



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

**KLİNİK ÖRNEKLERDEN İZOLE EDİLEN NADİR
GÖRÜLEN ENTEROBACTERALES TÜRLERİNDE BETA
LAKTAM ANTİBİYOTİK DİRENCİNİN FENOTİPİK VE
GENOTİPİK KARAKTERİZASYONU**

TIPTA UZMANLIK TEZİ

Dr. Sümeyye ZENGİN

**Danışman
Doç. Dr. Pınar SAĞIROĞLU**

KAYSERİ-2026



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

**KLİNİK ÖRNEKLERDEN İZOLE EDİLEN NADİR
GÖRÜLEN ENTEROBACTERALES TÜRLERİNDE BETA
LAKTAM ANTİBİYOTİK DİRENCİNİN FENOTİPİK VE
GENOTİPİK KARAKTERİZASYONU**

TIPTA UZMANLIK TEZİ

Dr. Sümeyye ZENGİN

**Danışman
Doç. Dr. Pınar SAĞIROĞLU**

**Bu çalışma Erciyes Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından
TTU-2025-14419 kodlu proje ile desteklenmiştir.**

KAYSERİ-2026

TEŞEKKÜR

Asistanlığım boyunca ve tez çalışmamın planlanmasından yürütülmesine, verilerimin analizinden yazım aşamasına kadar her adımda bilgi, birikim ve tecrübeleriyle yolumu aydınlatan çok değerli danışman hocam **Doç. Dr. Pınar SAĞIROĞLU** 'na teşekkür ederim. Yoğun çalışma temposu içinde bana her zaman vakit ayıran, fikirlerime değer veren ve akademik öngörülerıyla çalışmamın her detayına değer katan hocamın desteği olmasaydı bu tezi tamamlamak mümkün olamazdı. Bana sunduğu akademik özgürlük, aşıladığı çalışma disiplini ve gösterdiği sonsuz anlayış için kendisine yürekten teşekkür ederim.

Moleküler aşamada bana her türlü desteği veren kıymetli hocalarım Prof. Dr. Selma GÖKAHMETOĞLU ve Dr. Öğr. Üyesi Ömür Mustafa PARKAN'a teşekkür ederim.

Uzmanlık eğitimim süresince bilgi ve deneyimlerinden yararlandığım, eğitimimde emeği geçen Prof. Dr. Ayşe Nedret KOÇ, Prof. Dr. Mustafa Altay ATALAY, Prof. Dr. Fatma Mutlu SARIGÜZEL hocalarıma teşekkür ederim.

Çömez asistanlığımdan uzmanlığıma kadar bana bilgi veren ve yardım eden tüm asistan arkadaşlarıma ve Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı personellerine teşekkür ederim.

Tezim için bana pozitif kontrollerden bir kısmını temin eden Dr. Öğr. Üyesi Elif Seren TANRIVERDİ 'ye desteği için teşekkür ederim.

Jel elektroroforez aşamasında bize teknik destek sağlayan Prof. Dr. Mikail AKBULUT'a teşekkür ederim.

TTU-2025-14419 no'lu bu tez projesini maddi olarak destekleyen Erciyes Üniversitesi Rektörlüğü Bilimsel Araştırma Projeleri birimine teşekkür ederim.

Tez çalışmalarımın büyük bir kısmında benimle çalışan ve bana destek olan kız kardeşim gibi gördüğüm Zeynep ULUTAŞ'a teşekkür ederim.

Sıkıntı çektiğim zamanlarda hep yanımda olan, dertlerimi dinleyip bana abla eksikliğini hissettirmeyen, her yardım istediğimde elinden geleni yapan Dr. Biyolog Fatma Filiz TEKİNŞEN'e teşekkür ederim

Bugünlere gelmemde en büyük pay sahipleri olan, sevgileri, emekleri, fedakârlıkları ve koşulsuz destekleriyle her zaman arkamda duran canım annem Ayşe GÜLER ve kıymetli babam Bayram GÜLER'e teşekkür ederim.

Bu süreçte beni bazen yoran, bazen sinirlendiren ama bir gülüşü ve enerjisiyle hemen kalbimi ısıtan canım oğlum Ali Emre ZENGİN'e beni bu süreçte çok yormadığı için teşekkür ederim.

Hayatımın her anında olduğu gibi bu süreçte de sevgisi, sabrı, anlayışı ve desteğiyle hep yanımda olan, bu yoğun süreçte oğlum Ali Emre'ye hem annelik hem babalık yapan, omzumdaki yükleri alan kıymetli eşim, hayat arkadaşım **İskan ZENGİN'e** sonsuz teşekkür ederim.

Dr. Sümeyye ZENGİN

Kayseri 2026

İÇİNDEKİLER

TEŞEKKÜR	i
İÇİNDEKİLER	iii
TABLO LİSTESİ	xiii
ŞEKİL LİSTESİ	xv
ÖZET	xvi
ABSTRACT.....	xviii
1. GİRİŞ VE AMAÇ	1
2. GENEL BİLGİLER.....	3
2.1. <i>Enterobacterales</i> Grubu Mikroorganizmalar ve Genel Özellikleri	3
2.2. <i>Enterobacterales</i> Grubu Mikroorganizmaların Sınıflandırması.....	4
2.3. Nadir Görülen <i>Enterobacterales</i> Türleri.....	6
2.3.1. <i>Enterobacter</i> Türleri	6
2.3.2. <i>Citrobacter</i> Türleri.....	8
2.3.3. <i>Serratia</i> Türleri	10
2.3.4. <i>Morganella</i> Türleri.....	12
2.3.5. <i>Providencia</i> Türleri	13
2.3.6. <i>Hafnia</i> Türleri	15
2.4. β Laktam Antibiyotikler.....	15
2.5. Beta Laktam Antibiyotik Grupları	16
2.5.1. Penisilinler	17
2.5.1.1. Doğal penisilinler.....	17
2.5.1.2. Penisilinaza Dayanıklı Penisilinler	17
2.5.1.3. Aminopenisilinler	18
2.5.1.4. Genişlemiş Spektrumlu Penisilinler.....	18
2.5.1.5. Geniş spektrumlu pseudomonaslara etkili penisilinler	18
2.5.1.6. Amdinopenisilinler	19
2.5.1.7. Beta Laktamaz İnhibitörleri	19
2.5.2. Sefalosporinler	19
2.5.2.1. Birinci Kuşak Sefalosporinler.....	20

2.5.2.2.İkinci Kuşak Sefalosporinler	20
2.5.2.3.Üçüncü Kuşak Sefalosporinler	20
2.5.2.4.Dördüncü Kuşak Sefalosporinler	21
2.5.2.5.Beşinci Kuşak Sefalosporinler	21
2.5.2.6.Diğer Sefalosporinler	22
2.5.3.Monobaktamlar	22
2.5.4.Karbapenemler	22
2.6. Beta Laktam Antibiyotiklerin Etki Mekanizması	23
2.7. Beta Laktamlara Direnç Mekanizması	24
2.7.1. Beta Laktamazlar	24
2.7.1.1.Beta Laktamazların Sınıflandırılması	24
2.7.1.2.Beta Laktamazların Tarihçesi	27
2.7.1.3.Ülkemizdeki β Laktamazlar	28
2.7.1.4.Grup A Beta Laktamazlar	29
2.7.1.4.1Grup 2a β Laktamazlar	29
2.7.1.4.2. Grup 2b/2be β Laktamazlar	29
2.7.1.4.2.1.Grup 2b	30
2.7.1.4.2.2.Grup 2be	30
2.7.1.4.2.2.1GSBL Tipleri.....	31
2.7.1.4.2.2.1.1.TEM GSBL'ler	31
2.7.1.4.2.2.1.2.SHV GSBL'ler.....	31
2.7.1.4.2.2.1.3.CTX-M GSBL'ler.....	32
2.7.1.4.2.2.1.4.GES GSBL'ler	33
2.7.1.4.2.2.1.5.PER GSBL'ler	33
2.7.1.4.2.2.1.6.VEB GSBL'ler.....	34
2.7.1.4.2.2.1.7.Grup 2be'de yer alan diğer GSBL'ler.....	34
2.7.1.4.3.Grup 2br,2f ve 2c β Laktamazlar	34
2.7.1.4.3.1. Grup 2br.....	34
2.7.1.4.3.2. Grup 2c	34
2.7.1.4.3.3. Grup 2f.....	35
2.7.1.4.4.Plazmid Kaynaklı Kazanılmış Sınıf A Karbapenemazlar	35
2.7.1.4.4.1. <i>Klebsiella pneumoniae</i> Karbapenemaz (KPC)	35

2.7.1.4.4.2.Yeni Gine Genişlemiş Spektrumlu β Laktamaz Enzimleri(GES)..	36
2.7.1.4.4.3.Doğal ve Kromozomal Olarak Kodlanan A sınıfı Karbapenemazlar	36
2.7.1.5.Grup B β Laktamazlar: Metallo β Laktamazlar	36
2.7.1.5.1.B1 Alt Sınıfı	37
2.7.1.5.2.B2 Alt Sınıfı	37
2.7.1.5.3.B3 Alt Sınıfı	38
2.7.1.6.Grup C β Laktamazlar/AmpC β Laktamazlar	38
2.7.1.7.Grup D β Laktamazlar	40
2.7.2. β Laktamlara β Laktamaz Dışı Direnç Mekanizmaları.....	41
3. MATERYAL ve METOD	43
3.1.Bakteri İzolatlarının Seçimi, İzolatların Saklanması, Canlandırılması ve Tanımlanması	44
3.2.Antibiyotik Duyarlılık Testleri.....	44
3.2.1. Kirby-Bauer Disk Difüzyon Testi	44
3.2.2.Sıvı Mikrodilüsyon Testi.....	46
3.2.2.1.Sarf Malzemeler ve Antibiyotik Tozları	46
3.2.2.2.Mueller Hinton Broth (MHB) Hazırlanması:	47
3.2.2.3.Antibiyotik Stok Solüsyonlarının Hazırlanması:	47
3.2.2.4.Bakteri İnokulumu Hazırlanması:.....	48
3.2.2.5.Testin Yapılışı.....	49
3.3. Fenotipik Yöntemler İle Direnç Mekanizmalarının Araştırılması	51
3.3.1. Genişlemiş Spektrumlu Beta-Laktamaz (GSBL) Varlığının Fenotipik Olarak Doğrulanması	51
3.3.1.1.Çift Disk Sinerji Testi (ÇDST)	51
3.3.1.2.GSBL Kombinasyon Disk Testi (KDT).....	52
3.3.2.AmpC Beta Laktamaz Varlığının Fenotipik Olarak Doğrulanması	53
3.3.2.1. AmpC Saptama Kiti	53
3.3.3. Moleküler Yöntemler İle Direnç Genlerinin Araştırılması	54
3.3.3.1.DNA İzolasyonu	54
3.3.3.2.Beta Laktamaz Genlerinin Tespiti için Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PCR)	56
3.3.3.4.PCR Karışımı ve Amplifikasyon Koşulları	58

3.3.3.5. Agaroz Jel Elektroforezi	59
3.3.4. Tüm Genom Sekanslama (WGS).....	59
3.3.4.1. Genomik DNA İzolasyonu.....	59
3.3.4.2. DNA Kantifikasyonu ve Kalite Kontrolü	60
3.3.4.3. Kütüphane Hazırlığı ve Dizileme	60
3.3.4.4. Islak Laboratuvar Yöntemleri	60
3.3.4.4.1. DNA Kantifikasyonu	60
3.3.4.4.2. Uç Hazırlık Reaksiyonu.....	60
3.3.4.4.3. Natif Barkod Ligasyonu ve Saflaştırma.....	60
3.3.4.4.4. Adaptör Ligasyonu ve Dizileme	61
3.3.4.4.5. Dizileme Reaksiyonu ve Biyoinformatik Analiz	61
3.3.4.5. Biyoinformatik Analiz	62
3.3.4.5.1. Okuma Kalite Kontrolü	62
3.3.4.5.2. Kontaminasyon Taraması.....	62
3.3.4.5.3. Genom Birleştirme (Assembly)	62
3.3.4.5.4. Birleştirme (Assembly) Kalitesi Değerlendirmesi.....	63
3.3.4.5.5. Taksonomik Sınıflandırma.....	63
3.3.4.5.6. Moleküler Tipleme.....	63
3.3.4.5.7. Antimikrobiyal Direnç Profili Analizi	64
3.3.5. İstatistiksel Analiz.....	64
4. BULGULAR.....	66
4.1. Demografik Veriler ve Örnek Dağılımı	66
4.2. Antibiyotik Duyarlılık Test Sonuçları.....	70
4.2.1. Otomatize Sistem Duyarlılık Sonuçları (n=448)	70
4.3. Çalışma İzolatlarının Seçimi.....	70
4.3.1. Seçilen İzolatların Demografik verileri ve Örnek Dağılımları	71
4.3.2. İzolatların Disk Difüzyon Testi Duyarlılıkları	73
4.3.3. Sıvı Mikrodilüsyon Testi Duyarlılıkları.....	75
4.3.3.1. Sıvı Mikrodilüsyon ve Disk Difüzyon Test Sonuçları Uyumu	76
4.3.3.2. Sıvı Mikrodilüsyon ve Otomatize Sistem Test Sonuçları Uyumu	77
4.4. Beta Laktam Antibiyotiklere Direnç Mekanizmalarının Belirlenmesi	78
4.4.1. Fenotipik Testler	78

4.4.1.1. Çift Disk Sinerji Testi (ÇDTS)	78
4.4.1.2.Kombinasyon Disk Testi (KDT)	78
4.4.1.3. AmpC Beta Laktamaz Saptama Kiti	80
4.3.2. Moleküler Testler	81
4.3.2.1.Direnç Genleri ile Antibiyotik MİK'leri Arası Değerlendirme	85
4.3.2.2 ÇDTS VE KDT Sonuçları İle Direnç Genleri Arasındaki İlişkinin Değerlendirilmesi	86
4.3.3 Tüm Genom Sekanslama (WGS)	86
5. TARTIŞMA	90
6. SONUÇLAR	107
7. ÇALIŞMANIN KISITLILIKLARI.....	111
8. KAYNAKÇA	112
9.EKLER	131
ONAY	138

KISALTMALAR ve SİMGELER

ABC	: ATP binding cassette
ACC	: <i>Hafnia alvei</i> grubu AmpC enzimleri
AK	: Amikasin
AMC	: Amoksisilin-klavulanik asit
AMR	: Antimikrobiyal direnç
ANI	: Ortalama nükleotid benzerliği
ATM	: Aztreonam
AXP	: AMPure XP manyetik boncukları
AZA	: Aztreonam-avibaktam
BAL	: Bronkoalveoler Lavaj
BOS	: Beyin Omurilik Sıvısı
BPPL	: Bakteriyel Öncelikli Patojenler Listesi
CA	: Kategorik Uyum
CARB	: Carbenicillinase (Karbenisilinaz) enzimleri
CAZ	: Seftazidim
CC	: Klonal kompleks (örneğin CC258)
CFU	: Colony Forming Unit (Koloni Oluşturan Birim)
cgMLST	: Çekirdek genom MLST (Çoklu Lokus Dizi Tipleme)
CIP	: Siprofloksasin
CIT	: <i>Citrobacter freundii</i> grubu AmpC enzimleri
CLSI	: Clinical and Laboratory Standards Institute (Klinik ve Laboratuvar Standartları Enstitüsü)
CRE	: Karbapenem Dirençli Enterobacterales
CRO	: Seftriakson
CTC	: Sefotaksim-klavulanik asit
CTX	: Sefotaksim
CTX-M	: Cefotaksimase-Munich (Sefotaksime karşı hidrolitik aktivite gösteren, Münih kaynaklı enzim)

CZA	: Seftazidim-avibaktam
CZC	: Seftazidim-klavulanik asit
ÇDST	: Çift Disk Sinerji Testi
ÇİD	: Çoklu ilaç direnci
dDDH	: Dijital DNA-DNA Hibridizasyonu
DDH	: DNA-DNA Hibridizasyonu
DHA	: Morganella morganii grubu AmpC enzimleri
dH2O	: Distile su (Nükleaz içermeyen steril distile su)
DHP-1	: Renal dehidropeptidaz-1
dsDNA	: Çift sarmallı DNA
DSÖ	: Dünya Sağlık Örgütü
EB	: Elüasyon Tamponu
EBC	: Enterobacter grubu AmpC enzimleri (MIR ve ACT aileleri)
ECC	: Enterobacter cloacae kompleksi
EDTA	: Etilendiamintetraasetik asit
EMB	: Eozin Metilen Blue (Besiyesi)
ERT	: Ertapenem
ESAC	: Genişlemiş spektrumlu AmpC sefalosporinazlar
ESCPM	: Enterobacter, Serratia, Citrobacter, Providencia, Morganella
ESKAPE	: Enterococcus faecium, Staphylococcus aureus, Klebsiella pneumoniae, Acinetobacter baumannii, Pseudomonas aeruginosa ve Enterobacter türleri
ETA	: Endotrakeal Aspirat
EUCAST	: The European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing
FCF	: Flow Cell Flush
FCT	: Flow Cell Tether
FDA	: Amerikan Gıda ve İlaç Dairesi (Food and Drug Administration)
FDC	: Sefiderekol
FEC	: Sefepim-klavulanik asit
FEP	: Sefepim

FOX	: Sefoksitin
FOX / MOX	: Aeromonas grubu AmpC enzimleri
gDNA	: Genomik DNA
GES	: Yeni Gine Genişlemiş Spektrumlu β Laktamaz Enzimleri
GN	: Gentamisin
GSBL	: Genişlemiş spektrumlu β laktamaz
GTDB	: Genome Taxonomy Database
IDSA	: Amerikan Bulaşıcı Hastalıklar Derneği
IMI-1	: İmipenem hidrolize eden β laktamaz enzimleri-1
IMP	: İmipenem hidrolize eden metallo-beta-laktamaz ailesi
IMR	: İmipenem-relebaktam
IRT	: İnhibitör dirençli TEM β laktamazlar
IS	: İnsersiyon sekansları (Plazmidik mobil genetik elementler)
İYE	: İdrar yolu enfeksiyonları
KA-MHB	: Katyon ayarlı Mueller-Hinton sıvı besiyeri
KDT	: Kombinasyon Disk Testi
KPC	: Klebsiella pneumoniae Karbapenemaz
LIB	: Yükleme Boncukları
LPSN	: List of Prokaryotic names with Standing in Nomenclature
MALDI-TOF MS	: Matrix-Assisted Laser Desorption/Ionization Time-of-Flight Mass Spectrometry
MATE	: Multidrug and toxic compound extrusion süper ailesi
MBL	: Metallo- β -laktamazlar
mcr	: Mobilize kolistin direnç geni (örneğin mcr-10)
ME	: Büyük hata (Major Error)
MEM	: Meropenem
MEV	: Meropenem-vaborbaktam
MFS	: Major facilitator süper ailesi
MHA	: Mueller-Hinton Agar
MHB	: Mueller-Hinton Broth

MİK	: Minimal İnhibitör Konsantrasyonu
MLSA	: Multilokus dizi analizi
MLST	: Çoklu Lokus Dizi Tipleme
MRSA	: Metisiline dirençli Staphylococcus aureus
MSS	: Merkezi sinir sistemi
MSSA	: Metisilin duyarlı Staphylococcus aureus
NA	: Natif Adaptör
NDM	: Yeni Delhi Metallo- β laktamaz
NMC-A	: Non metallo-karbapenemaz-A
NTA	: Nazotrakeal Aspirat
OMP	: Dış membran proteinleri
OXA	: Oksasilinaz (Oxacillinase - Oksasilin, kloksasilin gibi antibiyotikleri hidrolize eden enzimler)
PACE	: Proteobacterial antimicrobial compound efflux ailesi
pAmpC	: Plazmid kökenli AmpC β laktamazlar
PBP	: Penisilin bağlayan proteinler
PBS	: Fosfat Tamponlu Tuz Çözeltisi (Phosphate Buffered Saline)
PCR	: Polimeraz Zincir Reaksiyonu
PEG	: Perkütan Endoskopik Gastrostomi
PER	: Pseudomonas extended resistance (Pseudomonas izolatlarında saptanan GSBL tipi)
PMQR	: Plazmid aracılı kinolon direnç
POCP	: Korunmuş proteinlerin yüzdesi
PSE	: Pseudomonas specific enzyme
QRDR	: Kinolon direnci belirleyici bölgeler
RND	: Resistance-nodulation-cell-division süper ailesi
rRNA	: Ribozomal RNA (örneğin 16S rRNA)
SB	: Dizileme Tamponu
SBL	: Serin β -laktamazlar
SF	: Serum Fizyolojik

SFB	: Kısa Parça Tamponu
SHV	: Sülfidril değişken (Sulphydryl variable) beta-laktamaz
SME	: Serratia marcescens enzymes
SMR	: Small multidrug resistance süper ailesi
spp.	: Türler (Species)
ST	: Sekans tipi / Dizi tipi
subsp.	: Alt tür (Subspecies)
TBA	: Teknik belirsizlik alanı
TBE	: Tris-Borik Asit-EDTA Tamponu
TEM	: Temoniera (ilk izole edildiği hastanın adından gelen beta-laktamaz ailesi)
TZP	: Piperasilin-tazobaktam
VEB	: Vietnam extended-spectrum beta-lactamase
VIM	: Verona Integron-encoded Metallo-beta-lactamase
VISA	: Vankomisin intermediated Staphylococcus aureus
VME	: Çok büyük hata (Very Major Error)
WGS	: Tüm genom dizileme
YBÜ	: Yoğun bakım ünitesi
3GC	: Üçüncü nesil sefalosporinler (Third-generation cephalosporins)

TABLO LİSTESİ

Tablo 1.	<i>Enterobacterales</i> takımında yer alan klinik öneme sahip bakteriler.....	5
Tablo 2.	<i>Citrobacter</i> Türleri	8
Tablo 3.	Klinikte Önemli B Laktamazlar	26
Tablo 4.	CTX-M enzimleri alt grupları	33
Tablo 5.	Disk Difüzyon Yöntemi ile Test Edilen Antibiyotikler.....	45
Tablo 6.	Sıvı Mikrodilüsyon Testinde Kullanılan Sarf Malzemeleri ve Cihazlar.....	46
Tablo 7.	Sıvı Mikrodilüsyon Testinde Kullanılan Antibiyotik Tozları.....	47
Tablo 8.	Antibiyotik Tozları ve Potensleri	47
Tablo 9.	Antibiyotik Tozlarının Çözücü ve Sulandırıcıları	48
Tablo 10.	Kombine Disk Testinde Kullanılan İnhibitörlü Antibiyotik Kombinasyonları.....	52
Tablo 11.	Çalışmada Kullanılan Primer Dizileri ve Amplikon Boyutları.....	56
Tablo 12.	Polimeraz Zincir Reaksiyonu Karışımı.....	58
Tablo 13.	Direnç Genlerinin Amplifikasyonu İçin Uygulanan PCR Protokolü.....	58
Tablo 14.	Örnek Türü ve Bakteri Türü Dağılım Tablosu	67
Tablo 15.	Takip Edilen Klinik, Yaş ve Cinsiyet Dağılım Tablosu	68
Tablo 16.	En Sık İzole Edilen Örnek Türlerinde Bakteri Türü, Klinik ve Yaş Dağılım Tablosu	69
Tablo 17.	Dirençli Seçilen Örneklerin Cins ve Tür Düzeyinde Dağılımı (n=154)	71
Tablo 18.	Dirençli Seçilen Gruptaki İzolatların Demografik Verileri.....	72
Tablo 19.	Dirençli Seçilen Gruptaki İzolatların Örnek ve Tür Dağılımı(n=154)	72
Tablo 20.	Tür Bazında Antibiyotik Direnç Oranları	74
Tablo 21.	Otomatize Sistem ve Disk Difüzyon Testi Sonuçları Arasındaki Kategorik Uyum, Çok Büyük Hata ve Büyük Hata Oranları	75
Tablo 22.	Sıvı Mikrodilüsyon Testi Direnç Oranları	76
Tablo 23.	MİK50 ve MİK90 Değerleri	76
Tablo 24.	Disk Difüzyon ve Sıvı Mikrodilüsyon Uyum ve Hata Oranları (n=63)	77
Tablo 25.	Sıvı Mikrodilüsyon Testi ve Otomatize Sistem Arasındaki Uyum ve Hata Oranları	78
Tablo 26.	Çift Disk Sinerji Testi ve Kombinasyon Disk Testi Sonuçları.....	79
Tablo 27.	ÇDST ve KDT Sonuç Dağılım Tablosu.....	80

Tablo 28.	Sefoksitin Duyarlı İzolatların Bakteri Türüne Göre AmpC Saptama Kiti Sonuçları	81
Tablo 29.	Moleküler Testler ile Tespit Edilen Gen Grupları	85
Tablo 30.	<i>Enterobacter hormaechei</i> İzolatlarına Ait WGS Bulguları.....	88
Tablo 31.	<i>C. koseri</i> , <i>S. marcescens</i> ve <i>P. rettgeri</i> İzolatlarına Ait WGS Bulguları	89

ŞEKİL LİSTESİ

Şekil 1.	<i>S. marcescens</i> 'in kırmızı pigmentli üreyen koloni görünümü.....	11
Şekil 2.	Beta Laktam Halka Yapısı	16
Şekil 3.	Beta Laktam Antibiyotiklerin Zaman Çizelgesi	16
Şekil 4.	Aktif Atım Pompa Aileleri.....	42
Şekil 5.	Disk Difüzyon Testi	46
Şekil 6.	Sıvı Mikrodilüsyon Testi	50
Şekil 7.	ÇDST pozitifliği	52
Şekil 8.	Kombinasyon Disk Testi.....	53
Şekil 9.	AmpC Üretimi Pozitif Saptanan Test	54
Şekil 10.	İzolatların Tür Düzeyinde Dağılımı (n=448).....	66
Şekil 11.	Türlerde KDT Pozitif Saptanma Oranı.....	79
Şekil 12.	PCR ile CTX-M Grup 1 geni pozitif saptanan izolatlara ait jel görüntüsü	81
Şekil 13.	PCR ile TEM geni pozitif saptanan izolatlara ait jel görüntüsü	82
Şekil 14.	PCR ile SHV geni pozitif saptanan izolatlara ait jel görüntüsü	82
Şekil 15.	PCR ile CMY-2 geni pozitif saptanan izolatlara ait jel görüntüsü	82
Şekil 16.	PCR ile ACC geni pozitif saptanan izolatlara ait jel görüntüsü	83
Şekil 17.	PCR ile NDM geni pozitif saptanan izolatlara ait jel görüntüsü	83

KLİNİK ÖRNEKLERDEN İZOLE EDİLEN NADİR GÖRÜLEN ENTEROBACTERALES TÜRLERİNDE BETA LAKTAM ANTİBİYOTİK DİRENCİNİN FENOTİPİK VE GENOTİPİK KARAKTERİZASYONU

ÖZET

Amaç: Bu çalışmada; klinik önemi giderek artan ve gelişen antimikrobiyal direnç nedeniyle ciddi bir halk sağlığı tehdidi oluşturan nadir *Enterobacterales* türlerinin, beta-laktam grubu antibiyotiklere karşı direnç profillerinin saptanması ve tespit edilen direnç fenotiplerinin moleküler mekanizmalarının aydınlatılması amaçlanmıştır.

Gereç ve Yöntem: Çalışmaya Nisan 2023-Eylül 2025 tarihleri arasında Erciyes Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi Merkez Laboratuvarı Bakteriyoloji Birimine gönderilen klinik örneklerden izole edilen toplam 448 adet *Enterobacter spp.*, *Citrobacter spp.*, *Serratia spp.*, *Morganella spp.*, *Providencia spp.* ve *Hafnia spp.* türlerini içeren ESCPM grubu bakteriler dahil edilmiştir. İzolatlar MALDI -TOF-MS (Vitek -MS Prime, bioMérieux, Fransa) kullanılarak tanımlanmıştır. Otomatize sistem (Vitek 2, bioMérieux, Fransa) ile 3. kuşak sefalosporin direnci saptanan 154 izolat fenotipik ve genotipik testler için seçilmiştir. Kökenlerin antibiyotik duyarlılıkları disk difüzyon testi ile belirlenmiştir. Disk difüzyon testi ile ertapenem dirençli olan izolatların sıvı mikrodilüsyon testi ile ertapenem, meropenem, seftazidim avibaktam ve aztreonam-avibaktam duyarlılıkları belirlenmiştir. Dirençli kökenlerde GSBL genlerinden *blaCTX-M Grup-1*, *blaTEM*, *blaSHV*, AmpC beta laktamaz genlerinden *blaACT*, *blaCMY-2*, *blaCIT*, *blaACC*, *blaDHA*, *blaEBC*, karbapenemaz genlerinden *blaNDM*, *blaOXA-48*, *blaKPC*, *blaIMP*, *blaVIM* genleri PCR ile amplifiye edilmiştir. Dirençli izolatlar içerisinde seçilen 8 izolat için tüm genom sekanslama yapılmıştır.

Bulgular: Çalışmaya kapsamında incelenen kökenlerin çoğu idrar örneklerinden (%32,3), erkek (%61,6) ve 18 yaş üzeri (%84,9) hastalardan izole edilmiştir. MALDI-TOF MS ile izolatların çoğunluğu (%42,41) *Enterobacter cloacae complex (ECC)* olarak tanımlanmıştır. Vitek 2 sonuçlarına göre 3.kuşak sefalosporin dirençli saptanan 154 izolata yapılan disk difüzyon testinde sefepim %53, ertapenem %41, meropenem %21, seftazidim-avibaktam (CZA) %25,4, imipenem-relebaktam (IMR) %28,5, meropenem-vaborbaktam (MEV) %12,5, sefiderekol (FDC) %22,06 dirençli bulunmuştur. Test edilen izolatlarda aztreonam-avibaktam (AZA) direnci saptanmamıştır. Otomatize sistem ile

disk difüzyon testi arasındaki uyum değerlendirildiğinde (n=154); seftriakson (CRO), seftazidim (CAZ), sefepim (FEP), ertapenem (ERT) ve meropenem (MEM) için saptanan çok büyük hata (VME) oranlarının kabul edilebilir sınırların dışında kaldığı görülmüştür (%7.37- %23,80). Benzer şekilde, disk difüzyon testi ile sıvı mikrodilüsyon testi arasındaki uyum incelendiğinde de (n=63) MEM ve seftazidim-avibaktam (CZA) için belirlenen VME oranları kabul edilebilir limitleri aşmıştır (%8.33- %14.81).GSBL saptamada kullanılan testler değerlendirildiğinde yapılan analizde, kombinasyon disk testi (KDT) ve çift disk sinerji testi (ÇDTS) yöntemlerinin GSBL saptama performansları arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ($p < 0,001$). KDT ile 80 izolat (%51,9) GSBL pozitif saptanmışken ÇDTS ile 41 izolat (%26,6) pozitif saptanmıştır. Moleküler yöntemlerle GSBL genlerinden en sık *blaCTX-M-Grup 1* (%44,8), AmpC beta laktamaz genlerinden *blaCIT* (%55,8) ve *blaCMY-2* (%46,8), karbapenemaz genlerinden *blaNDM* (%14,9) ve *blaOXA-48* (%6,5) tespit edilmiştir. WGS sonuçlarına göre *E. hormaechei*, *S. marcescens* ve özellikle *P. rettgeri* suşları; karbapenemaz, GSBL ve hatta kolistin direnç geni (*mcr-10*) barındıran epidemik bir karakterdedir. *C. koseri* herhangi bir kazanılmış direnç geni taşımayarak tamamen duyarlı ve stabil bir profil sergilemiştir. Yoğun olarak saptanan insersiyon sekansları, bu direnç genlerinin diğer patojenlere hızla aktarılabilceğini göstermektedir.

