁶⁴

GNB’ler, antibiyotiklere karşı gösterdikleri bu yüksek direnç nedeniyle dünyadaki en önemli halk sağlığı sorunları arasında yerini almıştır. Bu mikroorganizmalar, özellikle yoğun bakım ünitelerindeki (YBÜ) hastalar için yüksek risk oluşturmakta ve yüksek morbidite ve mortaliteye yol açmaktadır.⁶⁵ Bu nedenle GNB’ler hastanelerde klinik açıdan önemli olmaktadır. Sorunsal GNB izolatlarının

çoğunu *Enterobacteriaceae* ve non fermentatif bakteriler oluşturmaktadır. Direnç sorunu nedeniyle Gram-negatif patojenlerle mücadelede KOL son umut tedavisi olarak kullanılmaktadır. Ne yazık ki, KOL'e karşı da küresel ölçekte intrinsek, mutasyonel ve aktarılabılır mekanizmalar dâhil olmak üzere farklı KOL direnci mekanizmaları karakterize edilmiştir.¹

Dünyanın her bölgesinde KOL direnci gösteren GNB suşları bildirilmeye devam ederken GNB'lerin KOL direncinin bakterilerin karbapenemez üretimine, çoklu ilaç direnci gösterip göstermemesine ve coğrafik bölgelere göre farklılıklar gösterdiği görülmektedir.

Newton-Foot ve arkadaşları, İngiltere'de yatarak tedavi gören ve diyaliz hastalarında karbapenemaz üreten *Enterobacteriaceae* salgını sırasında KOL'e dirençli izolatların klonal yayılmasıyla üç farklı mekanizmanın neden olduğu yüksek oranda KOL direnci (% 66) bildirmişlerdir.⁶⁶ İtalya'da Capone ve arkadaşları karbapeneme dirençli *K. pneumoniae* suşlarının İtalya'da yüksek morbidite ve mortalite ile ilişkili enfeksiyonların yaygın bir nedeni haline geldiğini ve bu suşlarda KOL direncinin 36.1 olduğunu rapor etmişlerdir.⁶⁷ Amerika Birleşik Devletlerinde, 2017 yılında Rojas ve arkadaşları karbapeneme dirençli *K. pneumoniae* suşlarının% 13'ünün KOL direnci gösterdiğini bildirmişlerdir.⁶⁸ Prim ve arkadaşları İspanya'da 2017 yılında yayınladıkları makalelerinde % 89'unun daha önce KOL kullanmadığı olgulardan izole edilen *Enterobacteriaceae* izolatlarının %0.67'sinin KOL direnci gösterdiğini. En yüksek KOLe direncin *Enterobacter cloacae* (%4.2), *E. coli* (%0.5) ve *K. pneumoniae*'de (% 0.4) görüldüğünü bildirmişlerdir.⁹ Moawad ve arkadaşları, Mısır'da sağlıklı piliçlerden izole edilen *Enterobacteriaceae* üyelerinde KOL direncini ve çoklu ilaç direncini de araştırmışlardır. Bu çalışmada farklı kümes hayvanlarından izole edilen *E. coli* izolatlarının %7.9'unun KOL'e dirençli olduğunu ve *Enterobacteriaceae*

üyelerinde ortaya çıkan KOL direncinin insanlar açısından da bir tehdit unsuru olduğunu belirtmişlerdir.⁶⁹

Malchione ve arkadaşları, Güneydoğu Asya'daki *E. coli* ve *Klebsiella* suşları arasında karbapenem ve KOL direnci ile ilgili verileri analiz etmişlerdir. Bu meta analiz çalışmasında; KDE enfeksiyonlarında ortaya çıkan KOL direnci, önemli bir tehdit olmasına rağmen, 11 ülkeden sadece 3'ünün karbapenem ve KOL direnci ile ilgili verileri sunduğu Güneydoğu Asya dâhil olmak üzere dünyanın çoğu için verilerin sınırlı kaldığını belirtmişlerdir. Malchione ve arkadaşları, *Klebsiella* için polimiksin direnç oranları Laos ve Vietnam'da sırasıyla % 5,8 ve % 6,4'lük medyan direnç oranları ile yüksek olarak kategorize etmiş; Tayland'da, % 4,6'sı dirençliyen, tüm temsili çalışmalarda medyan direncinin % 0,66 olduğunu bildirmişlerdir.⁷⁰

Palani ve arkadaşlarının çalışmasında Hindistan'da hastanede yatan hastalarda *Enterobacteriaceae* üyeleri içinde en fazla oranda KOL'e dirençli bakteri türünün *K. pneumoniae*, ikinci sırada *Pseudomonas spp.* olduğu buna karşın *E. coli*, *Enterobacter spp.*, ve *Citrobacter spp.*, türlerinin düşük oranlarda izole edildiği anlaşılmaktadır.⁷¹

Enterobacteriaceae üyelerinden KOL'e dirençli organizmalar çeşitli çevrelerden izole edilmektedir. Odoi ve arkadaşları eklem bacaklıları mevcut şubelerine dâhil pek çok türünde antimikrobiyal ajanların çoğuna duyarlı olan ancak yüksek oranda KOL direnci gösteren enterik bakteri izole etmişlerdir.⁷² Odoi ve arkadaşları bu çalışmanın sonuçlarına göre eklem bacaklıların potansiyel KOL'e dirençli bakteriler için bir rezervuar olabileceği iddiasında bulunmuşlardır. Çin'de domuz, sığır ve piliç çiftliklerinden izole edilen *E. coli* ve *K. pneumoniae* izolatlarının sırasıyla % 27.8 ve % 33.3'ü KOL'e dirençli olduğu rapor edilmiştir.⁷³

Ülkemizin farklı coğrafik bölgelerindeki illerinde KOL direncinin prevalansı ile ilişkin çalışmalar yapılmıştır. Ancak bu çalışmaların büyük bir kısmı *Acinetobacter spp* suşlarına yöneliktir. Son beş yıllık süreç içerisinde bilimsel yayın arama motorlarından PubMed ve Google Scholar’da bulabildiğimiz farklı illerimizde *E.coli*, *K. pneumoniae* ve *P. aeruginosa* KOL direnç prevalanslarını veren yayınların değerlendirilmesi aşağıda verilmiştir:

Akdeniz Bölgesinde yer alan Mersin’de Öztürk ve arkadaşları⁷⁴ 2010 yılında yayınlanan makalelerinde yatan hastaların klinik örneklerden izole edilen ve çoklu antibiyotik dirençli *P. aeruginosa* suşlarının KOL duyarlılığı E-test yöntemiyle araştırmışlar ve suşların hiçbirinde direnç tespit edilemediğini bildirmiştir. Aynı ilde dokuz yıl sonra (2019’da) Hekimoğlu⁷⁵ yaptığı tez çalışmasında, karbapenemlere dirençli *K. pneumoniae*, *P. aeruginosa* ve *A. baumannii* izolatlarında sıvı mikrodilüsyon yöntemi ile KOL duyarlılığını araştırmış ve bu suşların %37’sini KOL’e dirençli olduğunu rapor etmiştir. Bu çalışmada *A. baumannii* izolatlarının %52’sinde; *K. pneumoniae* izolatlarının %36’sında ve *P. aeruginosa* izolatlarının %24’ünde KOL direncinin saptadığını bildirmiştir. Mersin’de yapılan iki çalışmanın sonuçlarına göre *P. aeruginosa* suşlarında KOL direncinin önemli bir artış eğilimi içinde olduğunu söylemek mümkündür.

Güneydoğu Anadolu bölgesine ait Diyarbakır ilimizde, 2019 yılında yayınlanan tez çalışmasında Yakut⁷⁶, sıvı mikrodilüsyonla araştırıldığı KOL direncini; *E. coli* izolatlarında %23.8’inde, *K. pneumoniae* izolatlarında %20.6’sında ve *P. aeruginosa* izolatlarında ise %5.5 olduğunu bildirmiştir.

İç Anadolu Bölgesinde, Ankara’da yapılan bir çalışmada, Coşkun ve arkadaşları⁷⁷ 2010 yılında altı farklı GNB’ye karşı hangi yöntemle araştırıldığı belirtilmeyen KOL direnci 4,3 olarak bildirilmiştir. Bu çalışmada KOL direnci *E.coli*

suşlarında 14.3; *Klebsiella* spp. suşlarında 3.4 olarak bildirilmiş, *Pseudomonas* spp. suşlarında ise direnç tespit edilememiştir. Yine, Ankara’da yapılan ve 2018 yılında yayınlanan bir makalede Süzük ve arkadaşları⁷⁸ karbapeneme dirençli olan ve çoğunluğu *Klebsiella pneumoniae* ve *E. coli* suşlarından oluşan *Enterobacteriaceae* suşlarının yaklaşık % 76.19’unun KOL’e dirençli olduğunu bildirmişlerdir. Ankara’da yapılan ve 2019 yılında yayınlanan bir diğer çalışmada Koçak ve Hazırolan, karbapeneme dirençli *K. pneumoniae* izolatlarında KOL direncini sıvı mikrodilüsyon yöntemiyle %39.5 olarak tespit etmişlerdir.⁷⁹ İç Anadolu Bölgesinin bir diğer ili olan Konya’da Türk Dağı ve arkadaşları;⁸⁰ 2011 yılında yayınlanan çalışmalarında otomatize sistem ile kan kültürlerinden izole edilen *P. aeruginosa* suşlarında KOL direnci tespit edemediklerini bildirmişlerdir. Aynı ilde Durmaz ve Özer;⁸¹ 2015 yılında yayınlanan çalışmalarında, *P. aeruginosa* suşlarında VITEK 2 ile araştırdıkları antibiyotik duyarlılık çalışmalarında KOL direncini %7 olarak bildirmişlerdir.

Marmara Bölgesinde yer alan İstanbul ilimizde yapılan ve 2016 yılında yayınlanan çalışmada, Aydın ve arkadaşları⁸² E-test yöntemiyle araştırdıkları KOL direncini enterik GNB’lerde tespit edememiş; nonfermentatif GNB’lerde ise %12 oranında direnç bildirmişlerdir.

Ege Bölgesinde, İzmir’de yapılan bir çalışmada Demirdal ve arkadaşları⁸³ 2017 yılında yayınlanan makalelerinde yoğun bakım ünitelerinden izole edilen *P. aeruginosa* suşlarında direnç oranını % 1.0 olarak bildirmişlerdir. İzmir’de yapılan bir diğer çalışmada Müderris ve arkadaşları⁸⁴ 2020 yılında yayınlanan makalelerinde otomatize sistemle çeşitli bakterilerin KOL direncini araştırmışlardır. Bu çalışmada, yoğun bakım ünitelerinde yatan hastalardan alınan solunum örneklerinden izole edilen *P. aeruginosa* izolatlarında yıllar içerisinde amikasin, aztreonam, siprofloksasin, KOL, gentamisin, karbapenem ve trimetoprim-sulfametaksazol direnç oranlarının arttığı toplamda ise bu

suşların %2 oranında direnç gösterdikleri bildirilmiştir. Bu iki çalışmanın sonuçlarına göre, *P. aeruginosa* suşlarında KOL direncinin İzmir’de 2017 yılından 2020 yılına gelindiğinde iki kat arttığı anlaşılmaktadır.