Sonuç: Sonuç olarak; *Enterobacter*, *Citrobacter*, *Serratia*, *Morganella*, *Providencia* ve *Hafnia* türlerinin sahip olduğu karmaşık direnç mekanizmaları nedeniyle, bu izolatların doğru tanımlanması ve antibiyotik duyarlılık testlerinde referans testler yöntemlerin kullanılması büyük önem taşımaktadır. Epidemiyolojik olarak hızla artış gösteren bu türlerin direnç profillerinin bölgesel ve ulusal düzeyde yakından takibi; akılcı tedavi protokollerinin oluşturulmasında ve direnç yayılımının önlenmesine yönelik politikaların geliştirilmesinde kritik rol oynayacaktır.

PHENOTYPIC AND GENOTYPIC CHARACTERIZATION OF BETA-LACTAM ANTIBIOTIC RESISTANCE IN RARELY ENCOUNTERED ENTEROBACTERIALES SPECIES ISOLATED FROM CLINICAL SAMPLES

ABSTRACT

Objective: This study aims to investigate the resistance profiles against beta-lactam antibiotics in rare *Enterobacterales* species, which pose a severe public health threat driven by emerging antimicrobial resistance, and to characterize the molecular mechanisms of the detected resistance phenotypes

Materials and Methods: A total of 448 ESCPM group bacteria, including *Enterobacter* spp., *Citrobacter* spp., *Serratia* spp., *Morganella* spp., *Providencia* spp., and *Hafnia* spp., isolated from clinical samples sent to the Erciyes University Faculty of Medicine Hospital Central Laboratory, Bacteriology Unit, between April 2023 and September 2025, were included in the study. Isolates were identified using MALDI-TOF-MS (Vitek-MS Prime, bioMérieux, France). A total of 154 isolates were identified as having third-generation cephalosporin resistance by an automated system (Vitek 2, bioMérieux, France) and were selected for phenotypic and genotypic testing. The antibiotic susceptibilities of the strains were determined by the disk diffusion test. For isolates found to be ertapenem-resistant by the disk diffusion test, susceptibilities to ertapenem, meropenem, ceftazidime-avibactam, and aztreonam-avibactam were determined using the broth microdilution test. In resistant strains, the ESBL genes *blaCTX-MGroup-1*, *blaTEM*, *blaSHV*, AmpC beta-lactamase genes *blaACT*, *blaCMY-2*, *blaCIT*, *blaACC*, *blaDHA*, *blaEBC*, and carbapenemase genes *blaNDM*, *blaOXA-48*, *blaKPC*, *blaIMP*, *blaVIM* were amplified by PCR. Whole-genome sequencing (WGS) was performed on 8 selected resistant isolates.

Results: Most of the strains examined in this study were isolated from urine samples (32.3%), male patients (61.6%), and patients over 18 years of age (84.9%). The majority of the isolates (42.41%) were identified as *Enterobacter cloacae* complex (ECC) by MALDI-TOF MS. In the disk diffusion test performed on the 154 isolates found to be third-generation cephalosporin-resistant according to Vitek 2 results, resistance rates were found as follows: cefepime 53%, ertapenem 41%, meropenem 21%, ceftazidime-avibactam (CZA) 25.4%, imipenem-relebactam (IMR) 28.5%, meropenem-vaborbactam (MEV) 12.5%, and cefiderocol (FDC) 22.06%. No aztreonam-avibactam (AZA)

resistance was detected in the tested isolates. When the categorical agreement between the automated system and the disk diffusion test was evaluated (n=154), the very major error (VME) rates detected for ceftriaxone (CRO), ceftazidime (CAZ), cefepime (FEP), ertapenem (ERT), and meropenem (MEM) remained outside the acceptable limits (7.37%- 23.80%). Similarly, when the agreement between the disk diffusion test and the broth microdilution test was analyzed (n=63), VME rates for MEM and CZA also exceeded the acceptable limits (8.33%-14.81%). Regarding the tests used for ESBL detection, the analysis revealed a statistically significant difference in ESBL detection performance between the combination disk test (CDT) and the double-disk synergy test (DDST) ($p < 0.001$). While 80 isolates (51.9%) were found ESBL-positive by CDT, 41 isolates (26.6%) were detected as positive by DDST. Using molecular methods, the most frequently detected genes were *blaCTX-M Group-1* (44.8%) among ESBL genes; *blaCIT* (55.8%) and *blaCMY-2* (46.8%) among AmpC beta-lactamase genes; and *blaNDM* (14.9%) and *blaOXA-48* (6.5%) among carbapenemase genes. According to WGS results, *E. hormaechei*, *S. marcescens*, and particularly *P. rettgeri* strains exhibited an epidemic character, harboring carbapenemase, ESBL, and even colistin resistance genes (*mcr-10*). Conversely, *C. koseri* displayed a completely susceptible and stable profile, carrying no acquired resistance genes. The high detection of insertion sequences indicates that these resistance genes can be rapidly transferred to other pathogens.

Conclusion: Due to the complex resistance mechanisms of *Enterobacter*, *Citrobacter*, *Serratia*, *Morganella*, *Providencia*, and *Hafnia species*, accurate identification of these isolates and the use of reference methods in antibiotic susceptibility testing are of paramount importance. Close monitoring of the resistance profiles of these rapidly increasing species at both regional and national levels will play a critical role in establishing rational treatment protocols and developing policies to prevent the spread of resistance.

Keywords: AmpC beta-lactamase, ESCPM, ESBL, *Enterobacter*, carbapenemase, antimicrobial resistance, antibiotic, β -lactam, new generation β -lactam β -lactamase inhibitors

1. GİRİŞ VE AMAÇ

Enterobacter cloacae, *Serratia marcescens*, *Citrobacter freundii*, *Providencia stuartii* ve *Morganella morganii* birlikte ESCPM grubu mikroorganizmalar olarak adlandırılır. Bu türler, idrar yolu enfeksiyonu, gastrointestinal sistem , deri ve yumuşak doku , solunum yolu , kemik , eklem ve merkezi sinir sistemi enfeksiyonları gibi çok çeşitli toplum ve sağlık hizmetleri kaynaklı enfeksiyonlarda rol oynamaktadır.

Gram-negatif bakterilerde β laktam halkasını hidrolize eden ve böylece ilacı etkisiz hale getiren β -laktamazların üretimi, β laktamlara karşı direncin başlıca nedenidir [1].

ESCPM grubuna dahil olan türlerin tamamı, yapılarında kromozomal olarak kodlanan AmpC beta-laktamaz enzimini içerir [2]. Düşük düzey ekspresyonda, AmpC β -laktamazlar benzilpenisilin, amoksisilin, ampisilin ve birinci nesil sefalosporinleri hidrolize eder ancak diğer β -laktamları etkilemez. Bununla birlikte, aşırı üretim durumunda, üçüncü nesil sefalosporinler (3GC'ler) de hidrolize edilebilir ve bu da son çare antibiyotiklerin kullanımına yol açabilir[3].

AmpC beta laktamazlara ek olarak bu türlerde beta laktam direncine GSBL ve karbapenemaz üretimi de neden olmaktadır. Güncel klinik araştırmalar en çok GSBL ve karbapenemaz üreten *Enterobacterales* kaynaklı enfeksiyonlara odaklanmaktadır; çünkü bu enfeksiyonlar yüksek ölüm oranları, geciken etkili tedavi süreçleri, uzayan hastanede kalış süreleri ve artan sağlık maliyetleriyle doğrudan ilişkilidir[4, 5]

Çalışmamızda çeşitli enfeksiyonlarla karşımıza çıkan ve artan antibiyotik dirençleri nedeniyle toplum sağlığını tehdit eden bu türlerinin beta-laktam grubu antibiyotiklere karşı direnç profillerinin saptanması ve bu direnç fenotiplerinin moleküler düzeyde karakterize edilmesi amaçlanmıştır. Bu sonuçların, tedavi protokollerinin ve direnç yayılımını önlemeye yönelik politikaların oluşturulmasında önemli rol oynayacağı düşünülmüştür.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. *Enterobacterales* Grubu Mikroorganizmalar ve Genel Özellikleri

Enterobacteriaceae familyası, bakteri alemine, *Gammaproteobacteria* sınıfına ve *Enterobacterales* takımına aittir. *Enterobacterales* takımı, gram negatif, spor oluşturmeyen, fakültatif anaerob bakterilerdir. Glikozu fermente ederler, nitratı nitrite indirgerler, katalaz üretirler ancak oksidaz üretmezler.

Enterobacteriaceae familyası 60'tan fazla cins ve 250'den fazla tür barındırır; bu da onu günümüzde tanımlanmış en taksonomik çeşitliliğe sahip bakteri gruplarından biri haline getirir.[6] Klinik örneklerden en sık izole edilen bakteriyel izolatlardır. Doğada çok yaygın olan bu organizmalar toprak ve sularda, bitkilerde, insan ve hayvanların intestinal sistemlerinde bulunmaktadır[7].

Enterobacterales için başlıca rezervuar alt gastrointestinal sistem olmakla birlikte, bu bakteriler çevrede de yaygın olarak bulunur. *Enterobacterales*, hemen hemen her organ sistemde hem toplum kaynaklı hem de hastane kaynaklı enfeksiyonlara yol açabilir. Bu organizmalar; sepsis, pnömoni, üriner sistem ve intraabdominal enfeksiyonlar gibi çeşitli klinik tablolara yol açan patojenik bakterilerin yanı sıra, gıda kaynaklı pek çok hastalığın etiyolojisinde yer alan ve tıbbi açıdan kritik öneme sahip türleri kapsamaktadır[8]. Mikrobiyoloji laboratuvarlarında izole edilen en yaygın gram negatif patojenlerdir ve gelişmiş moleküler dizileme tekniklerinin ortaya çıkmasıyla birlikte, klinik izolatlar için tür düzeyinde tanımlamanın doğruluğu önemli ölçüde artmıştır.

2.2. Enterobacterales Grubu Mikroorganizmaların Sınıflandırması

1980'li yılların başından 1990'lı yılların ortalarına kadar bakteriyel taksonomide temel yaklaşım; fenotipik (kültürel, biyokimyasal, serolojik, hücresel yağ asitleri) ve genetik (DNA-DNA hibridizasyonu, G+C mol%) verilerin kombinasyonundan oluşan polifazik yaklaşımdır. 1990'lı yıllarda 16S rRNA dizi analizinin kullanılmaya başlanması, bakteriyel sistematiğe bir dönüm noktası teşkil etmiştir[9]. Ancak, 16S rRNA'nın tür düzeyindeki düşük ayırt edici gücü, ek tekniklerin kullanılmasını zorunlu kılmıştır. Günümüzde; MALDI-TOF MS, multilokus dizi analizi (MLSA), ortalama nükleotid benzerliği (ANI), korunmuş proteinlerin yüzdesi (POCP), dijital DNA-DNA Hibridizasyonu (dDDH) ve tüm genom dizileme (WGS) gibi ileri yöntemlerin gelişmesi, özellikle *Enterobacteriaceae* üyelerinin taksonomik sınıflandırmasında sıkça güncellemeler yapılmasına neden olmaktadır [9].

Bakteriyel sistematiğe güncel düzenlemeler kapsamında Adeolu ve ark. (2016); genom genelindeki 1548 çekirdek protein, 53 ribozomal protein ve MLSA temelli verileri analiz ederek *Enterobacterales* takımı için yeni bir taksonomik çerçeve çizmişlerdir. Bu çalışma sonucunda, takımın ismi *Enterobacterales* olarak değiştirilmiş ve filogenetik olarak ayrılan yedi ana familya tanımlanmıştır: *Enterobacteriaceae*, *Erwiniaceae*, *Pectobacteriaceae*, *Yersiniaceae*, *Hafniaceae*, *Morganellaceae* ve *Budviciaceae* .[10] Taksonomik revizyonlar devam etmekte olup, 2024 yılında *Gallaecimonadaceae* familyasının eklenmesiyle bu taksonun kapsamı daha da genişlemiştir[11].

Günümüzde prokaryotlar için dinamik ve güncel taksonomik verilere, dijital referans kaynakları olan List of Prokaryotic names with Standing in Nomenclature (LPSN) ve Genome Taxonomy Database (GTDB) aracılığıyla erişim sağlanmaktadır. Özellikle *Enterobacterales* takımı gibi sık yenilenen grupların taksonomik durumları, bu veri tabanları üzerinden gerçek zamanlı olarak izlenebilmektedir. *Enterobacterales* takımı içerisinde yer alan klinik öneme sahip bakteriler Tablo 1.'de sunulmuştur.

Tablo 1. *Enterobacterales* takımında yer alan klinik öneme sahip bakteriler (Mahon & Lehman, 2022)

Familiya	Tür	Cins
<i>Enterobacteriaceae</i>	<i>Citrobacter</i>	<i>C. freundii</i> complex <i>C. koseri</i> <i>C. amalonaticus</i>
	<i>Cronobacter</i>	<i>C. sakazakii</i> <i>C. malonaticus</i> <i>C. farmeri</i>
	<i>Enterobacter</i>	<i>E. cloacae</i> complex
	<i>Escherichia</i>	<i>E. coli</i> <i>E. albertii</i> <i>E. fergusonii</i>
	<i>Klebsiella</i>	<i>K. pneumoniae</i> subsp. <i>pneumoniae</i> <i>K. pneumoniae</i> subsp. <i>ozanenae</i> <i>K. pneumoniae</i> subsp. <i>rhinoscleromatis</i> <i>K. aerogenes</i> <i>K. variicola</i>
	<i>Raoultella</i>	<i>R. ornithinolytica</i>
	<i>Salmonella</i>	<i>S. enterica</i> <i>S. bongori</i>
	<i>Shigella</i>	<i>S. dysenteriae</i> <i>S. flexneri</i> <i>S. boydii</i> <i>S. sonnei</i>
	<i>Erwiniaceae</i>	<i>Pantoea</i>
	<i>Hafniaceae</i>	<i>Hafnia</i>
<i>Morganellaceae</i>	<i>Edwardsiella</i>	<i>H. alvei</i> <i>E. tarda</i> <i>E. hoshina</i>
	<i>Morganella</i>	<i>M. morganii</i>
	<i>Proteus</i>	<i>P. mirabilis</i> <i>P. vulgaris</i> <i>P. penneri</i> <i>P. alcalifaciens</i>
	<i>Providencia</i>	<i>P. stuartii</i> <i>P. rettgeri</i>
<i>Yersiniaceae</i>	<i>Serratia</i>	<i>S. marcescens</i> <i>S. liquefaciens</i> <i>S. rubidaea</i> <i>S. fonticola</i> <i>S. odorifera</i> <i>S. plymuthica</i> <i>Y. pestis</i>
	<i>Yersinia</i>	<i>Y. enterocolitica</i> <i>Y. pseudotuberculosis</i> <i>Y. frederiksenii</i> <i>Y. kristensenii</i> <i>Y. intermedia</i>

2.3. Nadir Görülen Enterobacterales Türleri

2.3.1. *Enterobacter* Türleri

Enterobacteriaceae familyasının bir üyesi olan *Enterobacter* cinsi; yaklaşık 2 µm uzunluğunda, peritriş kamçılara (flagella) sahip, hareketli, fakültatif anaerob ve gram-negatif basil morfolojisindeki bakterileri içermektedir[12]. *Enterobacter* cinsi, toprak ve su dahil olmak üzere oldukça geniş bir çevresel dağılım sergileyen mikroorganizmalardan oluşmaktadır. İnsan ve hayvan bağırsak mikrobiyotasının doğal komensal üyeleri olmalarına karşın, cins içerisindeki belirli tür ve alt gruplar, günümüzde hastane kaynaklı enfeksiyonlar ve salgınlarla ilişkilendirilen önemli fırsatçı patojenler haline gelmiştir[13]. *Enterobacter* türleri, dirençli hastane enfeksiyonlarının başlıca nedeni olarak tanımlanan ESKAPE grubunun (*Enterococcus faecium*, *Staphylococcus aureus*, *Klebsiella pneumoniae*, *Acinetobacter baumannii*, *Pseudomonas aeruginosa* ve *Enterobacter* türleri) birer üyesidir[14]. *Enterobacter* cinsi ilk olarak 1960 yılında Hormaeche ve Edwards tarafından tanımlanmıştır [7]. ve son 50 yılda önemli taksonomik değişikliklere uğramıştır. Günümüze kadar *Enterobacter* cinsi içerisinde 22 tür tanımlanmıştır: *E. aerogenes*, *E. amnigenus*, *E. arachidis*, *E. asburiae*, *E. cancerogenus*, *E. cloacae*, *E. cowanii*, *E. dissolvans*, *E. gergoviae*, *E. helveticus*, *E. hormaechei*, *E. kobei*, *E. ludwigii*, *E. mori*, *E. nimipressuralis*, *E. oryzae*, *E. pulveris*, *E. pyrinus*, *E. radicincitans*, *E. soli*, *E. taylorae* ve *E. turicensis*. Bu taksonlar arasında; *E. cloacae*, *E. asburiae*, *E. hormaechei*, *E. kobei*, *E. ludwigii*, *E. mori* ve *E. nimipressuralis* olmak üzere yedi tür, "*Enterobacter cloacae complex*" (ECC) altında gruplandırılmaktadır. Söz konusu sınıflandırma, tam genom DNA-DNA hibridizasyonu (DDH) sonucunda saptanan fenotipik ve özellikle genotipik benzerliklere dayanmaktadır. Bu bağlamda *E. cloacae*, grubun diğer altı üyesiyle genomik düzeyde en az %60 oranında benzerlik sergilemektedir[15]. *Enterobacter cloacae*, dünya çapında sağlık kurumlarında ciddi tehdit oluşturan bir nazokomiyal patojen olarak öne çıkmaktadır. *E. cloacae*; hastane kaynaklı sepsis ve pnömoni vakalarının %5'inden, idrar yolu enfeksiyonlarının %4'ünden ve cerrahi sonrası gelişen peritonit olgularının %10'undan sorumlu tutulmaktadır [16]. *E. aerogenes*, *E. cloacae* ve *E. hormaechei*, antimikrobiyal ajanlara dirençleri ve fırsatçı özellikleri nedeniyle, özellikle yoğun bakım ünitelerindeki bağışıklık sistemi baskılanmış hastalarda klinik enfeksiyonlarda en sık bulunan ve tanımlanan türlerdir [17].

Hastane ortamına adaptasyon yetenekleri ve mobil genetik elemanlar aracılığıyla direnç/virülans genlerini edinebilme kapasiteleri, bu patojenlerin çoklu ilaca direnç (ÇİD) fenotipiyle sıkça ilişkilendirilmesine neden olmaktadır. Özellikle konstitütif AmpC β laktamaz ekspresyonu; ampisilin, amoksisilin, birinci kuşak sefalosporinler ve sefoksitine karşı doğal bir direnç mekanizması teşkil etmektedir. Bu direnç profiline eklenen GSBL üretimi, tedavi sürecinde karşılaşılan zorlukların temel kaynağını oluşturmaktadır [18]. *Enterobacter* türleri yapısal AmpC β laktamaz üretimine bağlı olarak aminopenisilinlere, amoksisilin-klavulonata, birinci kuşak sefalosporinler ve sefoksitine direçlidir. Bu bakterilerde genişlemiş spektrumlu β laktamaz (GSBL) üretimi de rapor edilmekte ve tedavi başarısızlığına neden olmaktadır [19]. Üçüncü kuşak sefalosporinlerin ve monobaktamların kullanımı AmpC β laktamazların in-vivo üretimini tetikleyerek tedavide kullanılan pek çok β laktam antibiyotiğe karşı direnç gelişimine neden olabilir. Çoğunlukla 3.kuşak sefalosporinler, penisilinler ve kinolonlara karşı direnç gözlenen *Enterobacter* türleri DSÖ'nün yeni antimikrobiyallere ihtiyaç duyulan öncelikli patojenler listesinde yer almaktadır[20]. *Enterobacter spp.* İzolatlarında 2000'li yılların başlarından beri karbapenem direnci de önemli bir sorun haline gelmektedir. Karbapenem direncinin gelişmesinde en sık görülen mekanizma karbapenemaz üretimidir.

AmpC β laktamaz üreten suşlarda sefepim ve sefpirom gibi 4. Kuşak sefalosporinlerin etkili olduğu görülmektedir. *Enterobacter spp.* 'ye bağlı kan dolaşımı enfeksiyonlarında piperasilin-tazobaktam kombinasyonunun etkili bir seçenek olduğu gözlemlenmiştir[12]. Karbapenem dirençli *Enterobacter* enfeksiyonlarında kullanılabilecek sınırlı sayıda ajan bulunmaktadır. Kolistin bu ilaçlar arasında yer almaktadır. Yeni siderofor sefalosporin olan sefiderekol bu bakterilere karşı iyi sonuçlar sergilemektedir[21]. Yeni nesil β laktam- β laktamaz kombinasyonlarından olan sefepim-zidebaktam, sefepim-tazobaktam, seftalozan-tazobaktam, seftazidim-avibaktam da bu türlere karşı yüksek antibakteriyel etki göstermektedir.[12, 21]. Ancak antimikrobiyal direnç gelişimini önlemek için bu ilaçların ilk seçenek olarak kullanılmaması önerilmektedir.[12].

2.3.2.Citrobacter Türleri

Citrobacter türleri *Enterobacterales* takımında yer alan gram negatif spor oluşturmeyen fakültatif anaerobik basillerdir. Anaerobik ortamda gliserolü trimetilen glikole metabolize edebilen suşlar ilk olarak Braak (1928) tarafından tanımlanmış ve gliserol fermantasyonunun bu yan ürününü 1881'de keşfeden Freund'a atfen "*Bacterium freundii*" şeklinde isimlendirilmiştir. Söz konusu suşların günümüzdeki taksonomik sınıflandırmasının temelini oluşturan *Citrobacter* cinsi ise 1932 yılında Werkman ve Gillen tarafından literatüre kazandırılmıştır[22, 23]. Bu türler adından da anlaşıldığı gibi sitratı karbon kaynağı olarak kullanmakta ve karbonhidratların fermantasyonunda asit ve gaz oluşturmaktadırlar. *Citrobacter* türleri; toprak, kanalizasyon çamuru ve gıdaların yanı sıra insan ile hayvanların bağırsak mikrobiyotasında yaygın olarak bulunmaktadır[24]. Bu cins, özellikle idrar yolu enfeksiyonları (İYE), kan dolaşımı enfeksiyonları, intraabdominal sepsis, beyin apseleri, pnömoni ve menenjit ile yenidoğan sepsisi, eklem enfeksiyonları veya yaygın bakteriyemi gibi diğer neonatal enfeksiyonlarla sıklıkla ilişkilendirilen, fırsatçı bir nazokomiyal patojen olarak kabul edilmektedir[25]. DNA homolojisine dayalı olarak günümüze dek toplam 19 *Citrobacter* genom türünün varlığı rapor edilmiştir (Tablo 2).[23, 26].

Tablo 2.*Citrobacter* Türleri

SAYI	TÜR
1	<i>C. amalonaticus</i>
2	<i>C. arsenatis</i>
3	<i>C. bitternis</i>
4	<i>C. braakii</i>
5	<i>C. cronae</i>
6	<i>C. europaeus</i>
7	<i>C. farmeri</i>
8	<i>C. freundii</i>
9	<i>C. gilleni</i>
10	<i>C. koseri</i>
11	<i>C. murlinae</i>
12	<i>C. pasteurii</i>
13	<i>C. portucalensis</i>
14	<i>C. sedlakii</i>
15	<i>C. rodentium</i>
16	<i>C. telavivensis</i>
17	<i>C. tructae</i>
18	<i>C. wermanii</i>
19	<i>C. younga</i>

Citrobacter türlerinin neden olduğu enfeksiyonların çoğu *C.koseri* ve *C.freundii* türleri ile ilişkilidir. *C. freundii* ve *C. koseri*, çoğunlukla idrar yolu enfeksiyonlarının yanı sıra cerrahi yaralar, solunum yolu enfeksiyonları ve gastrointestinal enfeksiyonlardan sıklıkla izole edilmektedir[27]. *C. koseri*, yaşamın ilk iki ayında MSS'ye önemli bir eğilim gösterirken, sıklıkla menenjit ve beyin apseleri, beyin yapışıklıkları, ensefalit ve pnömosefalite de neden olmaktadır[28]. *Citrobacter spp.* kaynaklı bakteriyemi, hastane kaynaklı veya toplum kökenli olabilir. Ayrıca, *Citrobacter spp.* kaynaklı enfeksiyonlar genellikle polimikrobiyal bakteriyemi ile ilişkilidir[29]. *Citrobacter* enfeksiyonlarının tedavisinde sefalosporinler, monobaktamlar, aminoglikozidler, sülfonamidler, nitrofurantoin, kloramfenikol, kinolonlar, karbapenemler ve kolistin gibi antimikrobiyaller kullanılabilmektedir. [30]. Son yıllarda *Citrobacter* türleri, özellikle de *Citrobacter freundii*, farklı klinik tablolara yol açmanın yanı sıra çeşitli antimikrobiyal ajanlara karşı artan oranlarda direnç geliştirmektedir[31]. *C. freundii*; başta amoksisilin, amoksisilin-klavulanat, ampisilin ile birinci ve ikinci kuşak sefalosporinler olmak üzere birçok β -laktam antibiyotiğe karşı *Citrobacter koseri*'ye kıyasla doğal veya edinsel olarak daha dirençli bir profili sergilemektedir. Bu doğrultuda, çoklu direnç gösteren *Citrobacter* izolatlarının klinik örneklerdeki saptanma sıklığı dünya genelinde giderek yükselmektedir[32]. Birçok uluslararası sürveyans programında ÇİD *Citrobacter* türlerinin AmpC β laktamaz, GSBL ve karbapenemaz ürettiği rapor edilmiştir.[30]. Literatürde, farklı kaynaklardan ve coğrafi bölgelerden izole edilen *Citrobacter* türlerinde, özellikle de *C. freundii* suşlarında, kinolon direnci belirleyici bölgelerde (QRDR) mutasyonlar olduğunu bildiren birçok çalışma mevcuttur.[33, 34]. Çoklu ilaç direnci gösteren *Citrobacter* suşları, ampirik antibiyotik seçeneklerini ciddi şekilde sınırlandırmaktadır. Son yıllarda yapılan çeşitli çalışmalarda; *Citrobacter* türlerinin meropenem, imipenem, kolistin, tigesiklin, piperasilin-tazobaktam ve sefoperazon-sulbaktam karşı yüksek duyarlılık gösterdiği saptanmıştır[35, 36]. Bu doğrultuda söz konusu ajanlar, *Citrobacter* enfeksiyonlarının tedavisinde öncelikli seçenekler arasında değerlendirilebilir. Alternatif tedavi arayışları kapsamında yürütülen in vitro çalışmalar, gümüş nanopartiküllerinin de *Citrobacter* enfeksiyonlarına karşı terapötik bir potansiyel taşıdığını ortaya koymuştur[37]. Benzer şekilde, yakın tarihli bir araştırmada, *C. amalonaticus* suşlarına karşı uygulanan faj-antibiyotik kombinasyonunda, subletal

konsantrasyondaki fajların etkili birer adjuvan olarak görev yapabileceği gösterilmiştir[38].

2.3.3.Serratia Türleri

Serratia cinsi, *Enterobacterales* takımına ait, fakültatif anaerobik Gram-negatif basil türüdür. Şu ana kadar bu cins içinde 23 tür tanımlanmıştır; bunlardan altısı, *S. marcescens*, *S. plymuthica*, *S. liquefaciens*, *S. rubidaea*, *S. odorifera* ve *S. fonticola* insan enfeksiyonlarıyla ilişkilendirilmiştir. Bunlar arasında *S. marcescens* en sık izole edilen türdür. *Serratia marcescens*; mercanlar, böcekler, nematodlar ve bitkilerden memelilere kadar uzanan genişlikte bir konakçı spektrumunu enfekte edebilme yeteneğiyle çok yönlü ve yüksek adaptasyon kapasitesine sahip bir patojen olarak öne çıkmaktadır[39]. Bartolomeo Bizio tarafından 1819 yılında tanımlanan ve uzun süre nonpatojen mikroorganizma olarak değerlendirilen *Serratia marcescens*'in zamanla fırsatçı enfeksiyonlara yol açtığı ortaya konulmuştur[40]. *S. marcescens*, *S. Plymuthica* ve *S. rubidaea* 'nın birçok örneği kırmızı pigmentlidir (Şekil 1). *Serratia marcescens*'in kırmızı pigmenti en sık çevresel izolatlarda görülür. Hastanelerden izole edilen suşlar genellikle kırmızı pigmentli değildir. 35-37°C'de iyi ürerler. *Serratia* türleri idrar yolu, solunum sistemi, kan dolaşımı sistemi aynı zamanda sağlık hizmeti ilişkili enfeksiyonlara neden olabilen patojenlerdir[41]. Bu bakteri grubunun intravenöz, intraperitoneal ve üriner kateterler ile bazı antiseptik solüsyonlarında kolonizasyonu sonucu gelişen hastane enfeksiyonları tipiktir. Yapılan çalışmalarda hastane personeli tarafından elden ele yatay bulaş sonucu salgınlar görülebileceği bildirilmiştir[42, 43]. *Serratia* türleri ağırlıklı olarak çeşitli glikolipidler ve lipopeptidler üretir. Bu bileşiklerin antibakteriyel, antifungal ve antiprotozoal etkinlik gösterdiği bildirilmiştir [44]. Ayrıca, *Serratia* türleri tarafından üretilen glikolipidler, bakteri ve mantar suşlarına karşı biyofilm bozucu ve antiadhezyonel aktivite gösterir[45]. Bu nedenle *Serratia* türleri tarafından üretilen glikolipidler ve lipopeptidler, potansiyel biyomedikal ve terapötik uygulamaları nedeniyle ilgi çekicidir.

Serratia türleri %5 koyun kanlı agar, mac conkey agar, çikolata agar gibi standart besiyerlerinde kolaylıkla ürerler. 30-37°C’de bir gecelik inkübasyon sonrası 2mm çapında koloniler oluştururlar. Glukozu fermente ederler, oksidaz testleri negatiftir. Genellikle nitratı nitrite indirgerler ve Voges-Proskauer testi pozitifdir.[40]. Kültür dışında 16S rRNA sekanslaması gibi moleküler yöntemler, otomatize bakteriyel sistemler ve MALDI-TOF ile de *Serratia* türleri tanımlanabilmektedir.



Şekil 1. *S. marcescens*’in kırmızı pigmentli üreyen koloni görünümü

Serratia türleri β laktam antibiyotiklere karşı dirence neden olan β laktamaz üretebilir. Karbapenem direnci de gösterebilirler. Bu mekanizmadan aşırı AmpC β laktamaz üretimi, KPC, SME, IMP, VIM gibi karbapenemaz üretimi sorumlu tutulmaktadır. Aminoglikozid direnci, metil transferazlar tarafından sağlanan 16S rRNA’nın transkripsiyon sonrası metilasyonu ile ilişkilidir.[46].

S.marcescens enfeksiyonlarının klinik yönetimi ampisilin, birinci ve ikinci kuşak sefalosporinler, makrolidler, kolistin ve katyonik antimikrobiyal peptitler gibi farklı sınıf antibiyotiklere karşı olan doğal direnci nedeniyle zorluk yaratmaktadır.[39]. *S.marcescens* enfeksiyonları genellikle sefepim, tigesiklin, kolistin veya karbapenemlerle tedavi edilir. Dördüncü kuşak sefalosporinler, üçüncü kuşak sefalosporinlere direncin belirgin olduğu durumlarda iyi tedavi seçenekleridir AmpC kromozomal b-laktamaz

üreten suşlara karşı aktiftirler ve ESBL pozitif izolatların tedavisinde de etkilidirler[47]. Ek olarak aminoglikozidler de tedavide kullanılmaktadır. Trimetoprim-sülfametoksazol (kotrimoksazol), özellikle idrar yolu enfeksiyonları için en etkili olanıdır. Literatüre göre, amikasin gentamisine dirençli *S. marcescens*'e karşı etkilidir.[48].

2.3.4.Morganella Türleri

Gram negatif fakültatif anaerobik basil olan *Morganella*, *Enterobacteriaceae* familyasının Proteaceae grubunun *Morganellaceae* ailesine aittir. *Morganella morganii* *Morganella*'nın tanımlanmış tek türüdür ve *morganii* ve *simonii* olmak üzere iki alt türü vardır[49]. Laktoz ve maltoz fermentasyonu yapmayan, spor oluşturmayan, üreaz ve fenilalanin deaminaz enzimlerine sahip bir bakteri türüdür. Triptofanaz enzimi ile triptofandan indol oluşturur Kanlı agar besiyerinde 37°C'de bir gece inkübasyondan sonra 2-3mm çaplı gri renkli koloniler oluşturur. MacConkey ve Eozin Metilen Blue(EMB) besiyerinde laktoz negatif koloniler meydana getirir[7]. Metil kırmızısı reaksiyonu pozitif, Voges-Proskauer reaksiyonu ve sitrat testi negatiftir. Üç şekerli demirli besiyerinde dipte asidik, üst kısımda ise alkali reaksiyon oluşturur. H₂S üretmez. Proteus türlerinin aksine jelatini hidrolize etmez.[49, 50].

M. morganii, insanlarda, hayvanlarda ve çevrede yaygın olarak bulunur. Solunum yolu, idrar yolu ve yara enfeksiyonlarında fırsatçı bir patojen olarak rol oynayan bu organizma; özellikle yenidoğanlar, cerrahi müdahale geçirmiş bireyler ve diyabetik hastalar gibi hassas popülasyonlarda ciddi klinik tablolara yol açmasının yanı sıra, yüksek hastane kaynaklı insidansı ve kan dolaşımı enfeksiyonlarındaki belirgin mortalite oranları nedeniyle küresel ölçekte yüksek riskli bir halk sağlığı tehdidi oluşturmaktadır.[51]. Literatürde deri ve yumuşak doku enfeksiyonları, hepatobiliyer sistem enfeksiyonları, üriner sistem enfeksiyonları, menenjit, septik artrit, otitis media, perikardit, nekrotizan fasit gibi enfeksiyonlara da neden olduğu bildirilmiştir.[49, 50, 52].

M. morganii kromozomal olarak kodlanmış AmpC β laktamaz genlerini içeren gruba aittir. *Enterobacterales* (*Morganella* dahil) kaynaklı enfeksiyonların tedavisi sıklıkla β -laktamlar kullanır ve karbapenemler yaygın bir tercihtir. Bununla birlikte, özellikle NDM benzeri ve KPC benzeri enzimler üreten karbapenem dirençli *Enterobacterales*'in ortaya çıkması önemli bir endişe kaynağı haline gelmiştir[53]. Yayınlanmış veriler, bu türde

geniş spektrumlu beta-laktamazların, karbapenemazların ve plazmit aracılı kinolon direncinin artan varlığını göstermiştir ki bu da antibiyotik seçimini daha da karmaşıktırmaktadır[54]. *M. morganii* tarafından taşınan saptanabilir antimikrobiyal direnç genlerine örnek olarak β -laktamazlar (*bla* DHA-1, *bla*NDM-1, *bla*OXA-48 ve *bla*TEM-1), aminoglikozitler (*aphA6*, *aadA2*vermtB), makrolidler ERY (*ereA2*, *mph(A)*), tetrasiklin (*tet(A)*, *tet(D)*), trimetoprim (*dfrA1*, *dfrA19*) ve florokinolonlar (*gyrA*, *gyrB*, *parC*) örnek verilebilir. [55-57]

M. morganii, ampisilin, amoksisilin, amoksisilin klavulonik asit, ampisilin sülbaktam, sefazolin, sefalotin, sefadroksil, sefalekssin, tetrasiklinler, polimiksin B, kolistin ve nitrofurantoin doğal olarak dirençlidir.[58]. Patojenin birden fazla antimikrobiyal ajana karşı içsel ve edinilmiş direnç geliştirme yeteneği nedeniyle tedavide kullanılacak uygun antibiyotik seçimi çok önemlidir[59].

2.3.5.Providencia Türleri

Providencia cinsi; fakültatif anaerobik, gram-negatif basil morfolojisine sahip bakterileri içermektedir. Başlangıçta *Enterobacteriaceae* ailesi içinde sınıflandırılan bu cins, *Enterobacterales* takımı düzeyinde yapılan güncel taksonomik düzenlemelerin ardından *Morganellaceae* ailesine dahil edilmiştir. *Providencia* cinsi taksonomik olarak geçerli kılınmış 15 türden oluşmaktadır. Bu türler; *P. stuartii*, *P. manganoxydans*, *P. burhodogranariae*, *P. sneebia*, *P. rettgeri*, *P. huaxiensis*, *P. vermicola*, *P. alcalifaciens*, *P. heimbachae*, *P. rustigianii*, *P. huashanensis*, *P. thailandensis*, *P. xianensis*, *P. zhijiangensis* ve *P. hangzhouensis* olarak sınıflandırılmaktadır.[60]. *Providencia* cinsi üyeleri; su, toprak ve çeşitli hayvan konakları dahil olmak üzere doğada yaygın olarak bulunan fırsatçı patojenlerdir. Bu mikroorganizmalar insanlarda; diyare, gıda kaynaklı hastalıklar, üriner sistem enfeksiyonları ve bakteriyemi/sepsis gibi geniş bir klinik yelpazedeki enfeksiyonlardan izole edilmektedir[61].

Providencia türleri hareketli, gram negatif, kapsülsüz, spor oluşturmeyen, laktoz ve maltozu fermente etmeyen basillerdir. Fenilalanin deaminaz enzimi ile fenilalanini fenil pürevik aside dönüştürürler. Lizin dekarboksilaz, ornitin dekarboksilaz ve arjinin dihidrolaz testleri negatiftir. Mannoz ve inositolden gaz oluştururlar. Sitratı tek karbon

kaynağı olarak kullanırlar. Bu türler içerisinde *P. stuartii* ve *P. rettgeri* üreaz pozitifdir.[50, 62].

Providencia türleri içerisinde enfeksiyon etkeni olarak en sık izole edilen türler *P. stuartii* ve *P. rettgeri*'dir. Özellikle uzun süreli idrar kateteri taşıyan yaşlı bireylerde, kateterle ilişkili idrar yolu enfeksiyonlarının gelişiminde *P. rettgeri* ve *P. stuartii* sıklıkla sorumlu tutulmaktadır. *Providencia* türleri rutin olarak üriner sistem enfeksiyonlarına veya kan dolaşımı enfeksiyonlarına neden olmasa da altta yatan ciddi predispozan faktörleri olan yaşlı hastalarda, bu türlere bağlı gelişen bakteriyemi olgularının genel mortalite oranı yüksek olabilmektedir.[63, 64]. Üreaz pozitif bir tür olan *P. stuartii*'nin bu enzimatik aktivitesi, ürolitiazis patogeneze katkıda bulunan temel faktörler arasındadır. Özellikle *P. stuartii* ve *Proteus mirabilis* ko-enfeksiyonu sürecinde ortaya çıkan sinerjik üreaz indüksiyonu, klinik olarak hem ürolitiazis hem de bakteriyemi insidansının artmasında patofizyolojik bir mekanizma olarak rol oynamaktadır.[64]. Kalıcı üriner kateterizasyonu olan olgularda kateter ve drenaj sisteminin mor renk alması esasına dayanan mor idrar torbası sendromunun etiopatogenezinde, yüksek sülfataz ve fosfataz aktiviteleri nedeniyle *P. stuartii* ve *P. rettgeri* suşları primer izolatlar olarak karşımıza çıkmaktadır.[65]. Su ve toprak gibi çevresel kaynaklardan da izole edilebilen *Providencia rettgeri*; üriner sistem enfeksiyonları, gastroenterit, yara enfeksiyonları ve sepsis/bakteriyemi tablolarıyla ilişkilendirilmiştir. Bu tür, özellikle immün sistemi baskılanmış bireylerde yüksek enfeksiyon riski taşımakta ve yanık hastalarında sekonder enfeksiyon etkeni olarak sıklıkla karşımıza çıkmaktadır.[66].

Providencia türleri EMB ve Mac Conkey besiyerlerinde laktoz negatif koloniler oluştururlar. Hareket testi pozitifdir. IMVIC reaksiyonu ++-+ dir. Üç şekerli demirli besiyerinde dip kısımda asit, yatık kısımda alkali reaksiyon oluştururlar. H₂S oluşturmazlar. Jelatini hidroliz etmezler. *P. rettgeri* adonitol ve arabitol fermantasyonu yapmasıyla *P. stuartii*'den ayrılır. *P. stuartii* trehalozu fermente eder, *P. rettgeri* fermente etmez.[50].

Providencia türleri ampisilin, amoksisilin kalavulonik asit, ampisilin sülbaktam, sefalotin sefalekssin, sefazolin, sefadroksil, tetrasiklin, polimiksin B, kolistin, nitrofurantoine intrinsik dirençlidirler.[58]. *Providencia* suşları, birinci kuşak ve geniş spektrumlu penisilinler ile sefalosporinleri hidrolize etme yeteneğine sahip, kromozomal olarak

indüklenebilir beta laktamazlar üretebilmektedir [67]. Bu direnç potansiyeli nedeniyle, klinik *Providencia* izolatlarının antimikrobiyal duyarlılık profillerinin yakından izlenmesi ve fenotipik direnci ortaya koyacak spesifik doğrulama testlerinin uygulanması büyük önem taşımaktadır.

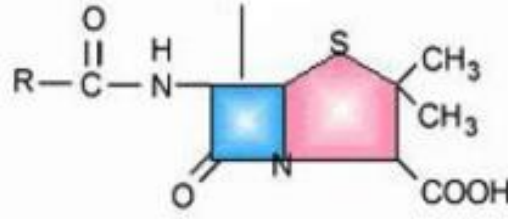
2.3.6.Hafnia Türleri

Hafnia türleri, hareketli, fakültatif anaerob, oksidaz negatif, spor oluşturmayan, gram negatif basilleri içermektedir. Daha önceleri *Enterobacter hafnia* olarak tanımlanan *Hafnia alvei*, Hafnia içerisindeki tek türdür. Gastrointestinal sistemlerde fırsatçı patojen olarak bulunabilen *Hafnia alvei*'de O ve H antijenlerine göre 8 adet serovar saptanmıştır ve bakteriye has bakteriyofajlar bulunmuştur. *Hafnia*, genellikle orofaringeal örneklerden, gastrointestinal sistemden, daha az sıklıkla kandan ve doku, idrar ve kateterler de dahil olmak üzere çeşitli diğer anatomik bölgelerden elde edilir [68]. Çeşitli klinik enfeksiyonlar ile ilişkilendirilen *H. alvei*'nin neden olduğu sepsis, menenjit, endokardit, pnömoni, endoftalmit, üriner sistem enfeksiyonu, diyare, nekrotizan enterokolit, postoperatif yara enfeksiyonları bildirilmiştir[69].

Hafnia, %2 ila %5 NaCl içeren ortamlarda, 4,9 ila 8,25 pH aralığında ve 4°C ila 44°C sıcaklık aralığında ürer. Üremesi için optimum sıcaklığın 35°C olduğu bildirilmiştir. *Hafnia* suşlarının neredeyse tamamı MacConkey, Hektoen enterik, eozin-metilen mavisi ve ksiloz-lizin-deoksikolat agarlarında ürer. Tipik olarak 2 ila 3 mm çapında, düzgün kenarlı, büyük, pürüzsüz, saydam koloniler olarak görünürler. Laktoz, sükroz ve H₂S negatif negatiftir.[70, 71].

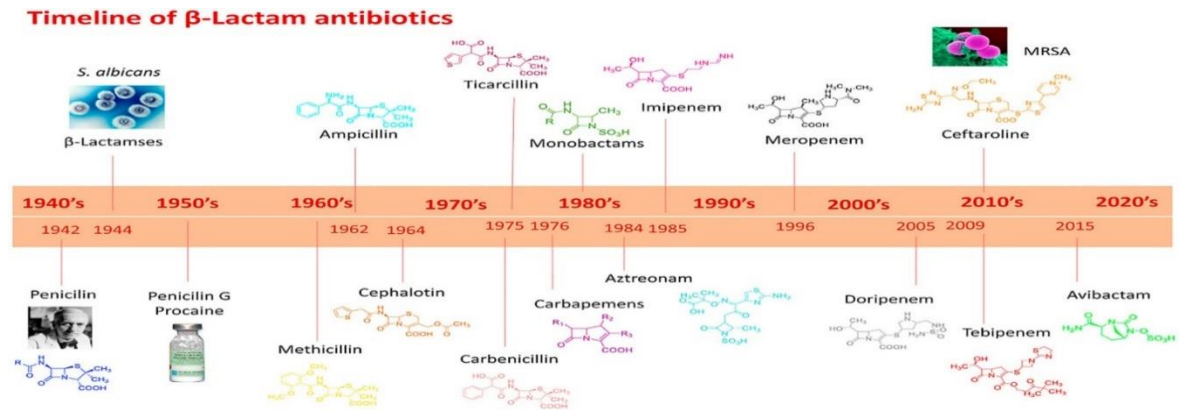
2.4.β Laktam Antibiyotikler

Antibiyotikler, bakterisidal veya bakteriyostatik özelliklere sahip, mikroorganizma türleri tarafından üretilen kimyasal maddeler olarak tanımlanır. Beta laktam grubu antibiyotikler, kimyasal yapısında ortak beta-laktam halkası (Şekil 2) taşıyan, hücre duvarı sentezini inhibe ederek antibakteriyel etki gösteren geniş bir antibiyotik grubudur.[72].



Şekil 2. Beta Laktam Halka Yapısı

Beta laktam grubu antibiyotikler günümüzde en yaygın olarak kullanılan antibiyotik sınıfıdır. İlk 1920’lerde Alexander Fleming tarafından benzilpenisilin bulunmasından bu yana birçok yeni penisilin türevi, sefalosporinler, monobaktam ve karbapenemler olmak üzere birçok beta laktam antibiyotik grupları geliştirilmiştir (şekil 3)[72]. Peptidodlikan, bakteri duvarında mekanik stabiliteyi oluşturan yapı olup hem gram pozitif hem gram negatif bakteri duvarının ana bileşenidir. Beta laktamlar peptidoglikan sentezinin son basamağında penisilin bağlayan proteinlere(PBP) bağlanarak çapraz peptidizasyonu inhibe ederek etki gösterirler [73].



Şekil 3. Beta Laktam Antibiyotiklerin Zaman Çizelgesi[72]

2.5. Beta Laktam Antibiyotik Grupları

Beta laktamların sınıflandırılması β laktam halka grubuna eklenerek ek aktiviteyi oluşturan çeşitli ünitelerin kimyasal yapısına göre yapılmaktadır. Buna göre; Beta-laktam antibiyotikleri; penisilinler, sefalosporinler, monobaktamlar ve karbapenemler olmak üzere 4 grupta sınıflandırılırlar.[73]. Bu sınıflandırma, β -laktam farmakofor birimine füzyonlanmış ve düzlemsel olmayan bisiklik bir iskelet oluşturan halkanın kimyasal yapısına bağlıdır. Penisilin antibiyotiklerinde β -laktam sistemi, beş üyeli kükürt içeren bir

halkaya bağlanarak penam iskeletini oluşturur. Sefalosporinlerde, altı üyeli kükürt içeren bir halka β -laktama bağlanarak sefam iskeletini oluşturur. Karbapenemlerde β -laktam birimi sırasıyla bir siklopenten ve 2,3-dihidrotiofen halkalarına bağlanır. Monobaktam antibiyotiklerinde ise β -laktam sistemine hiçbir halka bağlanmaz.[74]

2.5.1.Penisilinler

β -laktam antibiyotiklerin ilk prototipi, 1928 yılında A. Fleming tarafından keşfedilen Penisilin G'dir. *Penicillium chrysogenum* kültürüne fenoksiasetik asit eklenerek benzilpenisilin elde edilmiştir. Onun oksa-homologu ise Penisilin V 'dir.[75]. β -laktamazlar tarafından kolayca hidrolize olurlar ve sulu asidik ortamdaki kimyasal kararlılıklarına göre farklılık gösterirler[76].

Penisilinler, beta-laktam halkasının amino grubunun üzerinde bulunan yan zincirde oluşan değişikliklerle birbirlerinden ayrılırlar. Yan zincirde oluşan bu değişiklikler ilacın antibakteriyel özelliklerini değiştirebilir .Penisilinler kendi içerisinde 7 türe ayrılırlar[77];doğal penisilinler, penisilinaza dayanıklı penisilinler, aminopenisilinler, antipseudomonal penisilinler, geniş spektrumlu pseudomonaslara etkili penisilinler, amdinopenisilinler, Beta-laktam inhibitörlü kombine penisilinler.

2.5.1.1.Doğal penisilinler: Prokain penisilin G, Penisilin G, Benzatin penisilin G, Kristalize penisilin G, Penisilin V (Fenoksi metil penisilin).

Kliniklerde kullanımına başlatılan ilk ilaç doğal penisilinlerdir. Penisiline *duyarlı Streptococcus pneumoniae* enfeksiyonları ve menenjit, *Streptokokal* farenjit, endokardit, deri ve yumuşak doku enfeksiyonları, *Neisseria meningitidis* enfeksiyonları ve frengi gibi enfeksiyon etkeni olan gram negatif ve gram pozitif bakterilere etkilidir.[73].

2.5.1.2.Penisilinaza Dayanıklı Penisilinler: Oksasilin, Metisilin, Dikloksasilin, Nafsilin, İzaksazolil penisilin, Kloksasilin, Flukloksasilin.

Gram pozitif organizmalara karşı etkinliğe sahiptirler. Klinikte metisilin duyarlı *S. aureus* tedavisinde kullanılırlar.[78, 79]. PnG dirençli *S. aureus* ' a karşı etkili ilk semi sentetik penisilin metisilindir. *Neisseria spp.* ve *H. influenzae* dışındaki gram negatiflere etkisizdir. *S. aureus*, *S. epidermidis*, *S. pyogenes* ve *S. pneumoniae* karşı etkilidir.

PBP'deki değişimlerden dolayı bazı *S. aureus* ve *S. epidermidis* suşlarında metisilin direnci meydana gelmiştir.[80].

2.5.1.3.Aminopenisilinler: Siklasilin, Ampisilin, Amoksisilin, Bakampisilin, Episilin, Pivampisilin.

Bu antibiyotikler gram pozitif, gram negatiflere etkilidirler ve yaygın olarak beta laktamaz inhibitörleri ile (amoxicillin/clavulanate, ampicillin-sulbactam) kullanılırlar.

Semi sentetik penisilin olan ampisilin (alfa-amino-benzilpenisilin) 1961 yılında kullanıma girmiştir. Primer amin grupları ampisilinin hidrofilik özelliğinin artmasını sağlamış ve bu durum gram negatif dış membranındaki porinlerden diffüze olmasına izin vermiştir.[81, 82]. Ampisilin geniş bir etki spektrumuna sahiptir. Beta laktamaz üretmeyen gram pozitiflere ve *N. gonorrhoeae*, *N. meningitidis*, *H. influenzae*, *T. pallidum*, *Leptospira spp.*, *E. coli*, *Salmonella spp.*, *Shigella spp.* ve *Proteus mirabilis* gibi gram negatif bakterilere etkilidir.

Amoksisilin 1964 yılında kullanıma girmiştir. Antimikrobiyal etki spektrumu ampisilinle aynıdır. Fakat *Shigella spp.* 'ye karşı daha az etkinliği vardır.[83].

2.5.1.4.Genişlemiş Spektrumlu Penisilinler: Genişlemiş spektrumlu semisentetik penisilinler *Klebsiella*, *Enterobacter spp.* ve *Pseudomonas aeruginosa* gibi Gram negatif patojenlere karşı etkinliğin artması için tasarlanmıştır. İki majör sınıftan oluşur.:

Karboksipenisilinler: Tikarsilin ve karbenisilinin

Üreidopenisilinler: Mezlosilin, azlosilin ve piperasilin

Aminopenisilinlerden daha etkin olmalarına rağmen beta laktamaz enzimlerine karşı duyarlıdırlar. Aminopenisilinler gibi ilaç etkinliğini arttırmak için beta laktamaz inhibitörleri ile kullanılırlar.

2.5.1.5.Geniş spektrumlu pseudomonaslara etkili penisilinler: Azlosilin, Mezlosilin, Piperasilin. Geniş spektrumlu penisilinlerin içerisinde olan ve karboksipenisilin grubunda bulunan karbenisilin ve tikarsilin bulunduran preparatlar *Pseudomonas aeruginosa* bakterisinin oluşturduğu enfeksiyonların tedavisinde kullanılır. Bu grubun içerisinde olan

antibiyotikler beta laktamazlara karşı dayanıklı değildirler. Aminopenisilinler ile karşılaşıldığında *Enterobacter* türlerine daha çok etkinlik gösterirler.

2.5.1.6.Amdinopenisilinler: Amdinosilin, Pivamdiosilin

2.5.1.7.Beta Laktamaz İnhibitörleri: Beta laktamaz inhibitörleri geniş bakteriyel aktiviteye sahiptirler ve toplum kaynaklı enfeksiyonların tedavisinde her yaş hasta grubunda güvenle kullanılan antibiyotiklerdir. İlk β -laktamaz inhibitörü, 1970'lerin sonlarında Beecham ve Glaxo laboratuvarları tarafından aynı anda keşfedilen klavulanik asittir. Hem gram pozitif hem de gram negatif bakterilerin kromozomal ve plazmid aracılı β -laktamazlarının çoğuna karşı aktivitesi olan, geniş spektrumlu bir β -laktamaz inhibitörüdür.[84]. 1980'lerin başlarında, olumlu farmakokinetik ve farmakodinamik profilleri nedeniyle, klavulanik asit ve amoksisilin kombinasyonunun, amoksisiline dirençli bakterilerin neden olduğu idrar yolu enfeksiyonunun tedavisinde etkili ve güvenli olduğu gösterilmiştir. Daha sonra ise tikarsilin ve klavulanik asit kombinasyonu piyasaya sürülmüştür. Diğer beta laktamaz inhibitörleri olan sulbaktam 1978 yılında, tazobaktam 1980 yılında geliştirilmiştir. Bu üç inhibitör Ambler sınıf A beta laktamazları eksprese eden birçok duyarlı mikroorganizmaya karşı etkili iken; B, C ve D beta-laktamazlara karşı etkinlikleri daha azdır[85]. β -laktamaz inhibitörleri arasında etkisi daha az olan sulbaktamdır. Ampisilin ve sefoperazon ile intravenöz kullanım için ticarileştirilmiştir. Klavulanik aside benzer potansiyele sahip tazobaktam, piperasilin ve tikarsilin ile kombine edilmektedir.

Beta-laktam inhibitörlü kombine penisilinler: Ampisilin/Sulbaktam, Amoksisilin/Klavulonat, Tikarsilin/Klavulonat, Piperasilin/Tazobaktam.

2.5.2.Sefalosporinler

İlk sefalosporin 1948 yılında *Cephalosporium acremonium* kültüründen Giuseppe Brotzu'un öncülük ettiği çalışmada izole edilmiştir.

Sefalosporinlerin keşfi, 1948 yılında Giuseppe Brotzu'nun *Cephalosporium acremonium* suşlarından elde ettiği ekstrelerin *Salmonella typhi* üzerindeki inhibitör etkisini göstermesiyle başlamıştır. Sınıfın öncül bileşiği olan sefalosporin C, yapısındaki C7 d- α -

aminoadipik asit yan zinciri vasıtasıyla penisilin G'den farklı bir hidrofilik karakter kazanarak penisiline dirençli kùltùrlere karşı klinik bir alternatif sunmuştur[72].

Sefem iskeletini oluşturan dihidrothiazin halkasının altı üyeli ve kükürt içerikli yapısı, sefalosporinlerdeki β laktam sisteminin penisilinlere oranla daha düşük bir halka gerilimine sahip olmasını sağlamaktadır. Bu yapısal avantaj, molekülün nükleofilik saldırılara ve hidrolize karşı reaktivitesini düşürerek sefalosporinlerin β laktam halka açılmasına karşı penisilinlerden daha dirençli bir profil sergilemesiyle sonuçlanmaktadır.[72]. Genel olarak invitro antibakteriyel aktivitelerine göre sefalosporinler 5 sınıfa ayrılırlar.

2.5.2.1.Birinci Kuşak Sefalosporinler: Sefalotin, sefazolin, sefaloridin, sefalekssin, sefapirin, sefradin, sefadroksil, sefasetril, seftezol.

Sefalekssin ve sefadroxil oral olarak; sefalotin, sefapirin ve sefazolin parenteral olarak kullanılır. Genel olarak gram pozitif etkinlikleri fazladır ancak enterokoklar, *Listeria*, metisilin dirençli *S.aureus* (MRSA) ve penisilin dirençli pnömokoklara etkinliği yoktur.

2.5.2.2.İkinci Kuşak Sefalosporinler: sefuroksim, sefoksitin, sefamandol, sefonisid, sefonarid, sefaklor, sefotiam, sefmetazol, sefotetan.

Sefaklor, sefuroksim,lorakarbef ve sefprozil oral olarak; sefamisin türevleri (sefoksitin, sefotetan, sefmetazol) parenteral olarak kullanılır. İkinci nesil sefalosporinlerin gram negatiflere karşı aktiviteleri arttırılmıştır. Birinci, nesil ile kıyaslandığında beta laktamaz etkinlikleri geliştirilmiştir. Genel olarak gram pozitif koklara etkili olup, antistafilokokal etkinlikleri birinci kuşağa göre düşüktür. 1. kuşağa ilaveten *Haemophilus influenzae*, *Moraxella catarrhalis*'e karşı da etkilidirler.

2.5.2.3.Üçüncü Kuşak Sefalosporinler: Sefotaksim, seftizoksim, sefoperazon, seftriakson, moksolaktam, seftazidim, sefsulodin, sefmenoksim, sefpiramid.

Üçüncü nesil sefalosporinlerin birinci ve ikinci nesillere göre beta laktamaz etkinlikleri daha yüksektir. Gram negatif enterik basillere ve *P. aeruginosa*'ya etkinliği vardır; fakat metisilin duyarlı *S.aureus* (MSSA) 'a etkinliği azalmıştır. *Enterokok*, *Listeria*, *MRSA* ile *Acinetobacter spp.*'ye karşı aktiviteleri yoktur.

Alt grup A: Gram negatif basillere etkili ancak, *P.aeruginosa*'ya daha az etkili gruptur: seftotaksim ve seftriakson

Alt grup B:*P.aeruginosa* dahil daha geniş gram negatif aktivitesi olan gruptur: seftazidim, sefpodoksim, seftibuten,sefdinir

Enterik gram negatif basillere karşı artan aktivite, idrar yolu enfeksiyonlarının ve birçok nazokomiyal enfeksiyonun tedavisinde başarı sağlarken; kromozomal aracılı (indüklenebilir) AmpC β -laktamaz üretme kabiliyetine sahip olan *Enterobacter*, *Serratia* ve *Citrobacter spp.*'nin etken olduğu enfeksiyonların tedavisinde başarısız olabilir. Başarısızlığın sebebi enfeksiyon bölgesinde, β -laktamaz gen regülasyonundaki değişikliklere dayalı olarak bu enzimleri yapısal olarak aşırı üreten mikroorganizmalardan ve bu mikroorganizmaların üçüncü nesil ajanlara direnç kazanmasından dolayıdır[86].

2.5.2.4.Dördüncü Kuşak Sefalosporinler: Sefepim, sefpirom

Dördüncü nesil sefalosporin antibiyotiklerin Gram negatif bakterilere etki spektrumları üçüncü nesil sefalosporinlerle aynı iken; Gram pozitif mikroorganizmalara etkinlikleri daha yüksektir. Üçüncü nesil sefalosporinlere kıyasla β -laktamazlar tarafından hidrolize daha az duyarlıdır ve *MSSA*, *Streptococcus spp.*, *P. aeruginosa* ve enterik gram negatif basillere karşı etkinlikleri güçlüdür.[87]. İndüklenebilir kromozomal AmpC β laktamazlara daha etkilidir. Dihidrotiazon halkasına pozitif yüklü kuarterner amonyum eklenmesi ile geliştirilmiştir. Bu özelliği ile hem gram negatif bakterilerin dış membranlarından geçişi daha iyi olmakta hem de bazı kromozomal β laktamazlardan daha az etkilenmektedir.