Karadeniz Bölgesi’nde yer alan Bolu ilinde, Behçet ve arkadaşları⁸⁵, 2019 yılında yayınlanan makalelerinde *P. aeruginosa* suşlarının KOL direncinin %6.7 olduğu rapor edilmiştir. Karadeniz Bölgesinde yer alan Giresun’da Uğur ve Genç⁸⁶, 2019 yılında yayınlanan makalelerinde *P. aeruginosa* suşlarında 2015 yılında tam otomatize sistemle KOL direnci saptayamamışlar, 2016 yılında %4.0, 2017 yılında %6.0 oranında direnç saptamışlardır. Bu çalışmaya göre Giresun’da KOL direnci zaman geçtikçe artmaktadır.

Doğu Anadolu’da yer alan Erzurum ilinde yaptığımız bu çalışmada *E. coli*, *K. pneumoniae*, *P. aeruginosa* suşlarına karbapenem ve aminoglikozit direncinin de yüksek oranlarda olduğu görülmüştür. KOL direnci ise *E. coli* suşlarında %12.1; *K. pneumoniae* suşlarında %11.6 ve *P. aeruginosa* suşlarında %5.4 olarak bulunmuştur. Sonuçta, GNB’lerde toplam KOL direncinin % 10.7 olduğu tespit edilmiştir.

Ülkemizde sadece nonfermentatif bakteriler içinde değil tüm bakteriler içinde KOL direncinin en fazla araştırıldığı bakteri *Acinetobacter spp.*; non fermentatif bakteriler içinde ikinci en fazla KOL direnci araştırılan bakteri ise *Pseudomonas spp.* suşları olduğu görülmektedir. *Pseudomonas spp.* için çalışmaların çoğunda direnç saptanamazken ya da düşük dirençlilik saptanırken çok az çalışma da da Erzurum’da saptadığımız oranlara yakın dirençlilik oranları rapor edilmiştir. Yukarıda belirttiğimiz çalışmalar dikkate alındığında *Klebsiella spp.* için birbirine yakın zamanlarda yapılmasına rağmen çalışmanın birinde %3.4 diğeri %39.5 gibi oldukça farklı direnç oranları ilginç olarak değerlendirilmiştir. Çalışmamızda *K. pneumoniae* suşlarında tespit ettiğimiz oranın bu iki çalışmanın sonuçlarından uzak olduğu görülmektedir. Gerek

E.coli gerekse tür ayrımı yapmaksızın enterik GNB'ler için bildirilen oranlar çalışmamızda *E.coli* için elde ettiğimiz oranlarla kısmen benzerlik göstermektedir. Bu sonuçlara baktığımız da ülkemiz genelinde olduğu gibi Erzurum ilinde de sıklıkla izole edilen *E.coli* ve *K. pneumoniae* gibi enterik bakterilerde KOL direncinin %10'ları aşam önemli boyutlarda olduğu anlaşılmaktadır.

Yöremizden izole edilen *E.coli*, *K. Pneumoniae* ve *P. aeruginosa* suşlarında KOL direnç prevalansının genel olarak ülkemiz ve dünyanın diğer ülkelerinde gözlenen prevalansa benzer olduğu görüldü. Çalışmamızda *E.coli* suşlarının 1/10'undan fazlasının KOL'e dirençli oluşu ciddiye alınması gereken bir sonuç olarak görülmektedir. Özellikle idrar yolu enfeksiyonlarında Erzurum'da sıklıkla izole edilen bir bakteridir. Aktaş ve Denktaş⁸⁷ 2020 yılında yayınlanan çalışmalarında idrar yolu enfeksiyonlarından neredeyse diğer tüm bakterilerin toplamı kadar (%48.0) izole ettiklerini bildirmişlerdir. Bu bakterinin yöremizdeki diğer enfeksiyonlardan da sıklıkla izole edildiği bilinmektedir. Karbapenemler dâhil, çoklu direnç gösteren *E.coli* suşlarında KOL direncinin de görülmesi tedavide önemli sorunlara yol açacağı ortadadır.

6. SONUÇ VE ÖNERİLER

Çalışmamızdan elde ettiğimiz sonuçları özetleyecek olursak:

1. Yöremizden izole edilen enterik bakterilerden *E.coli* ve *K. pneumoniae* ile nonfermentatif bakterilerden *P. aeruginosa* suşlarında KOL direnci dikkat çekici boyutlardadır.
2. Duyarlılıklarını incelediğimiz bakteri suşlarının hiçbirisi 32 µg/ml'nin üzerindeki KOL yoğunluğuna karşı dirençli bulunmamıştır. *P. aeruginosa* suşlarında 4 µg/ml'lik KOL konsantrasyonlarının üzerinde direnç tespit edilememiştir.
3. Yöremizde KOL'in yüksek dozlarına karşı direnç gösteren *E.coli* ve *K. pneumoniae* suşları bulunmaktadır.
4. Bütün suşlar dikkate alındığında toplamda KOL direnci % 10.7 olarak tespit edilen Erzurum'da bu oranda tedavisinde zorluk yaşanacak hastaların bulunacağını söyleyebiliriz.