2.5.2.5.Beşinci Kuşak Sefalosporinler: Seftarolin, seftabiprol

Beşinci nesil sefalosporinler anti-metisiline dirençli *S. aureus* (MRSA) sefalosporinler olarak bilinirler. Bu ajanlar, MRSA'da β -laktam direnci oluşturan PBP2a'ya ve pnömokok'ta direnç sağlayan PBP2x'e bağlanmak ve inaktive etmek için tasarlanmıştır. İn vitro olarak aktivitesinin seftriaksona benzemesine karşın; PBP2a'ya bağlanma afinitesi yüksek olduğu için MRSA ve vankomisin intermediated *S.aureus* (VISA) ve hetero-VISA dahil gram pozitif koklara da etkinliği vardır. Ek olarak penisilin ile

seftriaksona yüksek dozda duyarlı *S.pneumoniae* grubuna da etkilidir. Bununla birlikte *Enterobacterales* grubu ve AmpC β laktamaz aşırı üreticilere veya GSBL üreten enterobakterilere, *P. auriginosa*, *A.baumannii* ve *Bacteriodes fragilis*'e etkisi yoktur.

2.5.2.6.Diğer Sefalosporinler:Sefiderekol

Katekol tipi bir siderofor ile sefalosporin molekülünün sentetik konjugasyonu ile geliştirilen sefiderekol, aktif demir taşıyıcıları aracılığıyla periplazmik boşluğa alınarak penisilin bağlayıcı protein 3 (PBP3) üzerinden hücre duvarı sentezini inhibe eder. Bu özgün giriş mekanizması; porin kaybı, effluks pompa aktivasyonu ve karbapenemaz kaynaklı inaktivasyon gibi gram-negatif direnç mekanizmalarından etkilenmeyen gelişmiş bir etkinlik profili sağlamaktadır[88]. Bu özelliği ile GSBL ve/veya karbapenemaz üreten çok ilaca dirençli gram negatif bakterilere etkinlik gösterir.

2.5.3.Monobaktamlar

Monobaktamlar tek bir beta laktam halkasına sahip ve *Chromobacterium spp.*'den izole edilmiş doğal olarak oluşan bir antibiyotiktir. Penisilinler, sefalosporinler ve karbapenemlerin aksine, monobaktamlar bitişik bir halkaya kaynaşmaz. Bu sınıftaki tek ajan olan Aztreonam, yan zincirlerle kimyasal olarak modifiye edilmiştir. Monobaktamların tek fizikokimyasal özelliği gram negatif bakterilerin dış membranlarından kolayca difüze olabilmesidir. Gram negatif bakterilerde PBP3'e bağlanıp hücre duvarı sentezini engelleyen Aztreonam, gram pozitif bakterilerin PBP'sine ise bağlanamaz. Aztreonam *P. aeruginosa* dahil olmak üzere gram negatif aeroblara karşı geniş spektruma sahipken, gram pozitif bakterilere ve anaeroblara karşı etkinliğe sahip değildir.

2.5.4.Karbapenemler

Bilinen en geniş spektrumlu beta-laktam antibiyotiklerdir. Karbapenem antibiyotiklerde beta laktam halkasının 1. pozisyonundaki karbon atomu yerine sülfür bağlanmıştır. Beş üyeli halka yapısının 2. ve 3. karbon atomları arasında doymamış bir çift bağ bulunur. Hidroksietil yan zincirinin varlığı beta laktamaz stabilitesini sağlar. Bu yan zincir penisilin ve sefalosporinlerden farklı olarak trans konfigürasyonundadır. Bu özellik karbapenemlerin beta laktamaz aktivitelerini güçlendirmiştir. Karbapenemler

Streptomyces cattleya' dan izole edilen bir beta laktamaz inhibitörü olan tienamisinin yapısal analogudur.

Antimikrobiyal bir ilaç olarak ilk karbapenem, tienamisinin bir N-formimidoil türevi olan imipenemdir. Tienamisine benzer şekilde, imipenemin renal dehidropeptidaz-1 (DHP-1) tarafından hızlı bir şekilde metabolize edilmesi idrarda düşük imipenem konsantrasyonu ile sonuçlanır. Bu durum klinik uygulamalarda zorluk yaşatmaktadır.[89]. Bu sınırlamayı aşmak için imipenem, inaktivasyonunu önleyen ve imipenemin hidrolize metaboliti ile ilişkili nefrotoksitesini önleyen, DHP-1'in geri dönüşümlü bir inhibitörü olan silastatin ile birlikte kullanılır[90].

İnsan DHP-1 tarafından hidrolize dirençli ilk karbapenem meropenemdir ve 1996'da onaylanmıştır. Monoterapi olarak kullanıldığında imipenem/silastatinin birleşimi kadar etkili olan, iyi tolere edilen geniş spektrumlu bir antibakteriyel ajandır. Meropenemin konsantre çözeltilerdeki kimyasal stabilitesi sınırlıdır ve 37 0C sıcaklıkta, 24 saatte yaklaşık %60 oranında bozunmaktadır. Bu nedenle karbapenem antibiyotikler intravenöz veya parenteral uygulama ile kullanılır.

Doripenem ve ertapenem meropenemin yapısal analoglarıdır ve daha yüksek yarı ömre sahiptirler. Doripenem 2007 yılında ertapenem 2001 yılında FDA tarafından onaylanmış parenteral antibiyotiklerdir. Ertapenemin lipofilitesindeki ve iyonizasyon profilindeki artış kapsamlı bir protein bağlanmasına sebep olur. Bu durum da imipenem ve meropenemden daha yüksek yarılanma ömrüne sahip olmasını ve günde bir dozun yeterli olmasını sağlar[91, 92]

2.6. Beta Laktam Antibiyotiklerin Etki Mekanizması

Bakteri hücre duvarını oluşturan asıl polimer peptidoglikan tabakasıdır. Peptidoglikanın temel yapısı N-asetilglukozamin ve N-asetilmuramik asit moleküllerinin sıralanmasıyla oluşan bir zincir şeklindedir. Bu zincirler peptit bağları ile çapraz bağlanarak bakteriyi sarar ve hücre duvarına şeklini verip ozmotik kuvvetlere karşı koruma görevi görür.

Beta laktam antibiyotikler peptidoglikan öncüllerinin terminal D-alanil-D-alanin kısmına benzerlikleriyle, peptidoglikan zincirleri arasında çapraz bağların oluşumunu sağlayan ve penisilin bağlayan proteinler (PBP) adı verilen transpeptidaz enzimlerinin aktif bölgesine

bağlanırlar. β laktam halkası PBP'nin aktif bölgesinde bulunan serin kalıntısıyla kovalent bir açıl kompleksi oluşturur. Bu da enzimi geri dönüşümsüz bir şekilde inhibe ederek, bakteri hücre duvarının temel yapısı olan peptidoglikan sentezini engeller. Sonuç olarak bakteri hücre duvarı bütünlüğü bozulur, bakteri ozmotik lizise uğrar ve ölür.

2.7. Beta Laktamlara Direnç Mekanizması

Beta-laktamlara bakteriyel direnç, çoğunlukla beta-laktamaz üretimi yoluyla ifade edilse de birçok mekanizma rol oynamaktadır. Direnç mekanizmaları şunlardır:

1. Penisilin Bağlayan Proteinlerde oluşan değişiklikler ile antibiyotiğin hedefine bağlanmasının engellenmesi
2. Dış membran proteinlerinin (OMP) ifadesinde azalma veya atım pompaları ile ilacın hücre içine girişinin önlenmesi
3. β laktamaz enzimleri ile antibiyotiğin inaktive edilmesi

Gram negatif bakterilerde direnç her üç mekanizma ile de oluşabilirken, gram pozitif bakterilerde dış membran olmadığından direnç sadece enzim ve PBP'lerdeki değişimlere bağlı olabilmektedir.

2.7.1. Beta Laktamazlar

Beta laktam antibiyotiklere karşı klinikte en sık gözlenen direnç, bakterilerin bu antibiyotikleri hidroliz eden β laktamaz enzimlerini sentezlemesi ile oluşmaktadır[93]. β -laktamazlar, klinik açıdan özel bir öneme sahiptir ve Gram-negatif bakterilerde en önemli direnç mekanizmasını oluşturur.

2.7.1.1. Beta Laktamazların Sınıflandırılması

Bu enzimler, β -laktam halkasının hidrolitik açılmasını katalize ederek antibiyotiğin PBP'leri hedef almasını engeller. β -Laktamazlar, bu katalizi gerçekleştirdikleri mekanizmaya göre genel olarak serin β -laktamazlar (SBL'ler) ve metalo- β -laktamazlar (MBL'ler) olarak sınıflandırılır. MBL katalizi bir veya daha fazla çinko iyonuna

bağlıyken, SBL'ler PBP'lerle benzer bir şekilde β -laktamlarla etkileşime girerek antibiyotik ile bir serin kalıntısı arasında kovalent bir kompleks oluşturur. [94].

Molekül büyüklüğü ve aminoasit dizilerine göre bu enzimler 1980 yılında Ambler tarafından A,B,C ve D olarak 4 grupta toplanmıştır.[95]. A, C ve D sınıfları, aktif bölgelerindeki serin aracılığıyla substratlarını hidrolize eden enzimleri içerirken, B sınıfı β -laktamazlar, β -laktam hidrolizini kolaylaştırmak için en az bir aktif bölge çinko iyonu kullanan metaloenzimleri içerir. Daha sonra Philippon tarafından A grubuna iki alt grup eklenmiştir.[95].

Diğer bir sınıflandırma β laktamazların substrat profilleri, hidroliz hızları ve inhibitörler ile etkileşimlerini temel alan fonksiyonel bir sınıflandırmadır. 1995 yılında Bush biyokimyasal ve yapısal özelliklerine göre bir sınıflandırma yapmış bu sınıflandırma 2010'da Bush ve Jakoby sınıflandırması olarak güncellenmiştir.[96]. Bazı işlevsel isimler birkaç grubu veya sınıfı kapsayabilir. Örneğin; karbapenemaz türündeki β laktamazlar A,B veya D gruplarında bulunabilir veya işlevsel grup 2d,2f veya grup 3'te yer alabilir. GSBL'ler A, C veya D grubunda ya da 1e, 2be, 2de, 2e gruplarında yer alabilir. (Tablo 3).

Tablo 3.Klinikte Önemli Beta Laktamazlar[96]

Moleküler Grup/alt grup	İşlevsel grup/alt grup	İsim	Önemli enzimler	Substrat profili	İnhibitör özelliği
A	2a	Penisilinaz	PCI/blaZ	Dar spektrumlu penisilinler	Klavulanik asit, tazobaktam
A	2b	Penisilinaz	TEM-1, SHV-1	Dar spektrumlu penisilinler, İlk sefalosporinler	Klavulanik asit, tazobaktam
A	2be	GSBL	TEM-10, SHV-2, CTX-M-15	Dar spektrumlu penisilinler, İlk sefalosporinler, genişlemiş spektrumlu sefalosporinler, monobaktamlar	Klavulanik asit, tazobaktam, avibaktam
A	2br	IRT	TEM-30(IRT-2)	Penisilinler, İlk sefalosporinler	Tazobaktam, avibaktam
A	2e	GSBL Sefalosporinaz	CepA	Genişlemiş spektrumlu sefalosporinler	Klavulanik asit
A	2f	Karbapenemaz	KPC	FDA onaylı tüm β laktamlar	Avibaktam, relebaktam, vaborbaktam
A	2f	Karbapenemaz	SME	Tüm penisilinler, ilk sefalosporinler, karbapenemler	Klavulanik asit, avibaktam, vaborbaktam
B1,B2	3b3a	MBL Karbapenemaz	IMP, NDM, VIM, SPM	Monobaktamlar dışında tüm penisilinler, sefalosporinler, karbapenemler	EDTA, klinik onaylı inhibitör yok
B2	3b	MBL Karbapenemaz	L1, CphA	Karbapenemi tercih eder	EDTA, klinik onaylı inhibitör yok
C	1	Sefalosporinaz	AmpC	Sefalosporinler	Aztreonam, avibaktam, vaborbaktam
D	2d	Oksasilinaz	OXA-1	Penisilinler özellikle oksasilin/kloksasilin	Değişken
D	2df	Karbapenemaz	OXA-23, OXA-48, OXA-181, OXA-232	Penisilinler özellikle oksasilin/kloksasilin, karbapenemler	Avibaktam (OXA-48)
GSBL:Genişlemiş spektrumlu beta laktamaz, IRT:İnhibitöre dirençli TEM MBL:Metallo beta laktamaz					

Enzimleri substrat profillerine göre sınıflandırmada yani işlevsel sınıflandırmada proteindeki bir nokta mutasyonu ile enzimin substrat ve inhibitör özgüllüğünün değişme olasılığı varken aminoasit dizilerinin belirlenmesine dayanan moleküler sınıflandırma sabittir ve mutasyonlardan etkilenmemektedir.[97].

Gram negatif bakterilerde β laktamazlar dış membran ile sitoplazmik membran arasındaki periplazmik boşlukta bulunmaktadır. Gram negatif bakterilerde β laktamaz enzimlerini kodlayan genler kromozom veya hareketli hareketli gen elemanlarında yer almaktadır. Birçok β laktamaz geni integronlar içindeki gen kasetlerinde bulunur.[96].

2.7.1.2.Beta Laktamazların Tarihçesi

Beta laktamazlar, terapötik antibiyotiklerin baskısı olmasa bile var olan eski enzimlerdir. Modern filogenetik araştırmalara göre serin beta laktamazların 2 milyar yıldır var olduğu, plazmid ile kodlanan beta laktamazların ise milyonlarca yıldır görüldüğü öne sürülmüştür. Son gelişmelere göre Meksika'daki Lechuguilla Mağarası gibi lokal bölgelerde fonksiyonel beta laktamaz benzeri aktivitelerin 4 milyon yıldan fazla zamandır süregeldiği bildirilmiştir. Mağaradan örnekleme yapıldığında 93 bakteriyel suşun izole edildiği ve bunların %62'sinin beta laktamaz ürettiği görülmüş ancak bilinen laktamaz dizilerinin hiçbir ile uyumlu sekans tanımlanmamıştır.[98].

Klinikte gram pozitif bakterilerde ilk β laktamaz 1946'da İngiltere'den *S.aureus*'ta bildirilmiştir. Gram negatiflerde ise ilk bildirilen enzim *E. coli*'de 1940 yılında bulunan grup C β laktamazdır. Gram negatif bakterilerde bildirilen plazmid kaynaklı ilk enzim *blaTEM-1*'dir. Bu enzim 1960 yılında Yunanistan'da Temoniera isimli bir çocuk hastanın kanından izole edilen *E.coli*'de saptanmış, ismi de hastanın baş harflerinden oluşturulmuştur.[99]. Karbapenemazlar *Stenotrophomonas maltophilia* klinik izolatlarında ve insanlarda gastrointestinal sistem dışında nadiren enfeksiyonlara sebep olan *Bacillus spp.*'deki izolatlardan (*B. anthracis* dışında) çinko içeren beta laktamazlar olarak ortaya çıkmıştır[100]. *Serratia marcescens* türündeki türe özgü kromozomal SME (*Serratia marcescens* enzymes) enzimleri gibi sınıf A karbapenemazlar 1980'li yıllarda Avrupa ve Amerika 'da tanımlanmaya başlamıştır. Plazmid kodlu MBL'lardan IMP enzim ailesi 1990'da Japonya 'da VIM (Verona Integron-encoded Metallo- beta-lactamase) beta laktamaz enzimi 1997'de İtalya 'da ortaya çıkmış olsa da IMP ve VIM MBL ailesi 2000 yılından sonra yayılım göstermiştir.[90, 101].

İki binli yılların başında plazmid kodlu KPC (*K. pneumoniae carbapenemase*) serin karbapenemazların tanımlanmasından hemen sonra dünyanın birçok bölgesinden karbapenemaz üreten *Enterobacteriaceae spp.*'in sebep olduğu epidemiler bildirilmiştir.

En yaygın olanları *K. pneumoniae* klonal kompleksi 258'de (CC258) sıkça rastlanan *blaKPC-2* ve *blaKPC-3* enzimleridir. KPC üreten mikroorganizmalar kolistin dirençli *K. pneumoniae* suşlarının yol açtığı enfeksiyonlarda %51 gibi yüksek bir oranda mortalite ile ilişkilidir.

MBL NDM-1 (New Delhi metallo-beta-lactamase) karbapenemlerden sonra daha ciddi tehdit oluşturmuş beta laktamaz olup ilk olarak Hindistan Yeni Delhi 'de 2009 yılında tanımlanmıştır. Diğer MBL'ların aksine *blaNDM-1* dünya genelinde çabuk yayılım göstermiş olup Hindistan yarımadasında baskın karbapenemaz haline gelmiş ve Balkanlar 'da ve Orta Doğu 'da da büyük salgınlara sebep olmuştur[101, 102]

OXA-48 çoklu ilaç direnci olan *Enterobacteriaceae* türlerinde görülen karbapenemleri ve genişletilmiş spektrumlu sefalosporinleri yavaşça hidrolize eder ve birçok beta laktamaz inhibitörü (avibaktam hariç) ile çok az inaktive olur. Akdeniz ve Güney Avrupa bölgesinde prevalansı yüksektir. Fransa ve İspanya 'da bu enzimle ilişkili salgınlar bildirilmiş olup yakın zamanda *E. coli* suşlarındaki karbapenemazların %74'ünün, *Citrobacter* suşlarındaki karbapenemazların ise %32'sinin *blaOXA-48* olduğu bildirilmiştir.[101, 103]

Antibiyotik kullanımı ile oluşan seçici baskı sonucu aminoasit dizilerindeki mutasyonlar ile yeni enzimlerin ortaya çıkması ve plazmid, transpozon, gen kasetleri gibi hareketli elemanlar üzerinde bulunması sonucu kısa sürede yayılmaları kaçınılmaz olmuştur.

2.7.1.3.Ülkemizdeki β Laktamazlar

Ülkemizde antibiyotik direncine ilişkin çalışmalar 1960'lı yıllarda başlamıştır.1980'li yıllarda geniş ve genişlemiş spektrumlu β laktamların kullanıma girmesiyle birlikte özellikle gram negatif bakterilerdeki β laktamazlar ülkemizde merak konusu olmuştur. Genişlemiş spektrumlu β laktamazlar ilk kez 1992 yılında Gür ve arkadaşları tarafından bildirilmiştir.[104].GSBL'lerin *P.aeruginosa*' da saptanan OXA türevleri *blaOXA-11,14,15,16,17* dünyada ilk kez Türkiye'de Hacettepe hastahanesinden bildirilmiştir.[105, 106]. Ülkemizde dünyada ilk kez bildirim yapılan diğer β laktamazlar, *K.pneumoniae*'da bulunan, Karbapenemaz aktivitesine sahip *blaOXA-48*, *P.*

auriginosa'da saptanan *blaVIM-5*, *P.mirabilis*'te bildirilen grup D OXA-320 β laktamazdır.[107, 108].

2.7.1.4. Grup A Beta Laktamazlar

2.7.1.4.1 Grup 2a β Laktamazlar

Grup 2 beta laktamazlar, klavulanik asit ve tazobaktam ile inhibe olan Penisilinaz ve sefalosporinazları kapsar. Moleküler sınıflandırmada A sınıfında yer alırlar. Bu grupta iki alt grup vardır: 2a ve 2b

Grup 2a β laktamazlar sadece dar spektrumlu penisilinazları içerirken grup 2b β laktamazlar penisilin ve sefalosporinleri aynı oranda inaktive ederler. Grup 2a β laktamazları temsil eden enzim PC1 olarak adlandırılır ve dar spektrumlu hidrolitik aktiviteye sahiptir. Bu enzimler esas olarak benzilpenisilin ve penisilin türevlerini parçalarken sefalosporinler, karbapenemler ve monobaktamlara etkileri benzilpenisilin veya ampisilin ile kıyaslandığında bunların sadece %10'u kadardır. Nitrosefinin alt grup 2a enzimleri tarafından kolay hidrolize edilmesi bir istisnadır. Bu sefalosporin de rutinde β laktamaz saptamak için test olarak kullanılmaktadır.[95]. 2a penisilinazlar küçük bir grup beta laktamazları oluşturur ve stafilkokoklar ve bazen enterokoklar dahil olmak üzere gram pozitif koklarda baskın beta laktamazlardır[96]. *S.aureus* izolatlarında penisilin direncine yol açan iki mekanizma vardır. Birincisi *blaZ* geni ile kodlanan β laktam halkasını parçalayan Penisilinaz üretimi, ikincisi *mecA* ile kodlanan farklı bir penisilin bağlayan protein (PBP2a) üretimidir.

S.aureus izolatlarında en az 4 tip Penisilinaz (A-D) tanımlanmış olup hepsi Ambler sınıf A'da yer almaktadır. Tip A, C ve D genellikle plazmid kaynaklı iken tip B kromozomaldır.

2.7.1.4.2. Grup 2b/2be β Laktamazlar

2b grubunda bulunan β laktamazlar klinik kullanım için onaylanan ilk penisilinleri ve sefalosporinleri hidrolize ettikleri için geniş spektrumlu β laktamazlar olarak tanımlanmıştır. 2be tanımı ise bu grupta yer alan enzimlerin grup 2 β laktamazlardan türediğini göstermektedir. 2be'nin e'si genişlemiş (extended) bir spektruma sahip olduğunu belirtir.

2.7.1.4.2.1.Grup 2b

Alt grup 2b beta laktamazlar penisilinler ve sefaloridin ve sefalotin gibi ilk nesil sefalosproineri hidrolize edebilirken klavulanik asit ve tazobaktam ile güçlü bir şekilde inhibe edilirler. Bu grup beta laktamazlar 1970'lerde ve 1980'lerin başında tanımlanan en yaygın plazmid aracılı beta laktamazlar olan TEM-1, TEM-2 ve SHV-1 enzimlerini içerirler[109]. 1995 tarihli β -laktamaz derlemesinden bu yana, genellikle direnç gösteren klinik izolatlardaki diğer β -laktamazların karakterizasyonu sırasında, en az 9 TEM ve 29 SHV 2b enzimi tanımlanmıştır.[96]. Gram negatif bakteriler arasında 1960'larda görülen ampisilin direncindeki artış plazmid kaynaklı bir β laktamaz olan TEM-1 enziminin ortaya çıkmasına bağlanmıştır. TEM β laktamaz ailesi; *Enterobacteriaceae* üyeleri başta olmak üzere *P. auriginosa*, *H. influenzae* ve *N. gonerrhoeae* gibi çeşitli bakteriler aracılığıyla dünya çapında yayılmıştır. Benzer şekilde moleküler yapısı TEM enzimleriyle ilişkili olan SHV tipi β laktamazlar da *E. coli*, *K. pneumoniae* izolatları arasında yaygın görülmeye başlanmıştır.[110, 111].

2.7.1.4.2.2.Grup 2be

Grup 2be'de yer alan bazı GSBL'ler grup 2b'de yer alan *blaTEM-1*, *blaTEM-2* veya *blaSHV-1* türevleri olup, öncüllerinden yalnızca bir veya iki aminoasitlik küçük farklılıklarla ayrılmaktadır. Bununla birlikte bu küçük farklar bile GSBL'lerin enzimatik aktivitesinde büyük değişikliklere neden olur ve bu özellikleri ile artık üçüncü kuşak sefalosporineri veya aztreonamı hidrolize edebilirler.[112, 113].

Alt grup 2be GSBL'leri içerir. Bu geniş spekturumlu enzimler sefotaksim, sefazidim ve aztreonam gibi bir veya daha fazla oksimino beta laktamların hidrolizine ek olarak 2b alt grubunda yer alan beta laktamazların hidrolize ettikleri penisilinleri ve sefalosproinerine karşı da aktivite göstermektedir. Bu grupta *blaTEM*, *blaSHV* ve *blaCTX-M* türevleri gibi GSBL'ler yer almaktadır. Büyük çoğunluğu sefoksitin gibi sefamisinleri, karbapenemleri ve temolisilini hidroliz edemezken; GES varyantları gibi bazıları sefamisinleri ve karbapenemleri hidrolize edebilmektedir.[110, 114]. *blaCTX-M* enzimlerinin çoğu sefotaksimi, seftazidimden daha kolay hidrolize ederken; birçoğu sefepimi de hidrolize edebilmektedir. TEM ve SHV GSBL'lerden farklı olarak CTX-M enzimleri klavulanik asit ile karşılaştırıldığında tazobaktam ile inaktive edilebilir.

2.7.1.4.2.2.1GSBL Tipleri

GSBL tipleri hakkında çok sayıda derlemeler yayınlanmıştır, ancak bu enzimlerin çok hızlı gelişmesi bu konudaki bilgilerin düzenli olarak gözden geçirilmesini gerektirmektedir.[115].

2.7.1.4.2.2.1.1.TEM GSBL'ler

TEM tipi GSBL'ler TEM-1 ve TEM-2'nin türevleridir. TEM-1 taşıyan *E. coli*'lerin yaklaşık %90'ında ampisilin, penisilin ve birinci kuşak sefalosporinlere karşı direnç görülürken, oksimino-sefalosporinlere karşı direnç görülmez.[110]. TEM-2 TEM-1'den 39. Pozisyonadaki bir aminoasit değişikliğiyle farklılık göstermektedir. Direnç profilleri benzer olmakla birlikte, TEM-2 TEM-1'e göre daha yüksek bir enzimatik aktivite göstermektedir[116]. TEM ailesinin GSBL fenotipi gösteren ilk enzimi olan TEM-3, 1987 yılında Fransa'da *K. pneumoniae* izolatında tespit edilmiştir. TEM-3 TEM-2 ile ilişkili olup ana enzimden 2 aminoasit farkıyla ayrılmaktadır. Daha sonra TEM-1'den üç ve dört aminoasit farklı olan TEM-4 ve TEM-5 bildirilmiştir. Tüm dünyadan yeni varyantlar bildirilmesi ile TEM ailesindeki çeşitlilik artmaktadır. Mart 2025 tarihine kadar çoğunluğu grup 2be' de olmak üzere 250'den fazla TEM varyantı tanımlanmıştır.[117, 118].

2.7.1.4.2.2.1.2.SHV GSBL'ler

SHV adı sülfidril değişkenden gelmektedir. SHV tipi enzimler, çoğunlukla *K. pneumoniae* başta olmak üzere *Klebsiella* türlerinde bulunur ve sıklıkla plazmid kaynaklıdır. Ancak birçok türün kromozomunda SHV geni taşıdığı gösterilmiştir[115].

İlk bla_{SHV-1} geni 1970'lerde *E. coli*'de tanımlanmıştır.SHV-1 amino asit dizisi olarak TEM'e %68 oranında benzerlik göstermektedir. Penisilinlere, birinci ve ikinci kuşak sefalosporinlere karşı etkilidir. 1983 yılında Almanya'da *K.ozanae*'da sefotaksimi ve daha az oranda seftazidimi hidroliz eden SHV-2 tanımlanmıştır. SHV-1'den tek farkı 238. pozisyonadaki aminoasit dizilimidir[115]. Sonra birkaç yıl içinde klinik *K.penumoniae* izolatlarında SHV-1 ve SHV-2 ile %50-90 arası benzerlik gösteren SHV-2a, SHV-3, SHV-4, SHV-5 olmak üzere 4 farklı GSBL varyantı tanımlanmıştır. Zamanla da yeni varyantlar

ortaya çıkmıştır. Mart 2025 tarihine kadar 240'tan fazla SHV varyantı tanımlanmıştır.[118].

Dünya genelinde SHV-5 ve SHV-12 *Enterobacterales* üyelerinde en fazla bulunan GSBL varyantlarıdır. En sık *K.pneumoniae* izolatlarında saptanmakla beraber diğer *Enterobacterales* ve *P.auriginosa*'da da bulunabilirler.[119].

2.7.1.4.2.2.1.3.CTX-M GSBL'ler

CTX-M tanımı bu enzimlerin sefotaksime karşı güçlü hidrolitik aktivitesinden ve ilk kez Münih'te tanımlanmasından kaynaklanmaktadır.[115]. SHV ve TEM tipi GSBL'lerin çoğunun seftazidimaz aktivitesi göstermesinin aksine, CTX-M tipi enzimler çoğunlukla seftaksimaz aktivitesi göstermektedir.[120]. Ek olarak bazı CTX-M tipi enzimler seftazidim ve sefepimi yüksek etkinlikle hidroliz etmektedirler. CTX-M-15, CTX-M-16, CTX-M-27 buna örnek verilebilir. CTX-M-19 da sefotaksime kıyasla seftazidimi karşı daha çok etkilidir.

CTX-M-1'in 1989 yılında Almanya'da klinik bir *E. coli* izolatından saptanmasından sonra diğer ülkelerden de bildirim yapılmıştır. İlk bildirimlerin ardından birçok ülkede salgınlara yol açmıştır. CTM-M taşıyan izolatların dünya çapında yayılması daha sonra "CTM-M pandemisi" olarak adlandırılmıştır. *Enterobacterales* üyelerinde, *P. auriginosa* ve *Acinetobacter spp.*'de CTM-M varyantları bildirilmiştir.

CTX-M tipi enzimler TEM ve SHV tipi GSBL'lerin aksine mevcut enzimlerin değişime uğraması sonucu oluşmamıştır. *Kluyvera spp.*'den gen transferi yoluyla edinilmiştir.

CTX-M, 291 amino asidi kodlayan bir enzimdir ve bunlardan herhangi birinde meydana gelen değişiklik, yeni bir CTX-M varyantının ortaya çıkmasına neden olur. Amino asit dizisi benzerliği kullanılarak, CTX-M β -laktamazlarının filogeni ağacı oluşturulmuştur. Bunlar, CTX-M-1, CTX-M-2, CTX-M-8, CTX-M-9, CTX-M-25 ve CTX-M KLUC olmak üzere altı kümeye ayrılmıştır [115, 121]. Şu ana kadar, 172 farklı CTX-M varyantı için mevcut veri tabanı, farklı amino asit dizileri ve fonksiyonel özelliklere sahip farklı varyantları göstermektedir. İnsanlarda CTX-M-15 ve CTX-M-14 daha yaygın görülürken CTX-M-1 hayvanlarda daha baskındır.

Tablo 4. CTX-M enzimleri alt grupları[110, 121]

CTX-M gen grubu 1	CTX-M-1/3/10-12/15/22/23/28-30/32-34/36/37/42/52-55/57/58/60-62/66/68/69/71/72/79/80/82/88/96/101/107-109/114/116/117/133/
CTX-M gen grubu 2	CTX-M-2/4-7/20/31/43/44/56/59/74/75/92/97/124/131 CTX-M-5/76/77/95/124/KLUA-1-6-7/8-12
CTX-M gen grubu 8	CTX-M-8/40/63, KLUG-1
CTX-M gen grubu 9	CTX-M-9/13/14/16-19/21/24/27/38/46-51/65/67/81/83/87/90/93/98/99/102/104-106/110-113/121/122/126/134/KLUG-1-4
CTX-M gen grubu 25	CTX-M-25/26/39/41/78/89/91/94/100
CTX-M gen grubu KLUC	KLUC-1, KLUC2-4

2.7.1.4.2.2.1.4.GES GSBL'ler

Nadir görülen GSBL'ler arasında en sık karşılaşılan GES tipi GSBL'lerdir. İlk olarak *Enterobacteriales* türlerinde bildirilmiş olmasına rağmen yaygın olarak *P. auriginosa* ve *Acinetobacter baumannii* izolatlarında bulunmaktadır. GES-1 ilk olarak 1998 yılında Fransa'da *K.pneumoniae* izolatında tanımlanmıştır.[119]. GES-1 klasik klavulonat ile inhibe olan Ambler sınıf A GSBL'lere benzer bir hidroliz profiline sahiptir. GES-1 aztreonamı hidrolize etmez. GES-2 karbapenemleri de hidroliz edebilir ve β laktamaz inhibitörlerine karşı daha az duyarlıdır. GES-9 ise karbapenemleri hidroliz edemezken, monobaktamlara karşı etkilidir.[117, 118]

2.7.1.4.2.2.1.5.PER GSBL'ler

PER-1 ilk olarak 1993 yılında Fransa'da hastaneye yatırılan bir Türk hastanın *P. auriginosa* izolatında saptanmıştır. Bu enzim penisilinler,sefotaksim,seftazidim ve aztreonama direnç kazandırırken, sefamisin ve karbapenemleri etkilemez. PER-1 üreten suşlarda seftalozan-tazobaktam ve seftazidim-avibaktam direnci bildirilmektedir.[122]. PER-1 ve PER-2 bu ailenin en yaygın üyeleridir. Bu enzimler ek olarak *A.baumannii*,*Aeromonas spp.* ve çeşitli *Enterobacteriales* üyelerinde de görülmektedir.[119]. PER-1 gibi PER benzeri enzimlerin sefiderekol direnci ile ilişkili olduğu bildirilmiştir. PER enzimleri en sık Türkiye ve Akdeniz ülkelerinde görülmektedir.[119].

2.7.1.4.2.2.1.6.VEB GSBL'ler

VEB-1 ilk olarak 1996 yılında Vietnamlı bir bebeğin *E. coli* izolatında bildirilmiştir. Tipik bir GSBL fenotipine sahiptir. VEB varyantları *Enterobacterales* üyeleri, *Vibrio spp.*, *Achromobacter xylosoxidans*, *P.auriginosa* ve *A.baumannii* gibi çeşitli gram negatif bakterilerde bildirilmiştir.[119]

2.7.1.4.2.2.1.7.Grup 2be'de yer alan diğer GSBL'ler

Grup 2be'de yer alan ve klinik açıdan önemli diğer GSBL tipleri BES, BEL, SFO ve TLA gibi enzimlerdir. Bazıları nadiren tanımlanmakta veya çok sınırlı yayılım göstermektedir. Bazıları ise yerel olarak yayılmakta ve küresel çapta giderek daha sık izole edilmektedir.[114].

2.7.1.4.3.Grup 2br,2f ve 2c β Laktamazlar

2.7.1.4.3.1. Grup 2br

2br'deki r harfi klavulanik asit ve sulbaktama azalmış(reduced) bağlanmayı ifade etmektedir. TEM-1 ve TEM-2 enzimlerinin bir-iki aminoasit değişikliği ile ortaya çıkmışlardır ve inhibitör dirençli TEM β laktamazlar (IRT) olarak isimlendirilmişlerdir. Bu gruptaki enzimler 2b kategorisinde ele alınmakla beraber GSBL aktivitesine sahip değildir. TEM ve SHV türevi oldukları için bu grupta yer almaktadırlar.[123]. IRT üreten izolatlar penisilinleri hidrolize ederler. Dar spektrumlu sefalosporinlere karşı etkinlikleri klasik TEM enzimlerine göre daha azdır. Geniş spektrumlu sefalosporinleri inhibe etmezler. Sefalosporinlere, sefamisinlere ve karbapenemlere duyarlıdır. Ampisilin-sulbaktama dirençli ve amoksisilin-klavulonat'a orta derecede duyarlı veya dirençli olup çoğu zaman piperasilin tazobaktam ve avibaktam gibi yeni inhibitörlere duyarlı kalmaktadır.[123]. Başlangıçta *E.coli*'de bulunan IRT enzimleri *Klebsiella spp.*, *Enterobacter cloacae*, *Proteus mirabilis*, *Citrobacter freundii* ve *Shigella sonnei*'de de bildirilmiştir.[123].

2.7.1.4.3.2. Grup 2c

2c içerisindeki c harfi karbenisilini inaktive ettiği ifade etmektedir. Bu β laktamazlar, karbenisilin veya tikarsilini benzilpenisilinden en az %60 daha hızlı hidrolize

edebilmektedir. Genellikle klavulanik asit veya tazobaktam tarafından kolayca inhibe edilirler. PSE-1, PSE-3, PSE-4 β laktamazları *Aeromonas hydrophilia*'nın AER-1 enzimi *Moraxella catarrhalis*'in, BRO-1 ve BRO-2 enzimleri *Vibrio cholera*' ya aittir. SAR-1 enzimi de bu gruptadır.[124].

2c'nin bir alt sınıfı 2ce yakın zamanda genişlemiş spektrumlu bir karbenisilinaz olarak tanımlanan ve karbenisilin, sefepim ve sefpiromu hidrolize eden bir RGT-4(CARB-10) enzimini içerir. Genişlemiş spektrumlu sefalosporinleri hidrolize eder ve klavulanik asit veya tazobaktam tarafından inhibe edilir, ancak aztreonam tarafından inhibe edilmez[109].

2.7.1.4.3.3. Grup 2f

Bu sınıftaki β laktamazlar Karbapenemaz aktivitesi göstermektedir. Sınıf A karbapenemazlar, serin temelli bir hidrolitik mekanizmaya sahip olup, penisilinleri, sefalosporinleri, monobaktamları ve karbapenemleri hidrolize etme yeteneğine sahiptirler. Tazobaktam tarafından daha iyi inhibe edilirler. Bu grup içinde kromozomal olarak kodlanan SME-NMC-A, IMI, SFC-1, BIC-1, PenA, FPH-1, SHV-38, plazmid aracılı kodlanan KPC, GES, FRI-1 veya her ikisiyle kodlanan IMI enzimleri bulunmaktadır.

2.7.1.4.4. Plazmid Kaynaklı Kazanılmış Sınıf A Karbapenemazlar

2.7.1.4.4.1. *Klebsiella pneumoniae* Karbapenemaz (KPC)

KPC enzimleri A grubu serin karbapenemazların yaygın ve en önemli tipidir. İlk olarak 1996 yılında Kuzey Amerika'nın Kuzey Carolina eyaletinde bir hastadan izole edilen *K. pneumoniae* suşunda tanımlanmıştır[125]. Kısa süre içinde dünyanın birçok bölgesine yayılmış ve küresel olarak saptanan en yaygın Karbapenemaz haline gelmiş, karbapenemaz üreten Enterobacterales üyelerinin neden olduğu büyük salgınlara yol açmıştır.

KPC β laktamazların en sık görülen iki varyantı KPC-2 ve KPC-3'tür. KPC'nin yayılması ve salgınlarında sekans tipi 258 (ST258) suşu büyük rol oynamıştır. Küresel yayılım büyük ölçüde *blaKPC* genlerinin Tn3 tipi transpozon Tn4401'deki konumu ile

açıklanmaktadır.[95, 126, 127]. İlk bildiriminden bu yana başta *K. pneumoniae* olmak üzere *E. coli*, *C.freundii*, *Serratia marcescens*, *Enterobacter spp.*, *Salmonella spp.* Gibi *Enterobacterales* ailesi üyelerinde olmak üzere çeşitli nonfermantatif bakterilerde de saptanmıştır.[95, 126, 127]. Genellikle KPC enzimi üreten suşlar birçok GSBL türü (TEM, SHV, CTX-M) dahil olmak üzere diğer β laktamazları da üretir. Bu nedenle hem penisilinlere hem de sefalosporinlere karşı yüksek direnç gösterirken, karbapenemlere karşı sadece düşük ila orta düzeyde direnç gösterebilir. Klavulanik asit ve tazobaktam gibi β laktamaz inhibitörlerinin bu enzimlere karşı inhibitör etkisi diğer A sınıfı enzimlere göre daha düşüktür. Avibaktam, relebaktam ve vaborbaktam gibi yeni β laktamaz inhibitörleri tarafından iyi bir şekilde inhibe edilirler.

2.7.1.4.4.2.Yeni Gine Genişlemiş Spektrumlu β Laktamaz Enzimleri(GES)

İlk olarak 2000 yılında Fransız Gine'sinde bir *K. pneumoniae* klinik izolatında saptanmış daha sonra *P. auriginosa*, *A.baumannii*, *E. coli*, *E.cloacae* gibi diğer gram negatif bakteri izolatlarında bildirilmiştir[125, 128]. İlk bulunan GES-1 tipi enzimler penisilinleri ve geniş spektrumlu sefalosporinleri hidrolize edip karbapenemleri etmez ve klavulanik asit ile inhibe olurlar. Genişlemiş spektrumlu sefalosporin olan sefotaksime karşı düşük aktiviteye sahiptir ve monobaktamları hidroliz etmezler.[129]. Zaman içinde bazı GES enzimleri mutasyona uğrayıp karbapenemaz özelliği kazanmıştır. GES-2,4,5 ve 6 karbapenemaz aktivitesine sahip olduğu belirlenen GES enzimleridir.

2.7.1.4.4.3.Doğal ve Kromozomal Olarak Kodlanan A sınıfı Karbapenemazlar

Bu grupta *Serratia marcescens* enzim (SME), Non metallo-karbapenemaz-A(NMC-A), İmipenem hidrolize eden β laktamaz enzimleri-1 (IMI-1) yer alır. Penisilinler, bazı sefalosporinler, aztreonam ve karbapenemler dahil olmak üzere geniş bir substrat profilini hidroliz ederler. Karbapenem direnci belirgindir ancak genellikle genişlemiş spektrumlu sefalosporinlere duyarlıdır. Klavulanik asit ile inhibe olurlar.[124, 130].

2.7.1.5.Grup B β Laktamazlar: Metallo β Laktamazlar

Ambler sınıflamasında A, C ve D'ye ait enzimler aktif bölgesinde bir serin içerirken, sınıf B enzimleri bir veya iki çinko iyonu içerir bu nedenle metallo β laktamaz (MBL) olarak adlandırılırlar. Bush-Jakoby sınıflandırmasında ise 3. Sınıfta yer alırlar. Penisilinleri, sefalosporinleri ve karbapenemleri; klavulanik asit, sülbaktam, tazobaktam, gibi β

laktamaz inhibitörlerini hidrolize ederler. Hidrolizden sadece monobaktamlar etkilenmez. MBL'ler kendi içlerinde aminoasit dizilimi ve substrat profillerine göre üç alt sınıfa (B1,B2,B3) ayrılırlar.[96].

2.7.1.5.1.B1 Alt Sınıfı

Alt sınıf B1 plazmid kodlu MBL'lerin çoğunu içerir. Bunlar arasında dünya çapında en sık izole edilen MBL'ler plazmid ilişkili β laktamazların NDM, VIM ve IMP ailelerine aittir.

İlk transfer edilebilir MBL olan IMP-1 1988'de Japonya'da *P. auriginosa* klinik izolatında tanımlanmış olup, 1991'de literatüre bildirilmiştir. Enzim daha sonra *Serratia marcescens* ve diğer *Enterobacterales* izolatlarında da tespit edilmiştir.

VIM-1 1999 yılında İtalya Verona'dan *P. auriginosa*'nın klinik izolatında tanımlanmıştır. En sık karşılaşılanları VIM-1 ve VIM-2'dir. VIM-1 yaygın olarak *Enterobacterales*'te bulunurken VIM-2 *Pseudomonas auriginosa* izolatlarında bulunur.

Yeni Delhi Metallo- β laktamaz (NDM) 2009 yılında bakteriyel enfeksiyonlar nedeniyle Hindistan'da çok sayıda hastaneye yatış yaptıktan sonra evine yollanan İsveçli bir hastadan üretilen *K. pneumoniae* ve *E. coli* izolatlarında tanımlanmıştır. Bu enzimi üreten klinik izolatların çoğu *Enterobacterales*, *P. auriginosa* ve *A. baumannii*'dir. NDM gram negatif bakterilerde dış zara tutunan bir lipoproteindir. Diğer tüm MBL'ler çözünür periplazmik proteinlerdir. Zara tutunması enfeksiyon bölgesinde büyük miktarda şelatlayıcı protein kalprotektin salınmasına bu da çinkonun azalmasına ve NDM'nin stabilitesinin artmasına neden olur. Bu durum enzimin dış membran veziküllerinde salgılanmasını kolaylaştırır. NDM içeren dış membran vezikülleri komşu bakteri popülasyonlarını β laktamların etkisinden koruyabilir. Bu da hastanelerde NDM pozitif suşların hastanede yayılmasına katkıda bulunabilir. bla_{NDM} taşıyan en yaygın plazmid türünün IncX3'tür ve bu da sadece *Enterobacterales*'te saptanmıştır.

2.7.1.5.2.B2 Alt Sınıfı

Bir metal iyonunun Zn^{+2} (DCH) bölgesine bağlanmasıyla aktif olan karbapenemazlardır ve yüksek bağlanma afinitesine sahiptirler. Tümü kromozomal olarak kodlanır ve çevresel bakterilerdir. Klinik açıdan şu an için önemsizdirler.

2.7.1.5.3.B3 Alt Sınıfı

L1, GOB, BJP, FEZ-1, CAU-1, Mlb1b, THIN-B, POM, CAR-1, SPR-1, PEDO-1 ve PEDO-2, EAM-1, ECM-1, EFM-1, ELM-1, EVM-1 enzimlerinden oluşur. B1 MBL'lere benzer şekilde geniş substrat spektrumuna sahiptir ve penisilinleri, sefalosporinleri ve karbapenemleri parçalayabilir. Bazı istisnalar şöyledir; CAR-1 sefalosporinleri ve penisilinleri parçalar ancak karbapenemleri parçalayamaz LRA-8 penisilinleri ve karbapenemleri parçalar sefuroksim ve sefalotini parçalayamaz, SPR-1 ise yalnızca penisilinleri parçalar.

2.7.1.6.Grup C β Laktamazlar/AmpC β Laktamazlar

AmpC β laktamazlar başta Enterobacterales üyeleri olmak üzere çeşitli gram negatif bakteri türleri tarafından üretilen ve klinik tedavi açısından önemli olan enzimlerdir.[86, 131]. Sefalotin, sefazolin, sefoksitinin yanı sıra penisilinlerin çoğuna ve β laktam- β laktamaz inhibitörü kombinasyonlarında direnç yol açabilen bu enzimler genellikle kromozomal kodlanır. Kromozomal AmpC β laktamazlar indüklenebilir özelliktedir ancak mutasyonlar nedeniyle sürekli yüksek düzeyde de üretimleri söz konusu olabilir. Bu aşırı üretim sefotaksim, seftriakson ve seftazidim gibi genişlemiş spektrumlu sefalosporinlere karşı direnç neden olur.[116, 132].

Ambler sınıflamasında sınıf C'de Bush-Jakoby-Mederios fonksiyonel sınıflandırmasında ise Grup 1 içinde sınıflandırılırlar.[86]. Hidroliz özelliklerine göre sefamisinler dahil sefalosporinleri penisilin G'ye kıyasla daha yüksek oranda parçaladıkları için sefalosporinazlar olarak da bilinmektedirler. Ayrıca bu grup klavulanik asit, sülbaktam, tazobaktam gibi β laktamaz inhibitörlerine dayanıklıdır. Yeni inhibitörler olan avibaktami relebaktam ve boronik asit türevleri bu enzimleri inhibe etmektedir. [132]. Laboratuvarlarda boronik asit, kloksasilin ve oksasilin de AmpC inhibitörleri olarak kullanılmaktadır.[131, 133]. Dördüncü kuşak sefalosporinlerin (sefepim gibi) hidrolizi genellikle düşüktür.

AmpC β laktamaz aracılı direnç 3 şekilde ortaya çıkabilir;

1. β laktam varlığında ortaya çıkabilen indüklenebilir direnç

2.AmpC düzenleyici genlerdeki mutasyonlara bağı sürekli yüksek salınım (stabil derepresyon) sonucu görülen direnç

3.Plazmid kökenli AmpC genlerinin varlığı ile ilişkili direnç

Bunlar arasında en önemlileri: kromozomal AmpC salınımının uyarılmasına bağı olarak izolatın tedavi başlanırken duyarlı olduğı β laktama dirençli hale gelmesi ve yayılabilir özellikte olduğı için de plazmid kökenli AmpC enzimlerinin neden olduğı kazanılmış dirençtir.

Hem kromozomal hem de plazmid kökenli AmpC enzimlerde aminoasit insersiyon, delesyon ve değışimleri, seftazidim ve diğ er oksimino β laktamlara karşı katalitik etkinliğı arttırmıştır. Bu enzim varyantları genişlemiş spektrumlu AmpC sefalosporinazlar (ESAC) olarak adlandırılmaktadır.[131, 134].

AmpC etkisi antibiyotiklerin dış membrandan geçişini azaltan porin mutasyonları varlığında artmaktadır. Bu durumda bazı AmpC enzimlerinin karbapenemlerdeki zayıf etkisi artarak azalmış duyarlılık ve dirence neden olur. Bu etki en fazla ertapenemde görölmektedir.[134, 135]. Bu bilgilere göre AmpC enzimleri GSBL'lerden şu özellikleri ile ayrılırlar: β laktam yapılı inhibitörlerden etkilenmemeleri, sefepime yüksek derecede duyarlı olmaları, sefamisin direnci.

Kromozomal AmpC genleri *E. cloacae*, *K. aerogenes*, *C.freundii*, *Serratia marcescens*, *Providencia stuartii*, *P. auriginosa*, *Hafnia alvei*, *M. morganii*, *Acinetobacter* ve *Aeromonas* türlerinde bulunur.

Yapılan çalışmalarda özellikle *Enterobacter* enfeksiyonlarında tek başına 3.kuşak sefalosporin kullanımı ile kısa sürede izolatların yaklaşık %20'sinin bu antibiyotiklere direnç kazandığı gösterilmiştir. Komplike olmayan idrar yolu enfeksiyonları dışında *Enterobacter* enfeksiyonlarında genişlemiş spektrumlu sefalosporinlerle tedavi önerilmektedir.[136, 137].

Plazmid kökenli AmpC β laktamazlar(pAmpC) gram negatif bakterilerin kromozomal AmpC genlerinden köken almaktadırlar. Bunlar arasında en yaygın olan CMY-2benzeri enzimler olmakla birlikte indüklenebilir nitelikte olan DHA enzimleri de özellikle Avrupa

ülkelerinde yaygındır. Plazmid kökenli AmpC enzimleri 5 filogenetik gruba ayrılmaktadır[86, 138].

1.*Enterobacter* grubu (EBC enzimleri): MIR ve ACT aileleri

2.*Citrobacter freundii* grubu (CIT enzimleri): CMY-2 benzeri, BIL-1, LAT, CFE aileleri

3.*Morganella morganii* grubu: DHA β laktamazları

4.*Hafnia alvei* grubu: ACC enzimleri

5.*Aeromonas* grubu: CMY-1 benzeri, FOX, MOX enzimleri

DHA enzimleri üretildiğinde sefoksitin direnci olduğu halde 3. Kuşak sefalosporinlere direnç gözlenmeyebilir. CMY-13 ve ACT-1 için de benzer özellik bildirilmiştir.[138].

ACC-1 enzimi varlığında ise istisna olarak sefoksitin direnci görülmez.[116, 133].

2.7.1.7. Grup D β Laktamazlar

D sınıfında yer alan β laktamazlar A ve C sınıfında yer alanlar gibi serin hidrolazlardır. Az sayıdaki istisna dışında tazobaktam, klavulanik asit, sülbaktam gibi inhibitörlerden etkilenmezler. Avibaktam ve vaborbaktam gibi yeni inhibitörlere duyarlıdırlar.[94, 96, 139]. D grubu β laktamazlar hem gram negatif hem gram pozitif bakteriler tarafından üretilir. Klinik önemi olan D sınıfı enzimler gram negatif bakteriler, özellikle *Acinetobacter baumannii* tarafından üretilen ve plazmid aracılı kodlanan OXA ailesi β laktamazlardan köken alırlar.

2.7.1.7.1. OXA β Laktamazlar

OXA β laktamazlar işlevlerine göre de sınıflandırılırlar;

1. Dar Spektrumlu OXA β Laktamazlar: İşlevsel sınıflandırmada 2d grubunda yer alırlar. Kloksasilin ve oksasilini hidrolize ederler. Klavulanik asit, tazobaktam ve sulbaktamla inhibe olmazlar. OXA-1 benzeri (OXA1,4,47,796), OXA-2 benzeri (OXA-2,3,21), OXA-10 benzeri (OXA-10,7,13,56,101), diğerleri (OXA-5,9,12,20,22,42,46, 50 vb.)'ni içerir.

2. Geniş Spektrumlu OXA β Laktamazlar: İşlevsel sınıflandırmada 2de grubunda yer alırlar. Oksasilin, kloksasilin, karbenisilin, geniş spektrumlu sefalosporin ve aztreonam hidrolizi yaparlar. İlk kez 1991'de Türkiye'de seftazidime dirençli *P. auriginosa* izolatında

OXA-11 olarak saptanmıştır[105]. OXA-10 benzeri (OXA-11,13,14,16,17,19,28,35,142,145,147,183,240,836...), OXA-2 benzeri (OXA-15,32,34,36,53,141,161,210,226), diğerleri (OXA-18,45,163) 'ni içerir.

3.Karbapenem Hidrolize Eden OXA β Laktamazlar: İşlevsel sınıflandırmada 2df grubunda yer alırlar. Oksasilin, kloksasilin, karbenisilin ve karbapenem hidrolizi yaparlar. Geniş spektrumlu sefalosporinleri zayıf hidroliz ederler veya hiç hidroliz edemezler. OXA-23 *Acinetobacter baumannii*'de karbapenem direncine yol açtığı gösterilen ilk OXA karbapenemazdır. OXA-23,24,51 ve 58 *A.baumannii*'de karbapenem direnci ile ilişkili karbapenemazlardır. Global olarak en yaygını OXA-23'tür.[139-141]. OXA23,40,51,58,48 vb. 'i içerir.

4.OXA-48 ve benzeri β Laktamazlar: İşlevsel sınıflandırmada 2def grubunda yer alırlar. *Enterobacterales*'te yaygın olarak bulunurlar. Oksasilin, kloksasilin, karbenisilin ve karbapenem ve 3.kuşak sefalosporin hidrolizi yaparlar. OXA-48 üreten *K. pneumoniae* izolatu ilk kez 2001'de Türkiye'de izole edilmiş olup halen ülkemizde *K.pneumoniae*' de en sık rastlanan karbapenemazdır.[142, 143]. OXA-48 benzeri, OXA-163,247'yi içerir.

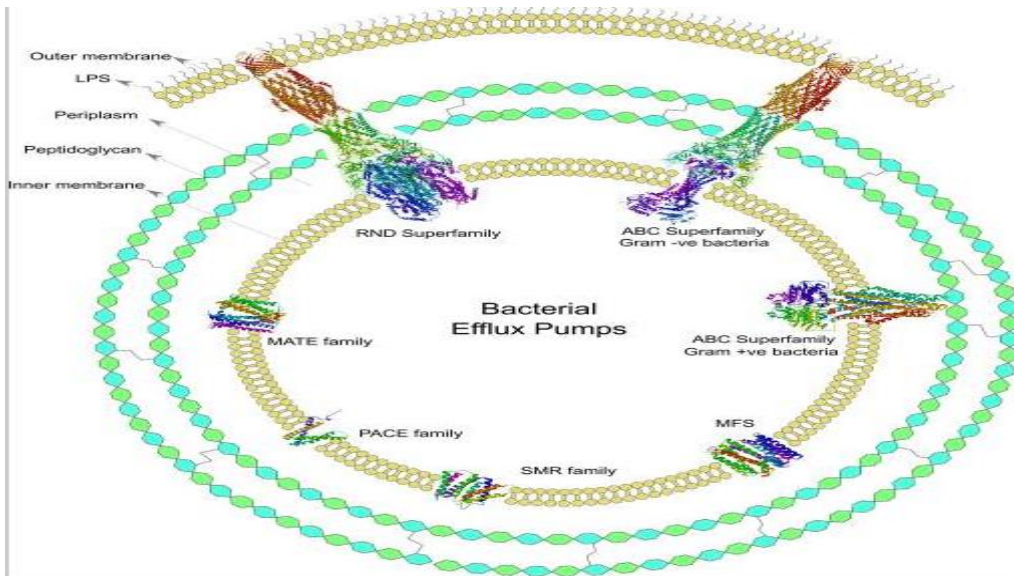
2.7.2. β Laktamlara β Laktamaz Dışı Direnç Mekanizmaları

- Penisilin Bağlayan Proteinler: PBP'lere bağlı direnç daha çok gram pozitif bakterilerde görülmektedir. Klinik olarak az görülse ve önemi daha az olsa da bazı çalışmalar gram negatif bakterilerde PBP değişimlerinin β laktam direncine katkıda bulunduğunu göstermiştir.
- Permeabiliteye Bağlı Direnç: Gram negatif bakterilerde bulunan dış membran β laktamlara karşı geçirgen değildir ve bunlar hücreye porin adı verilen protein kanallarından girebilirler. Porin kaybı veya geçirgenlik yolunu değiştiren mutasyonlar β laktam antibiyotiklerin hücre içine girişini azaltarak direnç gelişimine sebep olur. Aktif atım pompaları da çeşitli bileşenleri dışarı atma yetenekleri nedeniyle bir bakteriyi birçok antibiyotiğe dirençli hale getirmede önemli rol oynar[144].B laktamlar, tetrasiklinler, kloramfenikol, florokinolonlar gram negatif bakterilerde hücreye girişte dış membranda bulunan porin kanallarından geçerler. Gram negatif bakterilerde aktivitelerine ve işlevsel yapılarına göre birçok porin tanımlanmıştır. Bu zamana kadar en iyi bilinen porinler *E.coli* izolatlarında tanımlanan *OmpF* ve *OmpC* 'dir. Porin ifadesindeki değişiklikler

genellikle düşük düzey dirence neden olmaktadır. Bununla birlikte buna ek olarak aktif atım pompaları veya enzimatik inaktivasyon gibi diğer mekanizmalar eşlik ettiğinde yüksek düzey direnç gelişebilir.[145-147]. Karbapenemlere dirençli *E.coli* izolatlarında *OmpC*'nin transkripsiyonu ve protein ifadesinin azaldığı saptanmıştır.[148]. *OmpF*'de meydana gelen mutasyonlar da porin kanal boyutunu daraltarak beta laktam duyarlılığında azalmaya neden olmaktadır.[149].

- Aktif Atım Pompalarına Bağlı β Laktam Direnci: Aktif atım pompaları antibiyotikler de dahil olmak üzere birçok molekülün hücre dışına atılmasında rol oynayan bakteriyel transport proteinleridir. Antibiyotik direncine ek olarak virülans ve biyofilm oluşumu gibi patojenitede de önemli rol oynarlar. Tek bir substrata yada geniş substrat özgüllüğüne sahip olabilirler. Kromozomal veya plazmid, taranspozon kökenli kodlanabilirler. Aktif atım pompalarını düzenleyen genlerdeki mutasyonlar bu pompaların aşırı ifadesine neden olup direnç gelişimine katkı sağlar.[150, 151]. 6 tür aktif atım pompa ailesi tanımlanmıştır:[152].

-ATP binding cassette(ABC),-Major facilitator süper ailesi(MFS),-Multidrug and toxic compaund extrusion süper ailesi(MATE),-Resistance-nodulation-cell-division süper ailesi(RND), Small multidrug resistance süper ailesi(SMR), Proteobacterial antimicrobial compaund efflux(PACE) ailesi



Şekil 4. Aktif Atım Pompa Aileleri

Gram negatif bakterilerde atım pompaları çift katmanlı hücre membranı nedeniyle üç bileşenli sistemler şeklindedir. İç membran proteini, dış membran proteini ve membran füzyon proteininden oluşurlar. Bunlar geniş bir substrat profiline sahiptir ve yüksek düzey direnç oluşturmada daha etkilidirler. Gram negatif bakterilerde en yaygın görülen türü RND ailesine (acrAB-TolC,MexAB-OprM) aittir. acrAB-TolC β laktam ve kinolonlar başta olmak üzere birçok sınıf antibiyotiğe dirençten sorumludur. Yapılan çalışmalarda ÇİD *K. pneumoniae* izolatlarında. acrAB-TolC'nin karbapenemler dahil β laktam direncinde önemli rol oynadığı österilmiştir.[153].

3. MATERİYAL ve METOD

3.1.Bakteri İzolatlarının Seçimi, İzolatların Saklanması, Canlandırılması ve Tanımlanması

Çalışmaya Nisan 2023-Eylül 2025 tarihleri arasında Erciyes Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi Merkez Bakteriyoloji Laboratuvarından klinik örneklerden izole edilen *Enterobacter*, *Citrobacter*, *Serratia*, *Morganella*, *Providencia* ve *Hafnia* türleri dahil edilmiştir. Tekrarların önlenmesi için her hastaya ait bir izolat çalışmaya alınmıştır. İzolatlar tekrar çalışılınca dek, stok besiyeri (%10 gliserol içeren Skim milk besiyeri) içerisinde -80°C’de saklanmıştır. Canlandırma işlemi, stoklar açılıp oda sıcaklığında çözüldükten sonra, 50 µl bakteri süspansiyonu tek koloni ekim yöntemiyle %5 koyun kanlı agar (RTA, Türkiye) /Mac conkey agara (Oxoid, Birleşik Krallık) ekilerek ve 35-37 °C’de etüvde 24 saat inkübasyona bırakılarak yapılmıştır. Üreyen mikroorganizma kolonilerinden MALDI-TOF MS (bioMérieux, Fransa) ile bakteri tanımlamaları doğrulanmıştır.