KOL nefrotoksik bir ilaç olsa da çoklu ilaç direnci gösteren bakteriyel enfeksiyonların tedavisinde başka seçenek bulunmadığı için günümüzde kullanılması uygun görülmüştür. KOL etkinliğine sahip olup yan etkileri minimal düzeyde olan herhangi bir antibiyotik henüz keşfedilemediği, üretilmediği için daha uzun süreler kullanılacağı anlaşılmaktadır. Bu durum, bakterilerde KOL direncinin gelişmesini önleyici tedbirler alınmasının gerekliliğini göstermektedir. Bu konuda önerilerimiz şunlardır:

1. Öncelikli olarak diğer antimikrobiklere direnç gelişiminin önüne geçilmeli ve antimikrobiyal tedavi seçeneklerinin kısıtlanmasına yol açmamalı. Burada en büyük görev klinisyenlere düşmektedir. Hastayı, antimikrobikleri uygun

dozda, saat olarak zamanında ve gün olarak süresinde kullanması konusunda ve ayrıca tedavi bitince aynı ya da başka bir antimikrobiği almaması konusunda, şikâyetleri devam ediyorsa mutlaka bir doktora başvurması konusunda bilinçlendirmelidir.

2. Klinisyenlerin karbapeneme dirençli ve çoklu ilaç direnci gösteren patojenlerle ortaya çıkan enfeksiyonların tedavisinde kullanacağı ilaçların farmakokinetiği ve farmakodinamiğini göz önünde bulundurarak her vaka için ayrı ayrı değerlendirmesi, enfeksiyonun kesin tedavisinde rol oynayacağı için dirençli suşların ortaya çıkması da engellenmiş olacaktır.
3. KOL direncinin oluşmasında çiftlik hayvanlarında KOL tüketiminin artması da önemli bir rol oynamaktadır. Bu konuda veteriner hekimlere önemli görev düşmektedir.
4. Farklı habitatlarda KOL direncinin kazanıldığı dikkate alındığında bu küresel sorunun önüne geçilmesinde başta Sağlık Bakanlıkları olmak üzere diğer ilgili devlet kurumlarına konunun ciddiyeti bağlamında büyük sorumluluk düşmektedir.
5. Hastane enfeksiyonlarında, yoğun bakım ünitelerinde KOL'e dirençli bakterilerin yaşamsal tehdit oluşturduğunu akıldan çıkarmamak gerekir. Bu sorunun üstesinden gelmek için sıkı gözetim ve güçlü bir antibiyotik yönetim politikasının uygulanmasına ihtiyaç vardır.

7. KAYNAKLAR

1. El-Sayed Ahmed MAE, Zhong LL, Shen C, Yang Y, Doi Y, Tian GB. Colistin and its role in the Era of antibiotic resistance: an extended review (2000-2019). *Emerg Microbes Infect*, 2020, 9:868–885.
2. Bialvaei AZ, Samadi KH. Colistin, mechanisms and prevalence of resistance. *Curr Med Res Opin*, 2015, 31:707–721.
3. Depka D, Mikucka A, Bogiel T, Gospodarek-Komkowska E. Comparison of the recommended colistin susceptibility testing methods with colistin gradient strips and semi-automated method for antimicrobial-resistant non-fermenting rods. *J Microbiol Methods*, 2020, 172:105905.
4. Carretto E, Brovarone F, Russello G, Nardini P, El-Bouseary MM, Aboklaish AF, Walsh TR, Tyrrell JM. Clinical Validation of SensiTest Colistin, a Broth Microdilution-Based Method To Evaluate Colistin MICs. *J Clin Microbiol*, 2018, 56:e01523–17.
5. Stefaniuk EM, Tyski S. Colistin resistance in *Enterobacterales* strains - A current view. *Pol J Microbiol*, 2019, 68:417–427.
6. Ling Z, Yin W, Shen Z, Wang Y, Shen J, Walsh TR. Epidemiology of mobile colistin resistance genes *mcr-1* to *mcr-9*. *J Antimicrob Chemother*, 2020, 75:3087–3095.
7. Leung LM, Cooper VS, Rasko DA, Guo Q, Pacey MP, McElheny CL, Mettus RT, Yoon SH, Goodlett DR, Ernst RK, Doi Y. Structural modification of LPS in colistin-resistant, KPC-producing *Klebsiella pneumoniae*. *J Antimicrob Chemother*, 2017, 72:3035–3042.
8. Tan TY, Ng LS. Comparison of three standardized disc susceptibility testing methods for colistin. *J Antimicrob Chemother*, 2006, 58:864–867.

9. Prim N, Turbau M, Rivera A, Rodríguez-Navarro J, Coll P, Mirelis B. Prevalence of colistin resistance in clinical isolates of *Enterobacteriaceae*: A four-year cross-sectional study. *J Infect*, 2017, 75:493–498.
10. Gharaibeh MH, Shatnawi SQ. An overview of colistin resistance, mobilized colistin resistance genes dissemination, global responses, and the alternatives to colistin: A review. *Vet World*, 2019, 12:1735–1746.
11. NCBI. Taxonomy Browser. *Enterobacteriaceae*. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/Taxonomy/Browser/wwwtax.cgi?id=543>. 31 Aralık 2020.
12. Janda JM, Abbott SL. 16S rRNA gene sequencing for bacterial identification in the diagnostic laboratory: pluses, perils, and pitfalls. *J Clin Microbiol*, 2007, 45:2761–2764.
13. Zhang Z, Li D, Shi X, Zhai Y, Guo Y, Zheng Y, Zhao L, He Y, Chen Y, Wang Z, Su J, Kang Y, Gao Z. Genomic characterization of an emerging *Enterobacteriaceae* species: the first case of co-infection with a typical pathogen in a human patient. *BMC Genomics*, 2020, 21:297.
14. Piruozi A, Forouzandeh H, Farahani A, Forouzandeh Z, Ahmadi I, Abdizadeh R, Kalantar M, Kalantar H, Azadbakht M. Investigating the frequency of *Klebsiella* infection and drug resistance among inpatients and outpatients referring to Amir Al-Momenin Hospital, Gerash, Iran. *Gene Cell Tissue*. 2009, 6:e93161.
15. Ibrahim MAM, Al Shabeeb S, Al Ramadhan GH, Imran PM. Isolation of *Enterobacteriaceae* from raw seafoods sold in fish markets in eastern province of Saudi Arabia. *Int J Adv Res*, 2017, 5:1711-1718
16. Rai AK, Mitchell AM. Enterobacterial common antigen: synthesis and function of an enigmatic molecule. *mBio*, 2020, 11:e01914-20.