3.2.Antibiyotik Duyarlılık Testleri

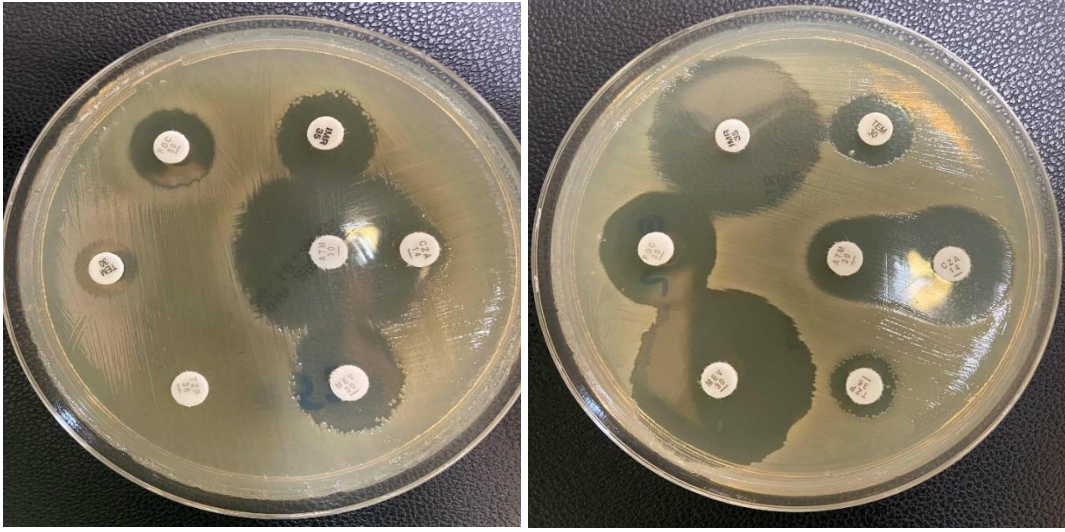
3.2.1. Kirby-Bauer Disk Difüzyon Testi

Çalışmaya dahil edilen izolatların otomatize sistemlerle elde edilen antibiyotik duyarlılık sonuçlarını doğrulamak ve yeni nesil antibiyotiklere karşı duyarlılık profillerini belirlemek amacıyla, aşağıda belirtilen antibiyotik diskleri kullanılarak Mueller-Hinton

Agar (MHA; Oxoid, Birleşik Krallık) besiyerinde disk difüzyon testi uygulanmıştır. Test prosedürü ve sonuçların yorumlanması, 'The European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing' (EUCAST) Clinical Breakpoints- Bacteria (Versiyon 16.0) kılavuzu önerileri doğrultusunda gerçekleştirilmiştir. Kalite kontrol suşu olarak *Escherichia coli* ATCC 25922 kullanılmıştır. Test Edilen Antibiyotikler Tablo 5'te verilmiştir.

Tablo 5. Disk Difüzyon Yöntemi ile Test Edilen Antibiyotikler

Antibiyotik Adı	Kısaltma	Miktar (µg)	Üretici / Menşei
Amoksisilin-klavulanik asit	AMC	30	Oxoid, Birleşik Krallık
Seftriakson	CRO	30	Oxoid, Birleşik Krallık
Sefotaksim	CTX	5	Oxoid, Birleşik Krallık
Seftazidim	CAZ	30	Oxoid, Birleşik Krallık
Sefepim	FEP	30	Oxoid, Birleşik Krallık
Sefoksitin	FOX	30	Oxoid, Birleşik Krallık
Piperasilin-tazobaktam	TZP	110(100/10)	Oxoid, Birleşik Krallık
Ertapenem	ERT	10	Oxoid, Birleşik Krallık
Meropenem	MEM	10	Oxoid, Birleşik Krallık
Amikasin	AK	30	Oxoid, Birleşik Krallık
Gentamisin	GN	10	Oxoid, Birleşik Krallık
Siprofloksasin	CIP	5	Oxoid, Birleşik Krallık
Aztreonam	ATM	30	Oxoid, Birleşik Krallık
Sefiderekol	FDC	30	Oxoid, Birleşik Krallık
İmipenem-relebaktam	IMR	35(10/25)	MastDiscs, Birleşik Krallık
Meropenem-vaborbaktam	MEV	30(20/10)	Oxoid, Birleşik Krallık
Aztreonam-avibaktam	AZA	50(30/20)	Liofilchem, İtalya
Seftazidim-avibaktam	CZA	10/4	Oxoid, Birleşik Krallık



Şekil 5. Disk Difüzyon Testi

3.2.2.Sıvı Mikrodilüsyon Testi

3.2.2.1.Sarf Malzemeler ve Antibiyotik Tozları

Sarf malzeme listesi tablo 6’da antibiyotik tozları tablo 7’de verilmiştir.

Tablo 6. Sıvı Mikrodilüsyon Testinde Kullanılan Sarf Malzemeleri ve Cihazlar

Kullanılan Malzeme	Özellik
Steril distile su veya Serum Fizyolojik (SF)	Cam veya plastik tüp içerisinde
Toz Antimikrobiyal	Malzeme bilgi formu/prospektüs bilgisi ile birlikte
Kasyon Ayarlı Mueller-Hinton Sıvı Besiyeri (KA-MHB)	-
0,5 Mcfarland Standardı Veya Dansitometre	Bakteri süspansiyonu bulanıklık ayarı için
Eküvyon	Steril, tek kullanımlık
Mikroplak	Steril, 96 kuyucuklu, U tabanlı
Mikropipet Ve Steril Pipet Uçları	10-200 µl hacim aralığında
Mikropipet Ve Steril Pipet Uçları	200-1000 µl hacim aralığında
Çok Kanallı Mikropipet ve Steril Pipet Uçları	10-200 µl hacim aralığında (Opsiyonel)
İnkübatör	35±1 °C çalışma sıcaklığında

Tablo 7. Sıvı Mikrodilüsyon Testinde Kullanılan Antibiyotik Tozları

Antibiyotik Adı	Miktar (mg)	Üretici Firma ve Menşei
Ertapenem sodyum	10	Sigma-Aldrich, ABD
Meropenem	300	USP, İtalya
Seftazidim	500	Sigma-Aldrich, ABD
Avibaktam	50	Adooq Bioscience, Kanada
Aztreonam	200	Adooq Bioscience, Kanada

Sıvı mikrodilüsyon testi, EUCAST kılavuzu önerileri doğrultusunda, katyon ayarlı Mueller-Hinton sıvı besiyeri (KA-MHB) kullanılarak antibiyotiklerin iki katlı seri dilüsyonlarının hazırlanmasıyla gerçekleştirilmiştir. Bakteri süspansiyonları, son inokulum konsantrasyonu 5×10^5 CFU/ml olacak şekilde inoküle edilmiştir. Mikroplakların 35 ± 1 °C'de 18 ± 2 saat inkübe edilmesinin ardından, gözle görülür bakteri üremesini tamamen inhibe eden en düşük antibiyotik konsantrasyonu, Minimal İnhibitör Konsantrasyonu (MİK) olarak belirlenmiştir.

3.2.2.2. Mueller Hinton Broth (MHB) Hazırlanması:

Çalışmada kullanılacak sıvı besiyerinin hazırlanması için 1 litre distile suya 21 gram Mueller-Hinton Broth (MHB) tozu ilave edilmiştir.

Homojen bir dağılım elde etmek ve tozun tamamen çözünmesini sağlamak amacıyla solüsyon hafifçe ısıtılarak karıştırılmıştır. Ardından, hazırlanan besiyeri otoklavda 121 °C'de 15 dakika süreyle sterilize edilmiştir. Sterilizasyon işlemi tamamlanan besiyerleri, deney aşamasına kadar $+4$ °C'de saklanmıştır.

3.2.2.3. Antibiyotik Stok Solüsyonlarının Hazırlanması:

- Kullanılan antibiyotik tozları ve potensleri Tablo 5'te verilmiştir.

Tablo 8. Antibiyotik Tozları ve Potensleri

Antibiyotikler	Potens ($\mu\text{g}/\text{mg}$)
Ertapenem (Sigma-Aldrich, ABD)	900
Meropenem (Usp, İtalya)	867
Seftazidim (Sigma-Aldrich, ABD)	862
Aztreonam (Adooq Bioscience, Kanada)	980
Avibaktam (Adooq Bioscience, Kanada)	980

- Antibiyotiklerin stok solüsyonları aşağıdaki formüle göre hazırlanmıştır.

$$\text{Hacim(ml)} = \frac{\text{Ağırlık (mg)} \times \text{Potens (}\mu\text{g/mg)}}{\text{Konsantrasyon (}\mu\text{g/mL)}}$$

- Antibiyotiklerin stok solüsyonunun hazırlanmasında ve dilüsyonunda kullanılan çözücü ve sulandırıcılar Tablo 9’da verilmiştir.

Tablo 9. Antibiyotik Tozlarının Çözücü ve Sulandırıcıları

Antibiyotikler	Çözücü	Sulandırıcı
Ertapenem	Steril distile su	MHB
Meropenem	Steril distile su	MHB
Seftazidim	Steril distile su	MHB
Aztreonam	Steril distile su	MHB
Avibaktam	Steril distile su	MHB

- Antibiyotik stok solüsyonları; ertapenem 1280 $\mu\text{g/ml}$, meropenem 5120 $\mu\text{g/ml}$, seftazidim 2560 $\mu\text{g/ml}$, aztreonam 2560 $\mu\text{g/ml}$ ve avibaktam 80 $\mu\text{g/ml}$ konsantrasyonunda olacak şekilde hazırlanmıştır. Hazırlanan bu solüsyonlar, sonraki kullanımlar için steril falkon tüplerine paylaştırılarak -20 °C’de dondurulmuştur. Saklanan antibiyotik çözeltileri, deney öncesinde oda sıcaklığında çözülmesinin ardından kullanılmıştır.
- Çalışma aşamasında stok solüsyonlar, Mueller-Hinton Broth (MHB) besiyeri ile 1/10 oranında seyreltilmiştir. Bu işlem sonucunda antibiyotiklerin konsantrasyonları; ertapenem için 128 $\mu\text{g/ml}$, meropenem için 512 $\mu\text{g/ml}$, seftazidim için 256 $\mu\text{g/ml}$, aztreonam için 256 $\mu\text{g/ml}$ ve avibaktam için 8 $\mu\text{g/ml}$ olarak elde edilmiştir. Mikrodilüsyon plaklarında antibiyotiklerin nihai konsantrasyonları ertapenem için 32 $\mu\text{g/ml}$, meropenem için 128 $\mu\text{g/ml}$, seftazidim için 64 $\mu\text{g/ml}$, aztreonam için 64 $\mu\text{g/ml}$ ve avibaktam için 4 $\mu\text{g/ml}$ olarak elde edilmiştir.

3.2.2.4.Bakteri İnokulumu Hazırlanması:

- 24 saatlik inkübasyonun ardından Kanlı agar/Mac Conkey agarda üreyen taze koloniler kullanılarak 0,5 McFarland standart bulanıklığına sahip (2×10^8 CFU/ml) bakteri süspansiyonu hazırlanmıştır.

- Hazırlanan bu bakteri süspansiyonundan 100 µL alınarak 9,9 ml Serum Fizyolojik (SF) içerisine ilave edilmiş ve ara süspansiyon (2×10^6 CFU/ml) elde edilmiştir.
- Son aşamada, elde edilen ara süspansiyondan 0,5 ml alınarak 4,5 ml Mueller-Hinton Broth (MHB) içerisine eklenmiş ve böylece test için nihai inokulum yoğunluğu (2×10^5 CFU/ml) sağlanmıştır.

3.2.2.5. Testin Yapılışı

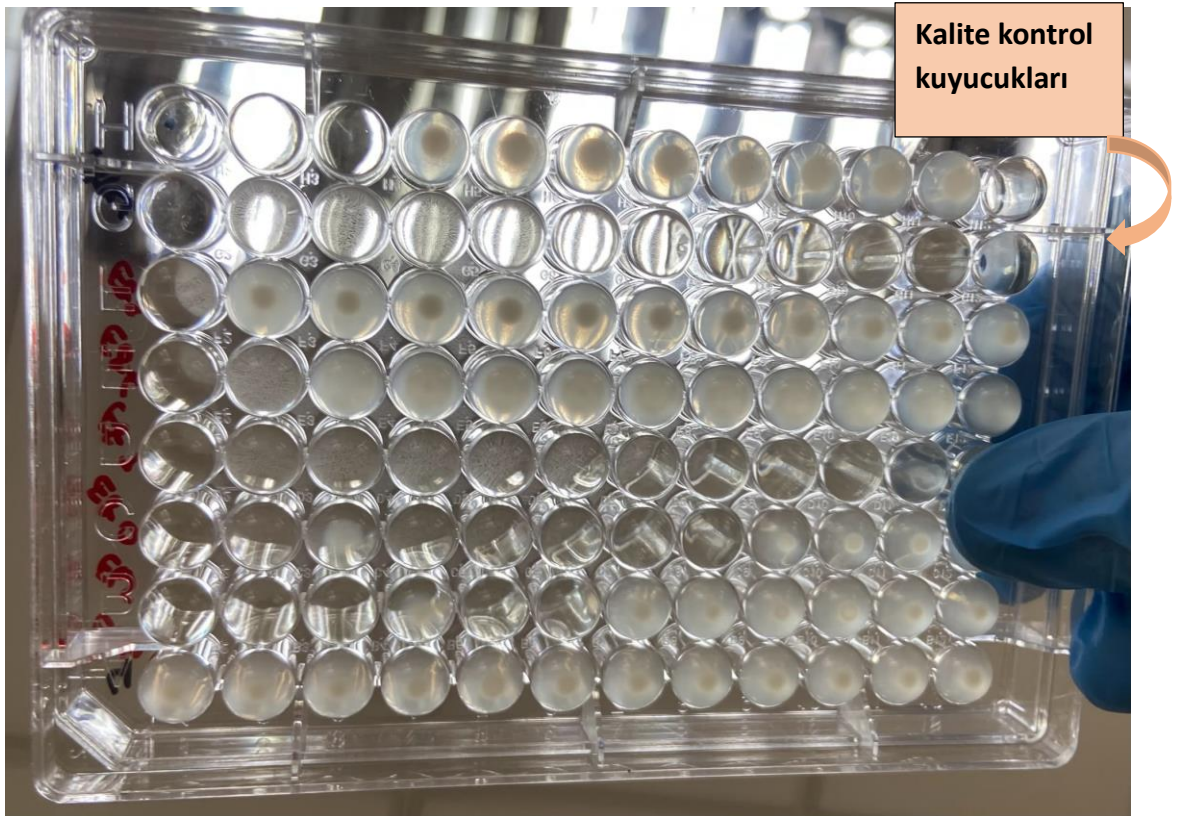
- Çalışmada steril, U tabanlı steril polistiren 96 kuyucuklu mikrolaklar kullanılmıştır.
- Başlangıç aşamasında tüm kuyucuklara 100 µL Mueller-Hinton Broth (MHB) besiyeri ilave edilmiştir. Aztreonam-avibaktam ve seftazidim-avibaktam MİK değerlendirmesi yapılacak serilerde ise MHB yerine, tüm kuyucuklara sabit konsantrasyonda (8 µg/mL) avibaktam içeren çözelti eklenmiştir.
- Mikrolakların ilk kuyucuklarına 100 µL antibiyotik stok solüsyonu ilave edilmiştir.
- Birinci kuyucuktan on birinci kuyucuğa kadar antibiyotiklerin iki katlı seri dilüsyonu gerçekleştirilmiştir.
- Hazırlanan bakteri inokulumundan, 12. kuyucuk hariç olmak üzere mikrolaktaki tüm kuyucuklara 100 µl dağıtılmıştır.
- Her bir izolat testinde 12. kuyucuk inokulum kontrolü (üreme kontrolü) olarak ayrılmıştır.

EUCAST kalite kontrol önerileri doğrultusunda,

- Çalışmada tüm antibiyotikler için kalite kontrol suşu olarak *E. coli* ATCC 25922 kullanılmıştır. Bu izolat için mikrolakta iki satırdan oluşan 24 kuyucukluk alan ayrılmıştır.
- Seftazidim-avibaktam ve aztreonam-avibaktam kombinasyonlarının test edildiği panellerde ise *E. coli* ATCC 25922 'ye ek olarak beta laktam beta laktamaz

kombinasyonlarının kalite kontrol suşu olarak *Klebsiella pneumoniae* ATCC 700603 kullanılmıştır.

- *E. coli* ATCC 25922 için 22, 23 ve 24. kuyucuklar besiyeri sterilite kontrolü için ayrılmıştır.
- Hazırlanan mikropipler 35 ± 1 °C'de 16-20 saat inkübasyona bırakılmıştır.
- İnkübasyon süresi sonunda, makroskobik üremenin gözlenmediği en düşük antibiyotik konsantrasyonu, ilgili antibiyotik için Minimal İnhibitör Konsantrasyon (MİK) değeri olarak kaydedilmiştir (Şekil 6).
- Antibiyotik duyarlılık testlerinin değerlendirilmesinde, kalite kontrol sınırları ve klinik sınır değerleri için sırasıyla "EUCAST QC Tables v.16.0" ve "EUCAST Clinical Breakpoints v.16.0" kılavuzları referans alınmıştır [154].



Şekil 6. Sıvı Mikrodilüsyon Testi

3.3. Fenotipik Yöntemler İle Direnç Mekanizmalarının Araştırılması

3.3.1. Genişlemiş Spektrumlu Beta-Laktamaz (GSBL) Varlığının Fenotipik Olarak Doğrulanması

3.3.1.1.Çift Disk Sinerji Testi (ÇDST)

Çift Disk Sinerji Testi (ÇDST), standart disk difüzyon yöntemi kurallarına uygun olarak Mueller-Hinton Agar (MHA) (Oxoid, Birleşik Krallık) üzerinde gerçekleştirilmiştir. Çalışmada; sefalosporin grubuna ait (sefotaksim, seftazidim, sefepim) antibiyotik diskleri, klavulanik asit içeren diskin (amoksisilin-klavulanik asit, AMC) çevresine yerleştirilmiştir. Testin güvenilirliği ve başarısı açısından diskler arası mesafe kritik öneme sahip olduğundan, 30 µg'lık sefalosporin diskleri ile merkezdeki AMC diski arasındaki optimal uzaklık, merkezden merkeze 20 mm olacak şekilde standardize edilmiştir. Hatalı disk yerleşiminin yalancı negatif veya belirsiz sonuçlara yol açabileceği göz önünde bulundurularak mesafenin korunmasına dikkat edilmiştir.

İnoküle edilen plaklar 35±1 °C'de 18-20 saat inkübe edildikten sonra inhibisyon zonları değerlendirilmiştir. Sefalosporin disklerinden herhangi birinin etrafında oluşan inhibisyon zonunun, klavulanik asit diskine bakan yönünde sinerjistik etkiyle genişlemesi veya iki disk arasında makroskobik üremenin olmadığı karakteristik “anahtar deliği” (keyhole) görünümünün oluşması durumunda ÇDST ‘pozitif’ olarak değerlendirilmiştir (Şekil 7). Buna karşın; sefalosporinler ile AMC diski arasında herhangi bir sinerjistik etkinin gözlenmediği, her bir diskin oluşturduğu dairesel inhibisyon zon çapının diğerinden net bir şekilde ayırlamadığı veya inhibisyon zonlarının birbiri içine geçmesi sebebiyle ilişkinin net olarak belirlenemediği durumlar test sonucu açısından 'negatif' olarak kabul edilmiştir."



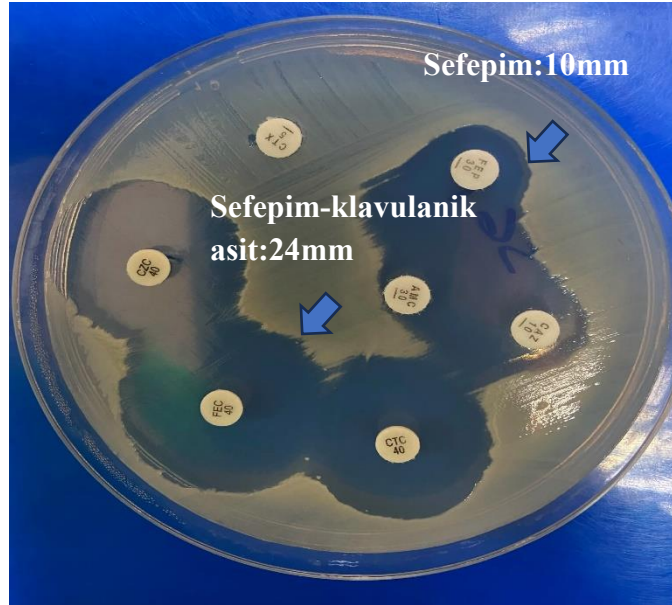
Şekil 7. ÇDST pozitifliği

3.3.1.2.GSBL Kombinasyon Disk Testi (KDT)

Çalışmada uygulanan doğrulama testinde, tek başına sefalosporin içeren diskler ve bu sefalosporinlerin klavulanik asitli kombinasyon diskleri kullanılmıştır (Tablo 10). Plaklarda oluşan inhibisyon zon çapları ölçülerek kıyaslanmış olup; klavulanik asit kombinasyonlu diskin etrafındaki inhibisyon zon çapının, yalnız sefalosporin içeren diskin zon çapından **≥ 5 mm daha büyük** ölçülmesi fenotipik olarak pozitif sonuç kabul edilmiştir (Şekil 8).

Tablo 10. Kombine Disk Testinde Kullanılan İnhibitörlü Antibiyotik Kombinasyonları

Kombinasyon Diski (Kısaltma)	Miktar (μ g)	Üretici / Menşei
Sefotaksim-klavulanik asit (CTC)	30/10	Bioanalyse, Türkiye
Seftazidim-klavulanik asit (CZC)	30/10	Bioanalyse, Türkiye
Sefepim-klavulanik asit (FEC)	30/10	Bioanalyse, Türkiye



Şekil 8. Kombinasyon Disk Testi

3.3.2. AmpC Beta Laktamaz Varlığının Fenotipik Olarak Doğrulanması

3.3.2.1. AmpC Saptama Kiti

Çalışmada fenotipik doğrulama amacıyla; içerisinde A, B ve C olmak üzere üç farklı disk kartuşu barındıran ticari kombinasyon kiti (MASTDİSCS Combi, Birleşik Krallık) kullanılmıştır. Kartuş içerikleri şu şekildedir:

Kartuş A: Sefpodoksim (10 µg) + AmpC indükleyicisi,

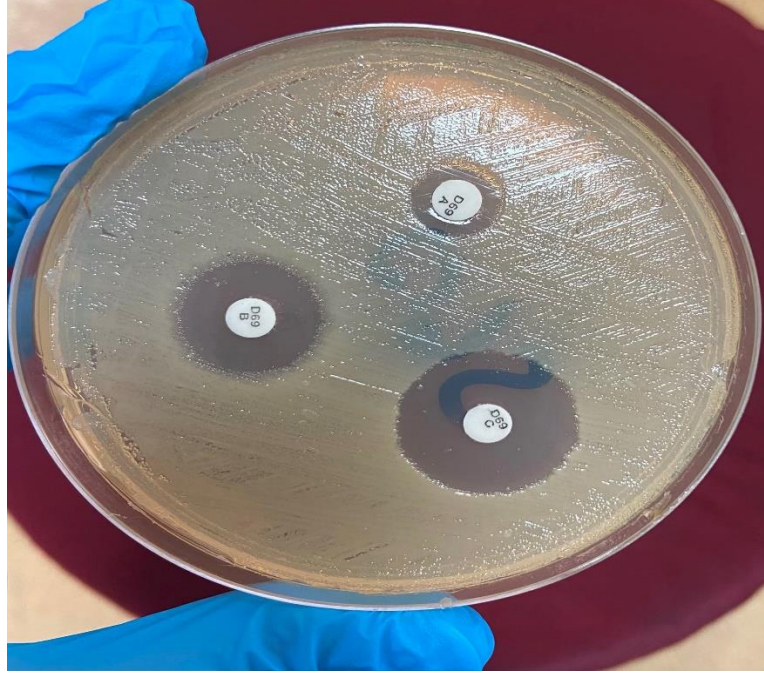
Kartuş B: Sefpodoksim (10 µg) + AmpC indükleyicisi + ESBL inhibitörü,

Kartuş C: Sefpodoksim (10 µg) + AmpC indükleyicisi + ESBL inhibitörü + AmpC inhibitörleri.

Test sonuçlarının değerlendirilmesinde disklerin oluşturduğu inhibisyon zon çapları ölçülmüş ve aşağıdaki kriterlere göre yorumlanmıştır.

- AmpC Negatif: Kartuş A diskinin oluşturduğu inhibisyon zon çapı, Kartuş B ve C disklerinin zon çapları ile karşılaştırılmıştır. Tüm disklerin etrafındaki zon çapları arasındaki farkın 3mm'den daha az olması (<3 mm) durumu, mikroorganizmanın AmpC üretimi açısından 'negatif' olduğunu göstermiştir.

- AmpC Pozitif: Kartuşlar arasındaki zon çapı farkları hesaplanırken; C diskinden A diski (C-A), C diskinden B diski (C-B) ve B diskinden A diski (B-A) zon çapı değerleri çıkarılmıştır. Hesaplama sonucunda hem C-A hem de C-B farkının > 5 mm olarak bulunması, ilgili izolatin AmpC üretimi açısından 'pozitif' olduğu şeklinde değerlendirilmiştir.



Şekil 9. AmpC Üretimi Pozitif Saptanan Test

3.3.3. Moleküler Yöntemler İle Direnç Genlerinin Araştırılması

Fenotipik testlerle 3.kuşak sefalosporin direnci bulunan suşlarda beta laktam grubu antibiyotiklere karşı direnç mekanizmaları moleküler olarak araştırılmıştır.

3.3.3.1.DNA İzolasyonu

Çalışmada, -80 °C'de %10 gliserollü skim milk besiyerinde muhafaza edilen bakteri stokları, Mac Conkey Agar ve Mueller-Hinton Agar (MHA) besiyerlerine ekilerek canlandırılmıştır. Elde edilen saf kültürlerden Monarch® Spin gDNA Extraction Kit (New England Biolabs, ABD) kullanılarak, üretici firmanın protokolü doğrultusunda genomik DNA (gDNA) izolasyonu gerçekleştirilmiştir. İzolasyon basamakları aşağıda belirtildiği şekilde uygulanmıştır:

1. Üreyen taze kolonilerden %0,85'lik serum fizyolojik (SF) içerisinde yaklaşık 6,6 McFarland bulanıklığında (2×10^9 bakteri hücresi/ml) bakteri süspansiyonu hazırlanmıştır.
2. Hazırlanan süspansiyondan 1 ml alınarak mikrosantrifüj tüpüne aktarılmış ve 12.000 g'de 1 dakika santrifüj edilerek süpernatant kısmı uzaklaştırılmıştır.
3. Elde edilen pellet, 100 µL Fosfat Tamponlu Tuz Çözeltisi (PBS; Phosphate Buffered Saline) içerisinde tekrar süspanse edilmiştir.
4. Karışıma 10 µL Proteinaz K ilave edilerek kısa bir süre vortekslenmiş; ardından 100 µl Doku Lizis Tamponu eklenerek homojen bir şekilde vortekslenmiştir.
5. Örnekler, belirli aralıklarla vortekslenmek suretiyle 56 °C'de 2 saat boyunca inkübe edilmiştir.
6. İnkübasyon sonrası tüplere 3 µL RNase A eklenmiş, kısa bir süre vortekslelendikten sonra 56 °C'de 10 dakika inkübasyona bırakılmıştır.
7. Karışıma 400 µL gDNA Bağlayıcı Tampon ilave edilmiş ve 1 dakika boyunca kısa aralıklarla (puls) vortekslenerek iyice karışması sağlanmıştır.
8. Elde edilen lizat/bağlayıcı tampon karışımı (~ 600 µL), üst kolon yüzeyine temas ettirilmeden, toplama tüpüne yerleştirilmiş olan gDNA Saflaştırma Kolonuna aktarılmıştır.
9. gDNA'nın membrana bağlanmasını sağlamak amacıyla önce 1.000g 'de 3 dakika, ardından membranın temizlenmesi için maksimum hızda (> 12.000 g) 1 dakika santrifüj işlemi uygulanmıştır.
10. Altta toplanan sıvı ve toplama tüpü uzaklaştırılmıştır. Saflaştırma kolonu yeni bir toplama tüpüne aktararak üzerine 500 µL gDNA Yıkama Tamponu eklenmiştir. Yıkama tamponunun kapak kısmına ulaşmasını sağlamak amacıyla tüp birkaç kez altüst edilmiş, ardından 12.000 g'de 1 dakika santrifüj edilerek süzüntü atılmıştır.

11. Kolon, toplama tüpüne tekrar yerleştirilmiş; üzerine yeniden 500 µL gDNA Yıkama Tamponu ilave edilerek 12.000 g'de 1 dakika santrifüj edilmiştir. İşlem sonunda toplama tüpü uzaklaştırılmıştır.
12. gDNA Saflaştırma Kolonu, DNase içermeyen 1,5 ml'lik steril bir mikrosantrifüj tüpüne yerleştirilmiştir. Kolon üzerine 60 °C'ye kadar önceden ısıtılmış olan 35–100 µL gDNA Elüsyon Tamponu eklenmiş ve oda sıcaklığında 1 dakika inkübe edilmiştir.
13. Son aşamada, gDNA'yı elüat olarak elde etmek için tüpler 12.000 g'de 1 dakika santrifüj edilmiştir. Elde edilen saflaştırılmış gDNA örnekleri, sonraki analizlerde kullanılmak üzere -20 °C'de muhafaza edilmiştir.

3.3.3.2. Beta Laktamaz Genlerinin Tespiti için Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PCR)

Polimeraz Zincir Reaksiyonu ile araştırılacak hedef gen bölgelerine özgü liyofilize haldeki primerler (BİOligo, Türkiye), kullanım öncesinde nükleaz içermeyen steril distile su (dH₂O) ile çözülerek uygun stok konsantrasyonlarına getirilmiştir.

Çalışmada kullanılan primer dizileri ve amplicon boyutları özellikleri Tablo 11'de sunulmuştur.