17. Burmølle M, Bahl MI, Jensen LB, Sørensen SJ, Hansen LH. Type 3 fimbriae, encoded by the conjugative plasmid pOLA52, enhance biofilm formation and transfer frequencies in *Enterobacteriaceae* strains. *Microbiology (Reading)*, 2008, 154:187-195.
18. Huang YH, Ferrières L, Clarke DJ. The role of the Rcs phosphorelay in *Enterobacteriaceae*. *Res Microbiol*, 2006, 157:206–212.
19. Kaleli İ, Demir M, Cevahir N, Yıldırım U. Investigation of siderophore and serum resistance in *Klebsiella* isolates. *Turkish J Infect*, 2006, 20: 97–101.
20. Allocati N, Masulli M, Alexeyev MF, Di Ilio C. *Escherichia coli* in Europe: an overview. *Int J Environ Res Public Health*, 2013, 10:6235–6254.
21. Desvaux M, Dalmasso G, Beyrouthy R, Barnich N, Delmas J, Bonnet R. Pathogenicity Factors of Genomic Islands in Intestinal and Extraintestinal *Escherichia coli*. *Front Microbiol*, 2020, 11:2065.
22. Lee DS, Lee SJ, Choe HS. Community-Acquired Urinary Tract Infection by *Escherichia coli* in the Era of Antibiotic Resistance. *Biomed Res Int*, 2018, 2018:7656752.
23. Guentzel MN. *Escherichia coli*, *Klebsiella*, *Enterobacter*, *Serratia*, *Citrobacter*, and *Proteus*. In: Baron S, editor. Medical Microbiology. 4th edition. Galveston (TX): University of Texas Medical Branch at Galveston; 1996. Chapter 26. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK8035/>. 3 Ocak 2020.
24. Gomes TA, Elias WP, Scaletsky IC, et al. Diarrheagenic *Escherichia coli*. *Braz J Microbiol*, 2016, 47:3–30.
25. Adachi E, Tanaka H, Toyoda N, Takeda T. Detection of bactericidal antibody in the breast milk of a mother infected with enterohemorrhagic *Escherichia coli* O157:H7. *Kansenshogaku Zasshi*, 1999, 73:451–456.

26. Bhandari J, Sedhai YR. Hemolytic Uremic Syndrome. [Updated 2020 Nov 23]. In: StatPearls [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2020 Jan. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK556038/>. 3 Ocak 2020.
27. Dhakal R, Wang Q, Howard P, Sintchenko V. Genome Sequences of Enteroinvasive *Escherichia coli* Sequence Type 6, 99, and 311 Strains Acquired in Asia Pacific. *Microbiol Resour Announc*, 2019, 8:e00944-19.
28. Colonna B, Casalino M, Fradiani PA, Zagaglia C, Naitza S, Leoni L, Prosseda G, Coppo A, Ghelardini P, Nicoletti M. H-NS regulation of virulence gene expression in enteroinvasive *Escherichia coli* harboring the virulence plasmid integrated into the host chromosome. *J Bacteriol*, 1995, 177:4703–4712.
29. Derakhshan S, Pourzare M, Roshani D. Distribution of Virulence Factors According to Antibiotic Susceptibility among *Escherichia coli* Isolated from Urinary Tract Infection. *Indian J Nephrol*, 2018, 28:191–197.
30. Martin RM, Bachman MA. Colonization, Infection, and the Accessory Genome of *Klebsiella pneumoniae*. *Front Cell Infect Microbiol*, 2018, 8:4.
31. Bengoechea JA, Sa Pessoa J. *Klebsiella pneumoniae* infection biology: living to counteract host defences. *FEMS Microbiol Rev*, 2019, 43:123–144.
32. Paczosa MK, Mecsas J. *Klebsiella pneumoniae*: Going on the Offense with a Strong Defense. *Microbiol Mol Biol Rev*, 2016, 80:629–661.
33. Palleroni NJ. Introduction to the Family *Pseudomonadaceae*. In: Starr MP, Stolp H, Trüper HG, Balows A, Schlegel HG. (eds) *The Prokaryotes*. Springer, Berlin, Heidelberg, 1981: 655–665. <https://doi.org/10.1007/978-3-662-13187-9>. 08 Ocak 2021

34. Kang D, Revtovich AV, Chen Q, Shah KN, Cannon CL, Kirienko NV. Pyoverdine-Dependent Virulence of *Pseudomonas aeruginosa* Isolates From Cystic Fibrosis Patients. *Front Microbiol*, 2019, 10:2048.
35. Valentini M, Gonzalez D, Mavridou DA, Filloux A. Lifestyle transitions and adaptive pathogenesis of *Pseudomonas aeruginosa*. *Curr Opin Microbiol*, 2018, 41:15-20.
36. Lalucat J, Mulet M, Gomila M, García-Valdés E. Genomics in Bacterial Taxonomy: Impact on the Genus *Pseudomonas*. *Genes (Basel)*, 2020, 11(2):139.
37. Samaržija D, Zamberlin S. Psychrotrophic Bacteria: *Pseudomonas* spp. Reference Module in Food Science, Elsevier, 2020, <https://doi.org/10.1016/B978-0-08-100596-5.23045-X>. 2 Ocak 2021.
38. Bjarnsholt T, Givskov M. The role of quorum sensing in the pathogenicity of the cunning aggressor *Pseudomonas aeruginosa*. *Anal Bioanal Chem*, 2007, 387:409–414.
39. Giamarellou H. Therapeutic guidelines for *Pseudomonas aeruginosa* infections. *Int J Antimicrob Agents*, 2000, 16:103–106.
40. Allydice-Francis K, Brown PD. Diversity of Antimicrobial Resistance and Virulence Determinants in *Pseudomonas aeruginosa* Associated with Fresh Vegetables. *Int J Microbiol*, 2012, 2012:426241.
41. Bergan T. Pathogenetic factors of *Pseudomonas aeruginosa*. *Scand J Infect Dis Suppl*, 1981, 29:7–12.
42. Turkina MV, Vikström E. Bacteria-Host Crosstalk: Sensing of the Quorum in the Context of *Pseudomonas aeruginosa* Infections. *J Innate Immun*, 2019, 11:263–279.

43. Chanasit W, Gonzaga ZJC, Rehm BHA. Analysis of the alginate O-acetylation machinery in *Pseudomonas aeruginosa*. *Appl Microbiol Biotechnol*, 2020, 104:2179–2191.
44. Santajit S, Seesuy W, Mahasongkram K, et al. Human single-chain antibodies that neutralize *Pseudomonas aeruginosa*-exotoxin A-mediated cellular apoptosis. *Sci Rep*, 2019, 9:14928.
45. Pachori P, Gothwal R, Gandhi P. Emergence of antibiotic resistance *Pseudomonas aeruginosa* in intensive care unit; a critical review. *Genes Dis*. 2019, 6:109–119.
46. Lambert PA. Mechanisms of antibiotic resistance in *Pseudomonas aeruginosa*. *J R Soc Med*, 2002, 95(Suppl. 41):22–26.
47. Yoon MY, Lee KM, Park Y, Yoon SS. Contribution of cell elongation to the biofilm formation of *Pseudomonas aeruginosa* during anaerobic respiration. *PLoS One*, 2011, 6: e16105.
48. Grégoire N, Aranzana-Climent V, Magréault S, Marchand S, Couet W. Clinical Pharmacokinetics and Pharmacodynamics of Colistin. *Clin Pharmacokinet*, 2017, 56:1441–1460.
49. Yin J, Wang G, Cheng D, Fu J, Qiu J, Yu Z. Inactivation of Polymyxin by Hydrolytic Mechanism. *Antimicrob Agents Chemother*, 2019, 63:e02378–18.
50. Erbay A. Colistin. *Flora*, 2007, 12:119–127.
51. Loho T, Dharmayanti A. Colistin: an antibiotic and its role in multiresistant Gram-negative infections. *Acta Med Indones*, 2015, 47:157–168.
52. Tüzemen NÜ, Efe K, Akalın H, Özakin C. Retrospective evaluation of colistin-resistant isolates in automated system by gradient diffusion method and broth microdilution method. *Klinik Derg*, 2019, 32: 57–61.

53. Conly J, Johnston B. Colistin: the phoenix arises. *Can J Infect Dis Med Microbiol*, 2006, 17:267–269.
54. Zavascki AP, Goldani LZ, Li J, Nation RL. Polymyxin B for the treatment of multidrug-resistant pathogens: a critical review. *J Antimicrob Chemother*, 2007, 60:1206–1215.
55. European Centre for Disease Prevention and Control (ECDC). Expert consensus protocol on colistin resistance detection and characterisation for the survey of carbapenem- and/or colistin resistant *Enterobacteriaceae*. ECDC Technical Report. Version 1.0, Stockholm, January 2019. <https://www.ecdc.europa.eu/en>. 08 Ocak 2021.
56. Wu B, Wang Y, Ling Z, Yu Z, Shen Z, Zhang S, Wang X. Heterogeneity and Diversity of mcr-8 Genetic Context in Chicken-Associated *Klebsiella pneumoniae*. *Antimicrob Agents Chemother*, 2020, 65:e01872–20.
57. Zhou Z, Ribeiro AA, Lin S, Cotter RJ, Miller SI, Raetz CR. Lipid A modifications in polymyxin-resistant *Salmonella typhimurium*: PMRA-dependent 4-amino-4-deoxy-L-arabinose, and phosphoethanolamine incorporation. *J Biol Chem*, 2001, 276:43111–43121.
58. Mlynarcik P, Kolar M. Molecular mechanisms of polymyxin resistance and detection of mcr genes. *Biomed Pap Med Fac Univ Palacky Olomouc Czech Repub*, 2019, 163:28–38.
59. Brodsky IE, Ernst RK, Miller SI, Falkow S. mig-14 is a *Salmonella* gene that plays a role in bacterial resistance to antimicrobial peptides. *J Bacteriol*, 2002, 184:3203–3213.
60. Mathur J, Waldor MK. The *Vibrio cholerae* ToxR-regulated porin OmpU confers resistance to antimicrobial peptides. *Infect Immun*, 2004, 72:3577–3583.