Tablo 11. Çalışmada Kullanılan Primer Dizileri ve Amplicon Boyutları

PRİMER GRUPLARI			
ESBL			
GEN	PRİMER BAZ DİZİSİ 5'-3'	AMPLİKO N BOYUTU (BP)	Referan s
<i>blaTEM</i>	F:CATTTCCGTGTCGCCCTTATTC	800bp	[155]
	R: GTTCATCCATAGTTGCCTGAC		
<i>blaSHV-1</i>	F: GCCGCTTGAGCAAATTAAAC	713bp	[156]
	R:ATCCCGCAGATAAATCACCAC		
<i>blaCTX-M 15</i>	F: CACCAATGATATTGCGGTGA	77bp	[157]
	R: GTTGCGGCTGGGTAAAATA		
<i>blaCTX-M GROUP 1</i>	F: AAAAATCACTGCGCCAGT TC	415bp	[158]
	R: AGCTTATTCATCGCCACG TT		
AMPC			
<i>blaEBC (blaMIR,blaACT)</i>	F:CTGGACCATACCTGGATTAAC G	409bp	[159]
	R: TCGAGCCTGTTTTATGGACCC		

<i>blaCIT</i>	F:TGGCCAGAACTGACAGGCAA A	462bp	[160]
	R: TTCTCCTGAACGTGGCTGGC		
<i>blaDHA</i>	F:AACTTTCACAGGTGTGCTGGG T	405bp	[161]
	R: CCGTACGCATACTGGCTTTGC		
<i>blaCMY-2</i>	F: TGG CCA GAA CTG ACA GGC AAA	461bp	[162]
	R: TTT CTC CTG AAC GTG GCT GGC		
<i>blaACC</i>	F: ACAGCCTCAGCAGCCGGTTA	346bp	[156]
	R: TCGCCGCAATCATCCCTAGC		
<i>KARBAPENEMAZ</i>			
<i>blaKPC</i>	F: CGTCTAGTTCTGCTGTCTTG	798bp	[155]
	R: CTTGTCA TCCTTGTTAGGCG		
<i>blaVIM</i>	F: GATGGTGTGTTGGTCGCATA	390bp	[155]
	R: CGAATGCGCAGCACCAG		
<i>blaNDM</i>	F: GGTTTGGCGATCTGGTTTTTC	621bp	[155]
	R: CGGAATGGCTCATCACGATC		
<i>blaOXA-48</i>	F: TTGGTGGCATCGATTATCGG	743bp	[155]
	R: AGCACTTCTTTTGTGATGGC		
<i>blaIMP</i>	F: GCCAAAGTCCGCCAAATTAT	92bp	[163]
	R: TCAAGAGTGATGCGTCTCCA		
<i>blaSME1-3</i>	F: ACTTTGATGGGAGGATTGGC	551bp	[163]
	R: ACGAATTCGAGCATCACCAG		
<i>EFFLUKS POMPASI</i>			
<i>acrA</i>	F: CTCAGGCAGCTTAGCCCTAA	107bp	[164]
	R:CAGAGGTT CAGTTTTGACTGT T		
<i>acrB</i>	F:TGAAGACCAGGGCGTGTTCCT	145bp	[165]
	R: TTTTGTGCGTACGTTCTTG		
<i>tolC</i>	F: AAGCGGAAAACCGCAACCT	100bp	[164]
	R:CAGAGTTGGCAGGTGACCATC		

PCR analizlerinde pozitif kontrol olarak; TEM, SHV, NDM, KPC ve OXA-48 gen bölgeleri için Aybike Başer'in 'Türkiye ve Irak Hasta Örneklerinden İzole Edilen Karbapenem Dirençli Klebsiella pneumoniae İzolatlarının Moleküler Karakterizasyonu' başlıklı tez çalışmasında doğrulanmış olan izolatlar kullanılmıştır[166]. VIM, IMP, CTX-M, SME, ACC, CMY-2, EBC ve DHA direnç genleri için ise İnönü Üniversitesi Tıp Fakültesi'nden Dr. Öğr. Üyesi Elif Seren Tanrıverdi tarafından sekans analizi ile

doğrulanmış suşlar referans alınmıştır. Reaksiyonların negatif kontrolü olarak ise nükleaz içermeyen steril distile su (dH₂O) kullanılmıştır.

3.3.3.4.PCR Karışımı ve Amplifikasyon Koşulları

PCR aşaması, OneTaq Hot Start 2X Master Mix with GC Buffer (New England Biolabs, ABD) kullanılarak Labcycler (SensoQuest, Almanya) ve T100 Thermal Cycler (Bio-Rad, ABD) cihazlarında yapılmıştır. Tüm reaksiyon karışımları PCR çalışma kabini içerisinde hazırlanmıştır. PCR koşulları, hedeflenen her bir gen bölgesi için tek ve özgül bant elde edilecek şekilde optimize edilmiştir. Özgül olmayan veya zayıf bant veren bazı primerlerin bağlanma sıcaklıklarının optimizasyonu için gradiyent PCR yöntemi kullanılmıştır. İlgili direnç genleri, Tablo 12’de detayları verilen PCR karışımı kullanılarak araştırılmıştır.

Tablo 12. Polimeraz Zincir Reaksiyonu Karışımı

Materyal	Miktar
OneTaq Hot Start 2X Master Mix with GC Buffer	25 µL
Primer-F	1 µL
Primer-R	1 µL
OneTaq High GC Enhancer	5 µL
DNA	5 µL
Nükleaz içermeyen steril dH ₂ O	8 µL
Total reaksiyon hacmi	50 µL

Hazırlanan reaksiyon karışımı Tablo 13’te tarif edilen koşullarda amplifiye edilmiştir.

Tablo 13. Direnç Genlerinin Amplifikasyonu İçin Uygulanan PCR Protokolü

BASAMAK	SICAKLIK (°C)	SÜRE	DÖNGÜ SAYISI
Başlangıç denatürasyonu	94	1 dk	1
Denatürasyon	94	30sn	35
Bağlanma Sıcaklığı	T _m *	30sn	
Uzama	68	1 dk	
Son Uzama	68	7 dk	1
Bekleme	4	∞	1
*T _m değerleri gen bazında değişkenlik göstermektedir. blaIMP 50 °C, blaCIT 51°C, blaCTX-M Grup-1 52°C, blaCMY-2, blaACC, blaDHA 53 °C, blaKPC, blaVIM, blaOXA-48 54°C, blaNDM 55°C, blaSHV 56°C, blaTEM ve blaEBC 58 °C			

3.3.3.5. Agaroz Jel Elektroforezi

- PCR ürünlerinin yürütülmesi amacıyla %1,5 ve %2'lik agaroz jeller hazırlanmıştır. Bu doğrultuda, 100 ml 1× Tris-Borik Asit-EDTA (TBE) tamponu (89 mM Tris, 89 mM borik asit, 2 mM EDTA, pH 8.3) içerisine sırasıyla 1,5 ve 2 g agaroz (Sigma, ABD) eklenerek ısıtılmak suretiyle tamamen çözündürülmüştür.
- Agaroz çözeltisi 55°C'ye kadar soğutulduktan sonra, DNA bantlarının görünür kılınması amacıyla içerisine 10 µL SafeView™ Classic (abmgood, Kanada) jel boyası ilave edilerek homojen bir şekilde karışması sağlanmıştır. Akışkan haldeki sıcak jel, uygun kuyucuk tarakları yerleştirilmiş elektroforez tepsisine dökülerek oda sıcaklığında katılaşmaya bırakılmıştır.
- Katılaşma sürecinin ardından taraklar jelden dikkatlice çıkarılmış ve jel, tepsiyle birlikte yatay elektroforez tankına (Bio-Rad, ABD) yerleştirilmiştir.
- Tank içerisine jelin üzerini tamamen kaplayacak şekilde 1× TBE tamponu ilave edilmiştir.
- Moleküler ağırlık belirleyicisi olarak ilk kuyucuğa 10 µL Quick-Load Purple 50 bp DNA Ladder (New England Biolabs, ABD) yüklenmiş; takip eden kuyucuklara ise PCR ürünlerinden 25 µL aktarılmıştır.
- Yükleme işleminin ardından elektroforez sistemi güç kaynağına bağlanarak 90-100 V lineer elektrik akımında 60 dakika boyunca yürütülmüştür.
- Süre sonunda jel, ChemiDoc MP (Bio-Rad, ABD) jel görüntüleme sisteminde incelenerek bant profilleri değerlendirilmiştir.

3.3.4. Tüm Genom Sekanslama (WGS)

3.3.4.1. Genomik DNA İzolasyonu

Genomik DNA (gDNA) izolasyonu, saf kültürlerden Monarch Spin gDNA Extraction Kiti (New England Biolabs, ABD) kullanılarak, üretici firmanın önerileri doğrultusunda gerçekleştirilmiştir.

3.3.4.2.DNA Kantifikasyonu ve Kalite Kontrolü

İzole edilen bakteri örneklerinin çift sarmallı DNA (dsDNA) konsantrasyonları, üretici talimatlarına uygun olarak Qubit™ 4 Florometre (Thermo Fisher Scientific, ABD) ve Qubit™ dsDNA HS Assay Kit aracılığıyla kantitatif olarak ölçülmüştür. Elde edilen gDNA örneklerinin saflık düzeyleri ve kalitesi ise NanoDrop One spektrofotometresi (Thermo Fisher Scientific, ABD) kullanılarak belirlenmiştir.

3.3.4.3.Kütüphane Hazırlığı ve Dizileme

Dizileme kütüphaneleri, Oxford Nanopore Technologies Native Barcoding Kit 96 V14 (SQK-NBD114.96) kullanılarak hazırlanmıştır. Kütüphane hazırlığı tamamlanan örneklerin dizileme işlemleri, Oxford Nanopore Technologies P2 Solo (PRO-SEQ002) platformunda gerçekleştirilmiştir.

3.3.4.4. Islak Laboratuvar Yöntemleri

3.3.4.4.1.DNA Kantifikasyonu

İzole edilen her bakteri örneğinin genomik çift sarmallı DNA (dsDNA) konsantrasyonu, üretici firmanın talimatları doğrultusunda Qubit™ 4 Florometre üzerinde Qubit™ dsDNA HS Assay Kit kullanılarak kantitatif olarak belirlenmiştir.

3.3.4.4.2.Uç Hazırlık Reaksiyonu

Kütüphane hazırlığı süreci, “Ligation sequencing gDNA – Native Barcoding Kit 96 V14 (SQK-NBD114.96)” protokolüne uygun olarak gerçekleştirilmiştir. Bu amaçla, her bir örnek için 400 ng DNA 0,2 ml’lik PCR tüplerine aktarılmış ve nükleaz içermeyen su ile son hacimleri 11 µL’ye tamamlanmıştır. Ardından reaksiyon karışımına uç hazırlama reaktifleri olarak; 1 µL seyreltilmiş DCS, 0,875 µL NEBNext FFPE DNA Onarım Tamponu, 0,5 µL NEBNext FFPE DNA Onarım Karışımı, 0,875 µL Ultra II Uç Hazırlama Reaksiyon Tamponu ve 0,75 µL Ultra II Uç Hazırlama Enzim Karışımı ilave edilmiştir. Hazırlanan reaksiyon karışımı, termal döngüleyicide öncelikli olarak 20°C’de 5 dakika ve ardından 65°C’de 5 dakika süreyle inkübe edilmiştir.

3.3.4.4.3Natif Barkod Ligasyonu ve Saflaştırma

Uç hazırlık işlemlerinin tamamlanmasını takiben, elde edilen DNA'nın 0,75 µL'si; 2 µL nükleaz içermeyen su, 1,25 µL Natif Barkod (NB01–96) ve 5 µL Blunt/TA Ligaz Master Karışımı ile birleştirilerek natif barkod bağlanma reaksiyonu yürütülmüştür. Karışım, kısa süreli vorteks işleminin ardından oda sıcaklığında 20 dakika boyunca inkübe edilmiştir.

Barkodlama reaksiyonları EDTA ilavesiyle sonlandırıldıktan sonra, tüm barkodlu örnekler tek bir tüpte bir araya getirilmiş ve saflaştırma işlemi %0,4'lük (0,4×) AMPure XP (AXP) manyetik boncukları kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Manyetik boncuk-DNA karışımı 37°C'de 10 dakika inkübe edildikten sonra manyetik standda yerleştirilmiş ve süpernatant uzaklaştırılmıştır. Bağlı durumdaki DNA, 37 µL nükleaz içermeyen su ile elüasyon işlemine tabi tutulmadan hemen önce, 125 µL Kısa Parça Tamponu (SFB) ile iki kez yıkama işleminden geçirilmiştir.

3.3.4.4. Adaptör Ligasyonu ve Dizileme

Adaptör ligasyonu işlemi; 35 µL havuzlanmış barkodlu DNA'nın 5 µL Natif Adaptör (NA), 50 µL 2× Rapid Buffer ve 10 µL T4 DNA Ligaz (Rapid) ile birleştirilmesiyle gerçekleştirilmiştir. Elde edilen karışım, 30°C'de 10 dakika boyunca inkübe edilmiştir. İnkübasyonun ardından kütüphanenin saflaştırılması amacıyla karışıma 40 µL AMPure XP (AXP) manyetik boncuğu ilave edilmiş ve 37°C'de 10 dakika süreyle inkübe edilmiştir. Manyetik stand yardımıyla süpernatant uzaklaştırıldıktan sonra boncuklar 125 µL Kısa Parça Tamponu (SFB) ile yıkanmış ve adapte edilen nihai kütüphane, 25 µL Elüasyon Tamponu (EB) kullanılarak elüe edilmiştir. Elde edilen son kütüphane konsantrasyonu, florometrik kantifikasyon yöntemiyle ölçülmüştür.

3.3.4.5. Dizileme Reaksiyonu ve Biyoinformatik Analiz

Dizileme aşamasında öncelikle; 1170 µL Flow Cell Flush (FCF) ile 30 µL Flow Cell Tether (FCT) bir araya getirilerek primer karışımı hazırlanmıştır. Akış hücresi (R10.4.1 kimyası), giriş portundan 200 µL hava çekilmesini takiben 500 µL ön hazırlık karışımı eklenerek dizilemeye hazır hale getirilmiştir.

Beş dakikalık inkübasyon süresinin ardından, hazırlanan kütüphaneden 100 fmol alınarak 100 µL Dizileme Tamponu (SB) ve 68 µL Yükleme Boncukları (LIB) ile birleştirilmiş; hazırlanan bu son karışımın 200 µL'si giriş portu aracılığıyla akış hücresine yüklenmiştir. Dizileme işlemi, PromethION 2 Solo veya GridION (Oxford Nanopore Technologies,

İngiltere) platformu üzerinde gerçekleştirilmiş ve tüm süreç MinKNOW yazılımı kullanılarak kontrol edilmiştir. Dizileme sonrasında elde edilen verilerin baz çağırımı (base calling) ve demultipleksleme (örneklerin ayrıştırılması) işlemleri, Dorado yazılımının yüksek doğruluk modeli (super accuracy model) kullanılarak tamamlanmıştır.

3.3.4.5. Biyoinformatik Analiz

3.3.4.5.1. Okuma Kalite Kontrolü

Ham Oxford Nanopore dizileme okumaları, kalite kontrolü ve adaptör kırpma işlemlerine tabi tutulmuştur. Okumaların hem 5' hem de 3' uçlarında yer alan adaptör dizileri otomatik olarak tespit edilerek uzaklaştırılmıştır. Kalite filtreleme aşamasında; ortalama kalite skoru Q10'un altında kalan veya uzunluğu 400 bp'den kısa olan okumalar analiz dışı bırakılmıştır. Ayrıca, sistematik baz çağırımı hatalarını en aza indirmek amacıyla 15 bp'yi aşan homopolimer (polyX) kuyrukları kırılmıştır. Söz konusu filtreleme kriterleri, yalnızca yüksek kaliteli ve bilgilendirici okumaların sonraki genom birleştirme (assembly) ve analiz basamaklarında kullanılmasını sağlamak amacıyla uygulanmıştır.

3.3.4.5.2. Kontaminasyon Taraması

Kalite filtreleme işlemlerinden geçen okumaların taksonomik profillemesi, potansiyel türler arası kontaminasyonun belirlenmesi amacıyla Standart-8 referans veri tabanı ve Kraken2 yazılımı kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Hedef dışı taksonlara ait olduğu sınıflandırılan okumalar, genom birleştirme işleminden önce bir kalite kontrol basamağı oluşturmak üzere inceleme amacıyla işaretlenmiştir.

3.3.4.5.3. Genom Birleştirme (Assembly)

De novo genom birleştirme işlemi, Autocycler konsensüs birleştirme çerçevesi (framework) kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Filtrelenmiş okumalar; yedi farklı uzun okuma birleştirici yazılım (Flye, Raven, Minipolish/Myloasm, Canu, Necat, MetaMDBG ve Hifiasm) vasıtasıyla bağımsız okuma kümelerine alt örnekleme tabi tutulmuştur. Elde edilen birleştirmeler kümelenmiş, kırılmış ve her bir yazılımın güçlü yönlerinden yararlanılarak birleştirme hatalarını en aza indiren tek bir yüksek kaliteli konsensüs genom birleştirmesi elde edilmiştir. Oluşturulan konsensüs birleştirme, sistematik baz çağırımı hatalarını düzeltmek ve baz başına doğruluğu artırmak (polishing) amacıyla

r1041_e82_400bps_hac_v5.2.0 yapay sinir ağı modeli temel alınarak Medaka yazılımı ile iyileştirilmiştir.

3.3.4.5.4. Birleştirme (Assembly) Kalitesi Değerlendirmesi

Elde edilen genom birleştirmelerinin kalitesi; tek kopyalı koruyucu işaretleyici (marker) gen analizleri üzerinden genom bütünlüğünü ve kontaminasyon oranını makine öğrenmesi modelleriyle tahmin eden CheckM2 yazılımı kullanılarak değerlendirilmiştir. Gen içeriğinin bütünlüğü; korunan ortologların varlığını, duplikasyonunu ve parçalanma durumunu belirlemek amacıyla hem genel (bacteria odb12) hem de soy hattına (lineage) özgü işaretleyici setlerine karşı BUSCO yazılımı aracılığıyla ayrıca analiz edilmiştir. Tanımlanan kromozomal kontigler, standart bir genom gösterimi sağlamak amacıyla DNAAPLER yazılımı kullanılarak dnaA geni başlangıç alınacak şekilde yeniden yönlendirilmiş ve orijin hizalaması tamamlanmıştır.

3.3.4.5.5. Taksonomik Sınıflandırma

İzole edilen suşların taksonomik sınıflandırması; hızlı ve yüksek doğrulukta tür tanımlaması yapabilmek amacıyla GTDB R220 veri tabanı temel alınarak, MinHash tabanlı k-mer profillemesi yöntemiyle Sourmash yazılımı kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Plazmid dizilerinin tanımlanması ve kromozomal kontiglerden ayrıştırılması işlemi; relaksaz tiplemesi, konjugatif transfer (mate-pair) sistemi tiplemesi ve replikasyon başlatıcı protein analizlerine dayanarak replikonları sınıflandıran MOB-suite aracı kullanılarak tamamlanmıştır.

3.3.4.5.6. Moleküler Tipleme

Moleküler epidemiyolojik tipleme çalışmaları, farklı çözünürlük seviyelerinde yürütülmüştür. Çoklu Lokus Dizi Tiplemesi (MLST) analizi, PubMLST veri tabanından derlenen alel profillerine karşı mlst yazılımı kullanılarak gerçekleştirilmiş ve yedi temel housekeeping gen lokusundaki tam alel eşleşmelerine dayalı olarak suşların dizi tipleri (ST) belirlenmiştir. Çekirdek genom MLST (cgMLST) analizi ise cgMLST.org veya PubMLST veri tabanlarından otomatik olarak sağlanan alel şemaları doğrultusunda MentaLiST yazılımı kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Bu sayede, salgın incelemeleri ve bulaş hatlarının takibi için uygun olan yüksek çözünürlüklü suş ayrımı sağlanmıştır.

3.3.4.5.7. Antimikrobiyal Direnç Profili Analizi

In silico antimikrobiyal direnç (AMR) belirleyicilerinin tahmini, analiz hassasiyetini ve özgüllüğünü en üst düzeye çıkarmak amacıyla çift araçlı (dual-tool) bir yaklaşım kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Bu doğrultuda AMRFinderPlus yazılımı; BLASTx ve HMM tabanlı tespit yöntemlerinin kombinasyonu ile NCBI AMR Referans Gen Kataloğu'na karşı kazanılmış direnç genlerini, stres yanıt genlerini ve dirençle ilişkili nokta mutasyonlarını tanımlamak amacıyla kullanılmıştır.

Sürece bağımsız bir doğrulama sağlamak adına; kazanılmış direnç genlerinin tespiti için ResFinder yazılımı (minimum %60 kapsam ve %80 benzerlik kriterleri ile), türe özgü kromozomal nokta mutasyonlarının belirlenmesi için PointFinder yazılımı ve biyosit/dezenfektan direnç genlerinin tanımlanması için DisinFinder yazılımı kullanılmıştır. İlaç düzeyindeki fenotipik direnç tahminleri ise ResFinder fenotip tablosu referans alınarak elde edilmiştir.

Her iki analiz aracından elde edilen ham veriler; gen isimlendirmelerinin normalleştirilmesi, mükerrer tespitlerin elenmesi, çakışan nokta mutasyonlarının birleştirilmesi ve MOB-suite kontig sınıflandırması referans alınarak direnç belirleyicilerinin genomik konumlarının (kromozom veya plazmit) belirlenmesi amacıyla entegre bir veri havuzunda uyumlu hale getirilmiştir.

3.3.5. İstatistiksel Analiz

Çalışmadan elde edilen verilerin istatistiksel analizi IBM SPSS Statistics for Windows, Version 22.0 paket programı kullanılarak yapılmıştır. (IBM Corp., Armonk, NY, ABD). Tanımlayıcı istatistiklerde sürekli değişkenler dağılım özelliklerine göre ortalama±standart sapma veya medyan-ortanca (minimum-maksimum) olarak ifade edilmiştir. Kategorik değişkenler ise frekans (n) ve yüzde (%) olarak sunulmuştur. Verilerin normal dağılıma uygunluğu görsel (histogramlar ve olasılık grafikleri) ve analitik yöntemlerle (Kolmogorov-Smirnov ve Shapiro-Wilk testleri) incelenmiştir. Normal dağılım göstermeyen sürekli değişkenlerin (MİK değerleri vb.) iki bağımsız grup arası karşılaştırmalarında Mann-Whitney U testi kullanılmıştır. Kategorik verilerin karşılaştırılmasında beklenen frekans değerlerine göre Pearson Ki-kare veya Fisher'in

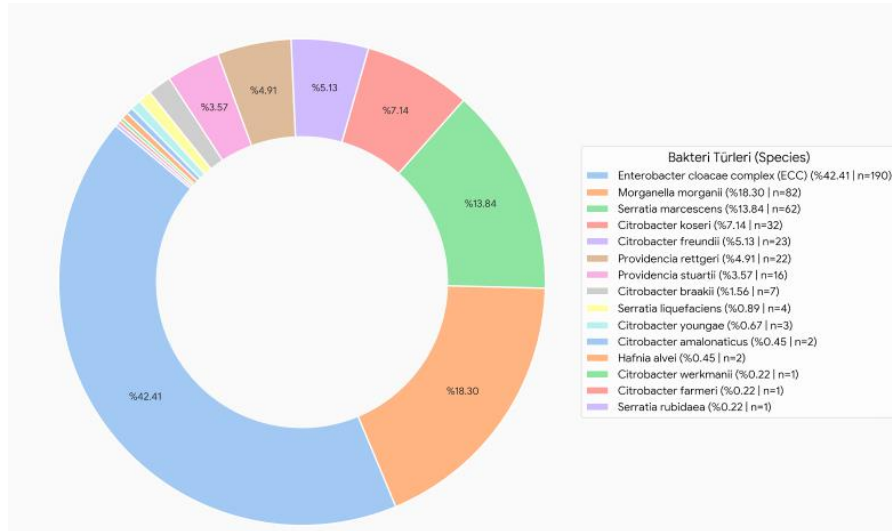
Kesin (Exact) testleri uygulanmıştır. Otomatize sistemler, disk difüzyon ve sıvı mikrodilüsyon gibi iki farklı tanı testinin birbiriyle olan uyumunun değerlendirilmesinde Cohen's Kappa analizi kullanılmıştır. Bağımlı gruplarda (aynı izolat üzerinde) uygulanan iki farklı fenotipik testin (KDT ve ÇDST) performans farklılıklarının istatistiksel anlamlılığı ise McNemar testi ile analiz edilmiştir.

Örneklem Yeterliliği ve İstatistiksel Güç (Power) Analizi: Çalışmada seçim önyargısını önlemek amacıyla ardışık tam sayım (consecutive sampling) yöntemi benimsenmiş ve çalışma kriterlerini karşılayan 154 izolatın tamamı analize dahil edilmiştir. %95 Güven Aralığı ve maksimum varyans varsayımı altında, 154 izolatlık örneklemin prevalans tahminindeki hata payı (Margin of Error) %7,8 olarak hesaplanmış olup, bu değer epidemiyolojik bir çalışma için öngörülen <%10 sınırının altında kalarak iyi bir güvenilirlik sınırında yer almıştır. Bağımlı gruplarda (ÇDST vs. KDT) McNemar testi ile yapılan karşılaştırmalarda saptanan yüksek uyumsuz çift sayısı (n=53) ve fenotipik-genotipik analizlerin kıyaslandığı MİK karşılaştırmalarında kullanılan 63 izolatlık 'zorlu panel' verileri dikkate alındığında; yüksek etki büyüklükleri nedeniyle $\alpha=0.05$ anlamlılık düzeyinde ilgili testlerin istatistiksel gücü (Power, 1β) %90'ın üzerinde saptanmıştır. Tüm istatistiksel analizlerde iki yönlü $p<0.05$ değeri istatistiksel olarak anlamlı kabul edilmiştir.

4. BULGULAR

4.1. Demografik Veriler ve Örnek Dağılımı

Çalışmaya Nisan 2023-Eylül 2025 tarihleri arasında Erciyes Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi Merkez Laboratuvarı Bakteriyoloji Birimine klinik örneklerden izole edilen toplam 448 adet *Enterobacter spp.*, *Citrobacter spp.*, *Serratia spp.*, *Morganella spp.*, *Providencia spp.* ve *Hafnia spp.* türü dahil edilmiştir. Çalışma kapsamında incelenen *Enterobacterales* izolatları arasında en sık saptanan tür %42,4 ile *Enterobacter spp.* olmuştur. Bunu sırasıyla *Morganella spp.*, *Citrobacter spp.*, *Serratia spp.*, *Providencia spp.* ve *Hafnia spp.* izlemiştir. İzolatların Tür Düzeyinde Dağılımı Şekil 10'da verilmiştir.



Şekil 10. İzolatların Tür Düzeyinde Dağılımı (n=448)

Örneklerin %32,3'ünü (n=145) idrar örnekleri oluştururken; %18,9'unu (n=85) yara ve %17,4'ünü (n=78) kan örnekleri oluşturmaktadır (Tablo 14).

Tablo 14. Örnek Türü ve Bakteri Türü Dağılım Tablosu

	<i>ECC</i>	<i>M. morganii</i>	<i>Citrobacter spp.</i>	<i>Serratia spp.</i>	<i>Providencia spp.</i>	<i>Hafnia spp.</i>	TOPLAM (%)
Örnek Türü							
İdrar	67	23	34	8	12	1	145(%32.3)
Yara	25	32	12	10	6		85(%18.9)
Kan	41	11	3	17	6		78(%17.4)
Solunum Örnekleri*	24	4	7	25	8	1	69(%15.4)
Steril Vücut Sıvıları**	5	1	-	2	2	-	10(%2.3)
Apse	8	6	6	1	1	-	22(%4.9)
Safra	9	-	3	-	-	-	12(%2.7)
Doku	5	2	-		1	-	8(%1.8)
Katater	4	1	1	2	-	-	8(%1.8)
Nefrostomi	1	1	2	1	1	-	6(%1.3)
Diğer***	1	1	1	1	1	-	5(%1.2)
ECC: <i>Enterobacter cloacae complex</i> , *Solunum yolu örnekleri: ETA, Bal, Balgam, NTA **Steril vücut sıvıları: plevra sıvısı, periton sıvısı, BOS örnekleri, ***Diğer: PEG çevresi, Axilla sürüntüsü, Dren yeri örnekleri, YBÜ: yoğun bakım ünitesi							

Örneklerin gönderildiği klinik birim kategorileri değerlendirildiğinde; izolatların en büyük kısmının %40,9 (n=183) ile yataklı servislerden geldiği görülmüş olup, bunu %34,6 (n=155) ile ayaktan başvuru yapılan poliklinikler ve %24,5 (n=110) ile yoğun bakım üniteleri takip etmiştir.

Çalışmaya dahil edilen toplam 448 izolatın elde edildiği hastaların yaş ortalaması ve standart sapması 52,88±25,53 (min-maks: 0-101) olup, ortalama yaş değeri 62 olarak saptanmıştır. Hastaların cinsiyet dağılımı incelendiğinde; %61,6'sının (n=276) erkek, %38,4'ünün (n=172) ise kadın olduğu belirlenmiştir. Hastalar üç temel yaş grubuna ayrılarak değerlendirildiğinde; izolatların %42,9'unun (n=192) 18-64 yaş arası erişkin, %42,0'ının (n=188) 65 yaş ve üzeri geriyatrik, %15,1'inin (n=68) ise 0-17 yaş arası pediatrik hasta grubundan elde edildiği görülmüştür (Tablo 15).

Tablo 15.Takip Edilen Klinik, Yaş ve Cinsiyet Dağılım Tablosu

	<i>ECC</i>	<i>M. morganii</i>	<i>Citrobacter spp.</i>	<i>Serratia spp.</i>	<i>Providencia spp.</i>	<i>Hafnia spp.</i>	TOPLAM (%)
Takip Edilen Klinik							
Poliklinik	71	30	32	16	6	-	155(%34.6)
Servis	78	39	26	26	12	2	183(40.9)
YBÜ	41	13	11	25	20	-	110(%24.5)
Yaş Grubu							
0-17	28	8	11	18	3	-	68(%15.1)
18-64	86	37	33	25	17	1	192(%42.9)
>=65	76	37	25	24	18	1	188(%42)
Cinsiyet							
Kadın	71	35	27	26	13	-	172(%38.4)
Erkek	119	47	42	41	25	2	276(%61.6)
ECC: <i>Enterobacter cloacae</i> complex, YBÜ: yoğun bakım ünitesi							

4.1.1.Örnek Türlerine Göre Dağılım ve Tür Spesifik Bulgular

En sık izole edilen örnek türleri, bu örnek türlerinin takip edildiği klinik ve örneklerin elde edildiği hastaların yaşları değerlendirilmiştir. (Tablo 16).