61. Martis N, Leroy S, Blanc V. Colistin in multi-drug resistant *Pseudomonas aeruginosa* blood-stream infections: a narrative review for the clinician. *J Infect*, 2014, 69:1–12.
62. Humphries RM. Susceptibility testing of the polymyxins: where are we now? *Pharmacotherapy*, 2015, 35:22–27.
63. Sirekbasan S, Yıldız SS. Bibliometric Analysis of Literature on Colistin Resistance: 1947-2019. *Turk Mikrobiyol Cemiy Derg*, 2020, 50:225–233.
64. Klees S, Effelsberg N, Stührenberg B, Mellmann A, Schwarz S, Köck R. Prevalence and Epidemiology of Multidrug-Resistant Pathogens in the Food Chain and the Urban Environment in Northwestern Germany. *Antibiotics (Basel)*, 2020, 9:708.
65. Oliveira J, Reygaert WC. Gram Negative Bacteria. 2020 Jul 14. In: StatPearls [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2020 Jan–. PMID: 30855801.
66. Newton-Foot M, Snyman Y, Maloba MRB, Whitelaw AC. Plasmid-mediated mcr-1 colistin resistance in *Escherichia coli* and *Klebsiella* spp. clinical isolates from the Western Cape region of South Africa. *Antimicrob Resist Infect Control*, 2017, 6:78.
67. Capone A, Giannella M, Fortini D, et al. High rate of colistin resistance among patients with carbapenem-resistant *Klebsiella pneumoniae* infection accounts for an excess of mortality. *Clin Microbiol Infect*, 2013, 19:E23–E30.
68. Rojas LJ, Salim M, Cober E, et al. Colistin Resistance in Carbapenem-Resistant *Klebsiella pneumoniae*: Laboratory Detection and Impact on Mortality. *Clin Infect Dis*, 2017, 64:711–718.
69. Moawad AA, Hotzel H, Neubauer H, Ehricht R, Monecke S, Tomaso H, Hafez HM, Roesler U, El-Adawy H. Antimicrobial resistance in *Enterobacteriaceae* from

- healthy broilers in Egypt: emergence of colistin-resistant and extended-spectrum β -lactamase-producing *Escherichia coli*. *Gut Pathog*, 2018, 10:39.
70. Malchione MD, Torres LM, Hartley DM, Koch M, Goodman JL. Carbapenem and colistin resistance in *Enterobacteriaceae* in Southeast Asia: Review and mapping of emerging and overlapping challenges. *Int J Antimicrob Agents*, 2019, 54:381–399.
71. Palani GS, Ghafur A, Krishnan P, Rayvathy B, Thirunarayan MA. Intestinal carriage of colistin resistant *Enterobacteriaceae* in hospitalized patients from an Indian center. *Diagn Microbiol Infect Dis*, 2020, 97:114998.
72. Odoi JO, Yamamoto M, Sugiyama M, Asai T. Colistin Resistance in *Enterobacteriaceae* Isolated from Arthropods in Gifu City, Japan. Research Square. <https://www.researchsquare.com/article/rs-32828/v1>. 11 Ocak 2021.
73. Wang R, Liu Y, Zhang Q, Jin L, Wang Q, Zhang Y, Wang X, Hu M, Li L, Qi J, Luo Y, Wang H. The prevalence of colistin resistance in *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae* isolated from food animals in China: coexistence of mcr-1 and blaNDM with low fitness cost. *Int J Antimicrob Agents*, 2018, 51:739–744.
74. Öztürk O, Öztürk C, Delialioğlu N, Emekdaş H. Çoklu Antibiyotik Dirençli Gram Negatif Bakterilerde Kolistin Duyarlılığının Belirlenmesi. *Mersin Üni Sağ Bil Derg*, 2010, 3: 15–20.
75. Hekimoğlu C. Karbapenem Dirençli Gram Negatif Bakterilerde Kolistin Duyarlılığının Saptanmasında Sıvı Mikrodilüsyon Ve Ticari Yöntemlerin Karşılaştırılması. Mersin Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Yüksek Lisans Tezi, Mersin, 2019.
76. Yakut S. *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa* ve *Acinetobacter baumannii* Klinik İzolatlarında Kolistin Direnci Saptanmasında BD Phoneix Yarı Otomatize Sistem ve Sıvı Mikrodilüsyon Yöntemlerinin

- Karşılaştırılması. Dicle Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Tıpta Uzmanlık Tezi, Diyarbakır, 2019.
77. Coşkun B, Azap A, Yılmaz G, Ayhan M, Sarıcaoğlu EM. Assessment of Colistin Treatment in Multidrug-Resistant Gram-Negative Bacterial Infections. *Klimik Derg*, 2020, 33: 142–147.
78. Süzük Yıldız S, Kaşkatepe B, Şimşek H, Sarıgüzel FM. High rate of colistin and fosfomycin resistance among carbapenemase-producing *Enterobacteriaceae* in Turkey. *Acta Microbiol Immunol Hung*, 2019, 66:103–112.
79. Koçak CÖ, Hazırolan G. Colistin Resistance in Carbapenem-Resistant *Klebsiella pneumoniae* Clinical Isolates. *Türk Mikrobiyol Cem Derg*, 2019, 49:17–23.
80. Türk Dağı H, Arslan U, Fındık D, Tuncer İ. Antibiotic Resistance Rates in *Pseudomonas aeruginosa* Strains Isolated from Blood Cultures. *ANKEM Derg*, 2011, 25:107–110.
81. Durmaz S, Özer TT. Klinik örneklerden izole edilen *Pseudomonas aeruginosa* suşlarında antibiyotik direnci. *Abant Tıp Derg*, 2015, 4:239–242.
82. Aydın M, Kaşıkçıoğlu C, Nargiz_koşucu S, Timurkaynak F, Arslan H. Bloodstream infections: etiologic agents and their antibiotic resistance rates. *Klimik Derg*, 2016, 29: 82–85.
83. Demirdal T, Şen P, Yula E, Kaya S, Nemli SA, Demirci M. Assessment of *Pseudomonas aeruginosa* resistance profiles in intensive care units: Five-year outcomes. *Ortadoğu Med J*, 2017, 9: 108–112.
84. Müderris T, Özdemir R, Kaya S, Yurtsever SG, Aksoy Gökmen A, Peker BO. Solunum yolu örneklerinden izole edilen non-fermentatif gram negatif bakterilerin antibiyotik direnç dağılımları: altı yıllık analiz. *Pam Tıp Derg*, 2020, 13:695–704.

85. Behçet M, Avcıoğlu F, Karabörk Ş, Kurtoğlu MG. Çeşitli Klinik Örneklerden İzole Edilen *ID Pseudomonas aeruginosa* Suşlarının Antimikrobiyal Direnç Oranları: Üç Yıllık Değerlendirme. *ANKEM Derg*, 2019, 33:43–48.
86. Uğur M, Genç S. Three Year Resistance Profile of *Acinetobacter baumannii* and *Pseudomonas aeruginosa* Strains Isolated from Intensive Care Units. *Turk J Intensive Care*, 2019, 17:130–137.
87. Aktas O, Denktas E. Five-year evaluation of the urine culture results and antimicrobial susceptibility profiles of isolated *E. coli* strains. *Biomed J Sci Tech Res*, 2020, 24:18129–18136.

EKLER

EK-1. ETİK BİLDİRİM VE İNTİHAL BEYAN FORMU



SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
Graduate School of Health Sciences

ETİK BİLDİRİM VE İNTİHAL BEYAN FORMU¹

Öğrencinin Adı ve Soyadı	Elanur VELİOĞLU
Öğrencinin Numarası	17024402004
Ana Bilim Dalı	Tıbbi Mikrobiyoloji
Öğrencinin Kayıtlı Olduğu Program Türü	Yüksek Lisans

"Klinik Örneklerden İzole Edilen *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumonia* ve *Pseudomonas aeruginosa* Suşlarında Kolistin Direnç Oranlarının Araştırılması"

Yukarıda bilgileri verilen tezin intihal tespit yazılımıyla (Turnitin) yapılan tarama sonucunda elde edilen benzerlik oranları aşağıdaki gibidir. Beyan edilen bilgilerin doğru olduğunu, aksi hâlde doğacak hukuki sorumlulukları kabul ve beyan ederiz.

Bölümler	Benzerlik Oranı	Maksimum Benzerlik Oranları
I. Giriş	% 2	% 15
II. Genel Bilgiler	% 7	% 35
III. Materyal ve Metod	% 15	% 35
IV. Bulgular	% 4	% 15
V. Tartışma	% 3	% 20

Not: Yedi kelimeye kadar benzerlikler ile Başlık, Kaynakça, İçindekiler, Teşekkür, Dizin ve Ekler kısımları tarama dışı bırakılabilir. Yukarıdaki azami benzerlik oranları yanında tek bir kaynaktan olan benzerlik oranlarının %5'den büyük olmaması gerekir.

¹ Bu form bilgisayar ortamında doldurulmalı, çıktısı imzalanıp Tez Savunması Jüri Öneri Formu'yla birlikte Ana Bilim Dalı Başkanlığı aracılığıyla T.BYS üzerinden Enstitüye iletilmelidir.

EK-2. ETİK KURUL ONAY FORMU



ATATÜRK ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ KLİNİK ARAŞTIRMALAR ETİK KURULU



KARAR

ETİK KURUL BİLGİLERİ	ETİK KURULUN ADI	Atatürk Üniversitesi Tıp Fakültesi Klinik Araştırmalar Etik Kurulu
	AÇIK ADRESİ:	Atatürk Üniversitesi Tıp Fakültesi Dekanlığı
	TELEFON	+90 442 234 65 11
	FAKS	+90 442 236 09 68
	E-POSTA	atatipetikkurul@gmail.com
SORUMLU ARAŞTIRMACI UNVANI/ADI/SOYADI		Prof.Dr.Osman AKTAŞ
ARAŞTIRMACININ AÇIK ADI		Klinik Örneklerden İzole Edilen Escherichia coli, Klebsiella pneumonia ve Pseudomonas aeruginosa Suşlarında Kolistin Direncinin Mikrodilüsyon Yöntemiyle Araştırılması
KARAR BİLGİLERİ	Toplantı Sayısı: 06 Karar No: 71	Tarih: 28.05.2020
	Yukarıda bilgileri verilen başvuru dosyası ile ilgili belgeler araştırmanın/çalışmanın gerekçe, amaç, yaklaşım ve yöntemleri dikkate alınarak incelenmiş ve çalışmanın bütçesinin Kendisi tarafından karşılanması koşulu ile yapılmasında bilimsel ve etik açıdan sakınca olmadığına oy birliği ile karar verildi. Klinik Araştırmalar Hakkında Yönetmelik kapsamında yer alan araştırmalar/çalışmalar için Türkiye İlaç ve Tıbbi Cihaz Kurumu'ndan izin alınması gerekmektedir. Araştırmacıya çalışmalarında başarılar dileriz.	