Tablo 16. En Sık İzole Edilen Örnek Türlerinde Bakteri Türü, Klinik ve Yaş Dağılım Tablosu

Örnek Türü	Bakteri Türü	Poliklinik	Servis	YBÜ	0-18 Yaş	19-64 Yaş	65+ Yaş	Toplam (n)
İDRAR	<i>ECC</i>	44 (%65,7)	13 (%19,4)	10 (%14,9)	20 (%29,9)	23 (%34,3)	24 (%35,8)	67 (%100)
	<i>Citrobacter</i>	20 (%58,8)	12 (%35,3)	2 (%5,9)	9 (%26,5)	18 (%52,9)	7 (%20,6)	34 (%100)
	<i>Morganella</i>	10 (%43,5)	11 (%47,8)	2 (%8,7)	6 (%26,1)	5 (%21,7)	12 (%52,2)	23 (%100)
	<i>Providencia</i>	2 (%16,7)	5 (%41,7)	5 (%41,7)	3 (%25,0)	3 (%25,0)	6 (%50,0)	12 (%100)
	<i>Serratia</i>	6 (%75,0)	2 (%25,0)	0 (%0,0)	2 (%25,0)	3 (%37,5)	3 (%37,5)	8 (%100)
	<i>Hafnia</i>	-	1 (%100,0)	-	-	1 (%100,0)	-	1 (%100)
	Toplam	82 (%56,6)	44 (%30,3)	19 (%13,1)	40 (%27,6)	53 (%36,6)	52 (%35,9)	145 (%100)
YARA	<i>Morganella</i>	9 (%28,1)	20 (%62,5)	3 (%9,4)	2 (%6,2)	17 (%53,1)	13 (%40,6)	32 (%100)
	<i>ECC</i>	10 (%40,0)	13 (%52,0)	2 (%8,0)	-	11 (%44,0)	14 (%56,0)	25 (%100)
	<i>Citrobacter</i>	6 (%50,0)	5 (%41,7)	1 (%8,3)	2 (%16,7)	6 (%50,0)	4 (%33,3)	12 (%100)
	<i>Serratia</i>	3 (%30,0)	7 (%70,0)	-	2 (%20,0)	3 (%30,0)	5 (%50,0)	10 (%100)
	<i>Providencia</i>	2 (%33,3)	3 (%50,0)	1 (%16,7)	-	1 (%16,7)	5 (%83,3)	6 (%100)
	Toplam	30 (%35,3)	48 (%56,5)	7 (%8,2)	6(%7,1)	38 (%44,7)	41 (%48,2)	85 (%100)
KAN	<i>ECC</i>	6 (%14,6)	22 (%53,7)	13 (%31,7)	6 (%14,6)	22 (%53,7)	13 (%31,7)	41 (%100)
	<i>Serratia</i>	3 (%17,6)	4 (%23,5)	10 (%58,8)	6 (%35,3)	9 (%52,9)	2 (%11,8)	17 (%100)
	<i>Morganella</i>	2 (%18,2)	3 (%27,3)	6 (%54,5)	-	3 (%27,3)	8 (%72,7)	11 (%100)
	<i>Providencia</i>	1 (%16,7)	-	5 (%83,3)	-	4 (%66,7)	2 (%33,3)	6 (%100)
	<i>Citrobacter</i>	1 (%33,3)	-	2 (%66,7)	-	1 (%33,3)	2 (%66,7)	3 (%100)
	Toplam	13 (%16,7)	29 (%37,2)	36 (%46,2)	12 (%15,4)	39 (%50,0)	27 (%34,6)	78 (%100)

İdrar örneklerinden en sık *Enterobacter spp.* (n=67) türü izole edilmiş olup, bu örneklerin %65,7'si (n=44) poliklinik hastalarından elde edilmiştir.

Yara örnekleri değerlendirildiğinde; enfeksiyonların %92,9'unun (79/85) erişkin ve geriatric popülasyonda geliştiği, yara örneklerinden en sık *Morganella spp.* (n=32) ve *Enterobacter spp.* (n=25) ürettiği belirlenmiştir. Bu isolatlar ağırlıklı olarak servislere yatan hastalardan (sırasıyla %62,5 ve %52,0) elde edilmiştir.

İnvaziv enfeksiyonların göstergesi olan **kan kültürlerinden de en sık *Enterobacter spp.* (n=41) izole edilmiştir. Kan kültürlerinden izole edilen *Serratia spp.* suşlarının (n=17) %58,8'inin yoğun bakım ünitelerinden, %35,3'ünün ise pediatrik yaş grubundan elde edildiği tespit edilmiştir.**

Genel dağılımda düşük oranda (%8,5) saptanan *Providencia spp.* izolatlarının ise belirli hasta gruplarında yoğunlaştığı saptanmıştır. Yara suşlarının %83,3'ü (n=5) ve idrar suşlarının %50'si (n=6) 65 yaş ve üzeri geriatrik popülasyondan izole edilmiştir. Ayrıca tüm *Providencia spp.* izolatlarının %52,6'sı (n=20) yoğun bakım ünitesinde yatmakta olan hastalardan izole edilmiştir.

4.2.Antibiyotik Duyarlılık Test Sonuçları

4.2.1.Otomatize Sistem Duyarlılık Sonuçları (n=448)

Otomatize sistemlerce (Vitek 2, BioMérieux, Fransa) çalışılan panele göre verilen antibiyotik duyarlılık sonuçlarına göre. ***Providencia spp. izolatlarının* %64,87'sinin 3. ve 4. kuşak sefalosporinlere (Seftriakson, Seftazidim, Sefepim) karşı yüksek direnç sergilediği belirlenmiştir. Ertapenem direnci %27 iken meropenem direnci %19,4 olarak saptanmıştır. *Morganella spp. izolatlarında* seftazidimde direnç oranı %62,3 iken, seftriaksonda direnç oranı %39,4 , 4. kuşak olan Sefepimde ise direncin %11,2 olduğu görülmüştür. *Citrobacter spp. izolatlarında* seftriakson direnci %51,6, seftazidim direnci %23 sefepim direnci ise %30 olarak bulunmuştur. *Serratia spp. izolatlarında* seftriakson ve sefepim direnci %23,8, seftazidim direnci % 22,7 , ertapenem ve meropenem direnci %16,4 olarak saptanmıştır. En büyük hasta grubunu oluşturan *Enterobacter spp. izolatlarında*, seftriakson direnci %41, seftazidim direnci %39,4, sefepim direnci %20,7, Ertapenem direnci %24,2, Meropenem direnci ise %13,75 olarak saptanmıştır.**

4.3.Çalışma İzolatlarının Seçimi

Nisan 2023-Eylül 2025 tarihleri arasında laboratuvarımızda otomatize sistemlerce test edilen 448 izolat içerisinde 3. kuşak sefalosporin direnci tespit edilen **154 örnek** çalışmamızın ana konusu olan beta laktam antibiyotik direncinin fenotipik ve genotipik karakterizasyonunun yapılması amacıyla seçilmiştir.

Canlandırılan örneklerin tür düzeyinde tekrardan tanımlanması MALDI-TOF-MS (VİTEK MS PRİME-BioMérieux, Fransa) sistemi ile yapılmıştır.

154 izolatın tür düzeyinde dağılımları Tablo 17’de verilmiştir.

Tablo 17. Dirençli Seçilen Örneklerin Cins ve Tür Düzeyinde Dağılımı (n=154)

Cins	Tür (Species)	Sayı (n)	Yüzde (%)
Enterobacter spp. (n=78 %50.6)	<i>Enterobacter cloacae complex (ECC)*</i>	78	%50.6
Morganella spp. (n=21 %13.6)	<i>Morganella morganii</i>	21	%13.6
Serratia spp. (n=16%10.4)	<i>Serratia marcescens</i>	16	%10.4
Citrobacter (n=15 %9.7)	<i>Citrobacter koseri</i>	5	%3.2
	<i>Citrobacter freundii</i>	7	%4.5
	<i>Citrobacter braakii</i>	1	%0.7
	<i>Citrobacter youngae</i>	2	%1.4
Providencia (n=23 %14.9)	<i>Providencia rettgeri</i>	10	%6.5
	<i>Providencia stuartii</i>	13	%8.5
Hafnia (n=1 %0.6)	<i>Hafnia alvei</i>	1	%0.6
TOPLAM		154	%100.00
*VİTEK MS PRİME ile <i>Enterobacter cloacae complex</i> içerisinde yer alan bakterilerin tür bazında ayrımı yapılamamaktadır.			

4.3.1. Seçilen İzolatların Demografik verileri ve Örnek Dağılımları

Seçilen 154 izolatın elde edildiği hastaların demografik verileri incelenmiştir. Hastaların %63,6'sını (n=98) erkek hastalar, %36,4'ünü (n=56) ise kadın hastalar oluşturmaktadır. Bununla birlikte hastaların yarısından fazlası (%50,6, n=78) erişkin yaş grubunda yer almaktadır. Çalışma grubunu oluşturan hastaların yaş ortalaması ve standart sapması 50.46±25.30 (min-maks: 0-90) olup, ortalama yaş değeri 59 olarak saptanmıştır.

Hastanede yatan hastalar (Servis ve YBÜ) toplam izolatların %78'ini (120/154) oluşturmaktadır. Bu grup incelendiğinde ***S. marcescens* (16) izolatlarının tamamı yoğun bakım ünitelerinden izole edildiği görülmektedir.** *P. stuartii* suşlarının da büyük çoğunluğu (%92) yine yoğun bakım ünitelerinden gelmektedir. Poliklinik hastalarında en sık görülen etkenler sırasıyla *Enterobacter Cloacea Complex (ECC)* ve *M. morganii*'dir (Tablo 18).

Pediyatrik grupta (23 izolat) enfeksiyonlara ağırlıklı olarak *ECC* ve *S. marcescens* neden olmuştur. *M. morganii*, *P. stuartii* ve *P. rettgeri* izolatlarının hiçbirini pediyatrik gruptan izole edilmemiştir; tamamen erişkin ve geriyatrik popülasyonda görülmektedir.

Tablo 18. Dirençli Seçilen Gruptaki İzolatların Demografik Verileri

	<i>ECC</i> (n=78)	<i>M. morganii</i> (n=21)	<i>Citrobacter</i> <i>spp.</i> (n=15)	<i>Serratia</i> <i>spp.</i> (n=16)	<i>Providencia</i> <i>spp.</i> (n=23)	<i>Hafnia</i> <i>spp.</i> (n=1)	TOPLAM (%)
Takip Edilen Klinik							
Poliklinik	21	8	5				34(%22)
Servis	36	9	9	-	5	1	60(%39)
YBÜ	21	4	1	16	18	-	60(%39)
Yaş Grubu							
0-17 yaş	12	-	3	8	-	-	23(%14.9)
18-64yaş	31	15	9	7	15	1	77(%50)
>64yaş	35	6	3	1	8	-	54(%35.1)
Cinsiyet							
Kadın	26	11	4	7	8	-	56(%36.4)
Erkek	52	10	11	9	15	1	98(%63.6)

Klinik örneklerin dağılımı incelendiğinde; izolatların **58'i (%37,6) idrar örneğinden**, 29'u (%18,9) kandan, 27'si (%17,6) solunum yolu örneklerinden, 15'i (%9,7) yaradan, 9'u (%5,9) apsedan, 7'si(%4,5) safradan, 6'sı(%3,9) steril vücut sıvılarından elde edilmiştir (Tablo 19).

Tablo 19.Dirençli Seçilen Gruptaki İzolatların Örnek ve Tür Dağılımı(n=154)

	<i>ECC</i> (n=78)	<i>M. morganii</i> (n=21)	<i>Citrobacter</i> <i>spp.</i> (n=15)	<i>Serratia</i> <i>spp.</i> (n=16)	<i>Providencia</i> <i>spp.</i> (n=23)	<i>Hafnia</i> <i>spp.</i> (n=1)	TOPLAM (%)
Örnek Türü							
İdrar	35	8	7	-	7	1	58 (%37.6)
Kan	12	2	-	10	5	-	29 (%18.8)
Solunum örnekleri	11	2	-	6	8	-	27 (%17.5)
Yara	6	6	2	-	1	-	15(%9.7)
Safra	5	-	2	-	-	-	7(%4.5)
Apse	4	2	3	-	-	-	9(%5.9)
Steril vücut sıvıları	4	-	-	-	2	-	6(%3.9)
Doku	1	-	-	-	-	-	1(%0.7)
Diğer*	-	1	1	-	-	-	2(%1.3)
*Diğer: Dren yeri,Peg çevresi							

4.3.2. İzolatların Disk Difüzyon Testi Duyarlılıkları

Tür bazında disk difüzyon testine göre antibiyotik duyarlılık oranları EUCAST V.16.0'a göre değerlendirilmiştir.

EUCAST klinik sınır değer tablolarında teknik belirsizlik alanında kalan izolatların disk difüzyon testi tekrarı yapılmıştır.

Disk difüzyon yöntemi sonucunda, teknik belirsizlik alanında (TBA) kalan ve/veya EUCAST klinik sınır değerlerine göre duyarlı ya da dirençli olarak kategorize edilemeyen izolatlar değerlendirme dışı tutulmuştur. Bu doğrultuda; TBA kapsamında yer alan FEC için 9, MEV için 10, AZA için 1, CIP için 10, TZP için 3 izolat, duyarlı/dirençli kategorizasyonu yapılamayan CRO için 17 izolat, CAZ 8 için izolat, CTX için 4 izolat, FEP için 20 izolat, Meropenem için 6 izolat, Aztreonam için 18 izolat duyarlılık oranları hesaplanırken kategorize edilmemiştir.

EUCAST kılavuzlarında IMR klinik sınır değerleri, *Morganellaceae* (*Morganella spp.*, *Providencia spp.*) dışındaki *Enterobacterales* üyeleri için tanımlanmıştır. Bu nedenle, IMR duyarlılık analizlerine bu izolatlar dahil edilmemiş; değerlendirmeler geriye kalan 105 izolat üzerinden gerçekleştirilmiştir.

Tüm türler için en iyi duyarlılık profili AZA'da saptanmışken bunu amikasin, meropenem-vaborbaktam, meropenem ve sefiderekol takip etmiştir. *Enterobacter* türlerindeki %41'e varan sefiderekol direnci (tekrarlı sonuçlara rağmen) dikkat çekicidir. Tüm antibiyotikler bir arada değerlendirildiğinde genel olarak *Morganella* türlerinde diğer ESPCM üyelerine göre belirgin duyarlılık saptanmıştır. Buna karşın *ECC* ve *Providencia* türlerinde de belirgin dirençli profili gözlemlenmiştir. (Tablo 20).

Tablo 20.Tür Bazında Antibiyotik Direnç Oranları

Antibiyotik	ECC n=78	Providencia n=23	Morganella n=21	Serratia n=16	Citrobacter n=15	Hafnia n=1	Toplam n=154
CAZ	%85.52 (n=65)	%100 (n=23)	%39 (n=7)	%92.8 (n=13)	%100 (n=10)	%100 (n=1)	%81.5 (n=119)
CRO	%95.77 (n=68)	%100 (n=23)	%35.71 (n=5)	%100 (n=15)	%92.85 (n=13)	%0 (n=0)	%90.51 (n=124)
CTX	%85.52 (n=65)	%95.6 (n=22)	%50 (n=10)	%93.7 (n=15)	%92.8 (n=13)	%0 (n=0)	%83.3 (n=125)
FEP	%51.5 (n=36)	%80.95 (n=17)	%5 (n=1)	%100 (n=13)	%44.4 (n=4)	%0 (n=0)	%53 (n=71)
TZP	%77 (n=60)	%79.1 (n=16)	%9.5 (n=2)	%56.2 (n=9)	%71.5 (n=10)	%0 (n=0)	%64.2 (n=97)
AK	%9.6 (n=7)	%0 (n=0)	%0 (n=0)	%12.5 (n=2)	%0 (n=0)	%0 (n=0)	%5.9 (n=9)
GN	%15.4 (n=12)	%65.3 (n=15)	%47.7 (n=10)	%62.5 (n=10)	%0 (n=0)	%0 (n=0)	%30.6 (n=47)
CIP	%31 (n=22)	%91.3 (n=21)	%60 (n=12)	%86.6 (n=13)	%13.3 (n=2)	%0 (n=0)	%48.6 (n=70)
ERT	%64.2 (n=50)	%4.4 (n=1)	%0 (n=0)	%56.3 (n=9)	%20 (n=3)	%0 (n=0)	%41 (n=63)
MEM	%29.5 (n=21)	%4.5 (n=1)	%0 (n=0)	%50 (n=8)	%7.1 (n=1)	%0 (n=0)	%21 (n=31)
AZT	%71.83 (n=51)	%65 (n=13)	%0 (n=0)	%93.3 (n=14)	%91.6 (n=11)	%0 (n=0)	%65.4 (n=89)
CZA	%35.9 (n=28)	%47.9 (n=11)	%0 (n=0)	%0 (n=0)	%0 (n=0)	%0 (n=0)	%25.4 (n=39)
IMR	%29.33 (n=22)	-	-	%46.6 (n=7)	%6.2 (n=1)	%0 (n=0)	%28.5 (n=30)
MEV	%16.94 (n=10)	%4.3 (n=1)	%0 (n=0)	%46.6 (n=7)	%0 (n=0)	%0 (n=0)	%12.5 (n=18)
FDC	%40.84 (n=29)	%4.8 (n=1)	%0 (n=0)	%0 (n=0)	%15.3 (n=2)	%0 (n=0)	%22.06 (n=32)
AZA	%0 (n=0)	%0 (n=0)	%0 (n=0)	%0 (n=0)	%0 (n=0)	%0 (n=0)	%0 (n=0)

CAZ:Seftazidim,CRO:Seftriakson, CTX:Sefotaksim, FEP:Sefepim, TZP:Piperasilin/Tazobaktam, ERT:Ertapenem, MEM:Meropenem, AK:Amikasin, CN:Gentamisin, CIP:Siprofloksasin, ATM:Aztreonam,FDC:Sefiderekol, IMR: İmipenem-Relebaktam, MEV:Meropenem-Vaborbaktam, AZA:Aztreonam-Avibaktam,CZA:Seftazidim-Avibaktam

Direnç oranı:%0-30=yeşil, %30-50=sarı, %50-80=turuncu, %80-100=kırmızı

4.3.2.1. Disk Difüzyon Testi ve Otomatize Sistem Sonuçları Arasındaki Uyumlar

Çalışmada, Vitek 2 (bioMérieux, Fransa) otomatize sisteminin disk difüzyon testine kıyasla performansını değerlendirmek amacıyla kategorik uyum, çok büyük hata ve büyük hata oranları parametre olarak kullanılmıştır. Sistemin performansının kabul

edilebilir bulunması için kategorik uyumun >%90, çok büyük hata oranının <%1,5 ve büyük hata oranının <%3 olması kriterleri benimsenmiştir (Tablo 21). Elde edilen uyum oranlarının hesaplanmasında Cohen'in kappa analizinden yararlanılmıştır.

Kappa Değeri(κ):

0.01 - 0.20: Önemsiz düzeyde uyum

0.21 - 0.40: Zayıf düzeyde uyum

0.41 - 0.60: Orta düzeyde uyum

0.61 - 0.80: İyi (Önemli) düzeyde uyum

0.81 - 1.00: Mükemmel düzeyde uyum

Tablo 21.Otomatize Sistem ve Disk Difüzyon Testi Sonuçları Arasındaki Kategorik Uyum, Çok Büyük Hata ve Büyük Hata Oranları

Antibiyotik	Kategorik Uyum (%)	Çok Büyük Hata (VME) (%)	Büyük Hata (ME)	Kappa Değeri (κ)
Seftriakson	80.95	7.87	90	0.026
Seftazidim	82.75	7.37	69.56	0.263
Sefepim	76.66	13.11	33.89	0.523
Ertapenem	81.16	23.80	15.38	0.610
Meropenem	91.27	9.09	8.62	0.765

4.3.3. Sıvı Mikrodilüsyon Testi Duyarlılıkları

Çalışmamız kapsamında değerlendirilen türler indüklenebilir kromozomal AmpC üreticisi oldukları için bu kökenlerde ertapenem duyarlılığının GSBL, AmpC ve karbapenemazlar ve diğer yan mekanizmalardan en çok etkilenen antibiyotik olduğu literatürce bildirilmektedir [167]. Bu kapsamda disk difüzyon test sonuçlarına göre ertapenem direnci olan **63 izolatın** ertapenem, meropenem, seftazidim-avibaktam ve aztreonam-avibaktam duyarlılıkları sıvı mikrodilüsyon yöntemi ile çalışılmıştır. Sıvı mikrodilüsyon duyarlılık sonuçları EUCAST V.16.0'a göre değerlendirilmiştir. *ECC* türlerinde ertapenem direnci %71,4, meropenem direnci %39,1, CZA'da %42,9 olarak saptanmıştır. Tüm türlerde sıvı mikrodilüsyon testi ile aztreonam-avibaktam %100

duyarlılık göstermiştir (Tablo 22). (Sıvı mikrodilüsyon ile çalışılan izolatların MİK değerleri Ek 4’te verilmiştir.)

Tablo 22.Sıvı Mikrodilüsyon Testi Direnç Oranları

Antibiyotik	ECC n=49	Providencia n=2	Serratia n=9	Citrobacter n=3	Toplam n=63
Ertapenem	%71,4 (n=35)	%100 (n=2)	%100 (n=9)	%66,6 (n=2)	%76,2 (n=48)
Meropenem*	%39,1 (n=18)	%100 (n=1)	%87,5 (n=7)	%50 (n=1)	%48,3 (n=28)
CZA	%44,9 (n=22)	%100 (n=2)	%22,3 (n=2)	%33,3 (n=1)	%42,9 (n=27)
AZA	-	-	-	-	-
CZA:Seftazidim-Avibaktam, AZA:Aztreonam-Avibaktam, *Meropenem için duyarlı ve dirençli kategorizasyonu yapılamayan izolatlar toplam izolat sayısından düşülüp oranlar o şekilde hesaplanmıştır. (n=57)					

Sıvı mikrodilüsyon testi ile çalışılan antibiyotiklerin MİK50-MİK90 değerleri ve MİK değerleri tablo 23’te gösterilmiştir.

Tablo 23.MİK50 ve MİK90 Değerleri

ANTİBİYOTİK	MİK50	MİK90	MİK ARALIĞI
Ertapenem	8	>32	>32-0.06
Meropenem	8	64	<0.125->128
Seftazidim-avibaktam	1	>64	<0.06->64
Aztreonam-avibaktam	0.5	2	<0.06-4

4.3.3.1. Sıvı Mikrodilüsyon ve Disk Difüzyon Test Sonuçları Uyum

Sıvı mikrodilüsyon testi çalışılan 4 antibiyotiğe ait olan MİK sonuçları ile disk difüzyon sonuçları kategorik uyum, büyük hata ve çok büyük hata oranlarına göre değerlendirilmiştir (Tablo 24).

Disk difüzyon testinde meropenem zon çapı 16-22mm arasında kalan ve duyarlılık kategorizasyonu yapılamayan 5 izolat, meropenem sıvı mikrodilüsyon testinde 3 izolat dirençli, 1 izolat duyarlı olarak kategorize edilebilirken, 1 izolatın (MİK=8) duyarlılık kategorizasyonu yapılamamıştır.

Meropenem için sıvı mikrodilüsyon testinde 2-8 MİK aralığında olan, duyarlılık kategorizasyonu yapılamayan 6 izolatın hepsi disk difüzyon testinde dirençli olarak bulunmuştur.

Aztreonam-avibaktam için değerlendirmeye alınan 63 izolattan 1 tanesi disk difüzyon yöntemi ile teknik belirsizlik alanında kalmıştır.

Tablo 23'teki uyum ve hata oranları hesaplarında yer alan değerlerde yukarda bahsedilen duyarlılık kategorizasyonu yapılamayan ve teknik belirsizlik alanında kalan 10 izolat değerlendirme dışı bırakılmıştır.

Yapılan değerlendirmelerde MİK ve disk difüzyon testinde AZA'da %100 uyum saptanmıştır, buna karşın değerlendirilen diğer antibiyotiklerin kategorik uyum çok büyük hata ve büyük hata oranları dikkate alındığında iki yöntem arasında uyumsuzluklar tespit edilmiştir. Karbapenem grubu antibiyotikler için MİK ve disk uyumsuzluk sonuçlarının tamamı *ECC* türlerinden kaynaklanmıştır. CZA'da saptanan 9 hatalı sonucun 6'sı *ECC*, 2'si *Serratia*, 1'i *Citrobacter* türüne ait bulunmuştur.

Tablo 24. Disk Difüzyon ve Sıvı Mikrodilüsyon Uyum ve Hata Oranları (n=63)

Antibiyotik	Kategorik Uyum (CA) (%)	Çok Büyük Hata (VME) (%)	Büyük Hata (ME) (%)	Kappa
Ertapenem	90.47	*	%100 (n=6)	**
Meropenem ¹	88.7	%8.33(n=2)	%13.7 (n=4)	0.77
CZA (Seftazidim-Avibaktam)	85.71	%14.81 (n=4)	%13.8 (n=5)	0.71
AZA (Aztreonam-Avibaktam)	%100	-	2	***

¹Disk difüzyon ve sıvı mikrodilüsyon ile duyarlılık kategorizasyonu yapılamayan 10 izolat değerlendirmeye alınmamıştır. Meropenem için (n=53)
²Disk difüzyon testinde Teknik belirsizlik alanında kalan 1 izolat değerlendirmeye alınmamıştır. (n=62)
*Disk difüzyon testinde ertapenem direnci saptanan izolatları sıvı mikrodilüsyon testi yapıldığı için hesaplanamamıştır.
**Disk difüzyon testi ile tüm izolatlar dirençli olduğu için hesaplanamamıştır.
***Tüm izolatlar duyarlı olduğu için hesaplanamamıştır.

4.3.3.2 Sıvı Mikrodilüsyon ve Otomatize Sistem Test Sonuçları Uyum

Sıvı mikrodilüsyon testi çalışılan 2 antibiyotiğe ait olan MİK sonuçları ile otomatize sistem (Vitek 2, bioMérieux, Fransa) sonuçları kategorik uyum, büyük hata ve çok büyük hata oranlarına göre değerlendirilmiştir (Tablo 25). Her iki antibiyotik için otomatize sistem gerek kategorik uyumsuzluğu gerekse de çok büyük hata ve büyük hata oranlarının

yüksekliği ile dikkat çekmektedir. Ayrıca bu uyumsuz sonuçların %92,2'si (n=12) *ECC* türlerinden kaynaklanmaktadır.

Tablo 25. Sıvı Mikrodilüsyon Testi ve Otomatize Sistem Arasındaki Uyum ve Hata Oranları

Antibiyotik	Kategorik Uyum (CA) (%)	Çok Büyük Hata (VME) (%)	Büyük Hata (ME) (%)	Kappa
Ertapenem	88.8	12.28(n=7)	-	0.57
Meropenem ¹	89.4	3.7(n=1)	16.6 (n=5)	0.79
¹ Sıvı mikrodilüsyon ile duyarlılık kategorizasyonu yapılamayan 6 izolat değerlendirmeye alınmamıştır. Meropenem için (n=57)				

4.4. Beta Laktam Antibiyotiklere Direnç Mekanizmalarının Belirlenmesi

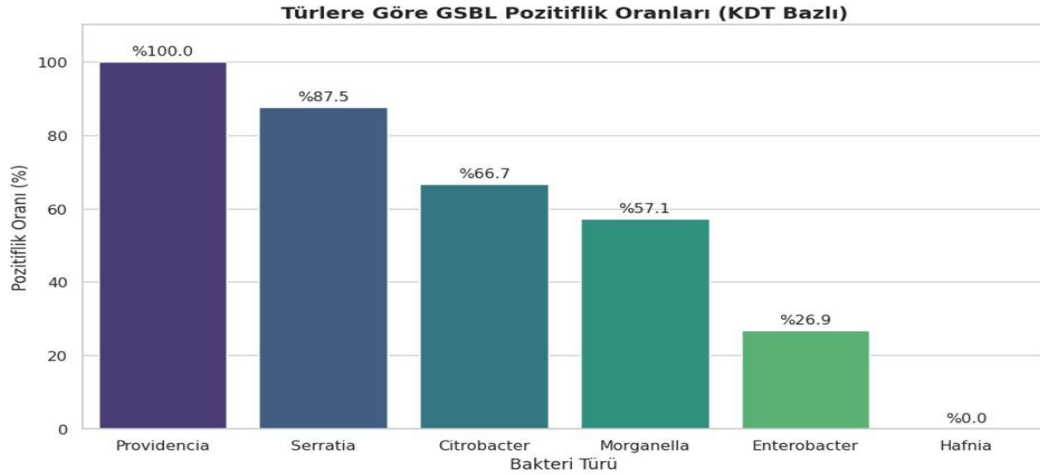
4.4.1. Fenotipik Testler

4.4.1.1. Çift Disk Sinerji Testi (ÇDTS)

Çift disk sinerji testi sonuçlarına göre 154 izolatın 41'i (%26,62) GSBL üretimi pozitif olarak değerlendirilmiştir. Pozitif izolatların %34,1'ini Providencia türleri, %29,2'sini Enterobacter türleri oluşturmaktadır. ÇDTS yapılan antibiyotik türlerinden en fazla sefepim ile (%82,9/n=34) sinerji olduğu görülmüştür. (Tablo 24). (ÇDTS çalışılan pozitif izolatların sonuçları ve sinerji verdiği antibiyotik türleri Ek 2'de verilmiştir).

4.4.1.2. Kombinasyon Disk Testi (KDT)

Kombinasyon disk testi sonuçlarına göre 154 izolatın 80'i GSBL üretimi pozitif olarak değerlendirilmiştir. Providencia türlerinin tamamında pozitiflik saptanırken Enterobacter türlerinde pozitiflik saptanma oranı %26.9(n=21) bulunmuştur (Şekil 11). KDT ile pozitif sonucu en fazla veren antibiyotik sefotaksim (%70/n=56) olmuştur. KDT sonuçları tablo 26 'da verilmiştir. (KDT çalışılan pozitif izolatların sonuçları ve pozitiflik verdiği antibiyotik türleri Ek 3'te verilmiştir).



Şekil 11. Türlerde KDT Pozitif Saptanma Oranı

Tablo 26. Çift Disk Sinerji Testi ve Kombinasyon Disk Testi Sonuçları

Bakteri Cinsi	Toplam İzolat	ÇDST Pozitif İzolat Sayısı(n)	KDT Pozitif İzolat Sayısı(n)
<i>Enterobacter spp.</i>	78	12	21
<i>Citrobacter spp.</i>	15	7	10
<i>Providencia spp.</i>	23	14	23
<i>Serratia spp.</i>	16	7	14
<i>Morganella spp.</i>	21	1	12
<i>Hafnia spp.</i>	1	0	0
Toplam	153	41(%26.6)	80(%51.9)

Bu izolatlar kromozomal AmpC beta laktamaz üreticisi olduğu için KDT testi referans test olarak kabul edilip istatistiksel analiz yapılmıştır. Çalışmaya dahil edilen toplam 154 Enterobacterales izolatında GSBL varlığını saptamak amacıyla uygulanan ÇDST ve KDT sonuçları karşılaştırmalı olarak analiz edilmiştir. Yapılan değerlendirmede, her iki testin sonuçları arasındaki dağılım Tablo 27'te sunulmuştur.

İki yöntemin birbiriyle olan uyumunu belirlemek amacıyla yapılan Cohen's Kappa analizi sonucunda, Kappa katsayısı **0,324** olarak hesaplanmıştır. Bu değer, ÇDST ve KDT yöntemleri arasında "**orta-zayıf düzeyde**" bir uyum olduğunu göstermektedir.

Yöntemlerin GSBL saptama performansları arasındaki farkın istatistiksel anlamlılığı McNemar testi ile incelenmiştir. Analiz sonucunda iki test arasındaki fark ileri düzeyde istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ($p < 0,001$). KDT, ÇDST yöntemine göre GSBL pozitifliğini saptamada belirgin derecede daha yüksek bir başarı göstermiştir.

KDT ile GSBL pozitifliği saptandığı halde, ÇDST ile "yalancı negatif" sonuç alınan izolat sayısı **46 (%29,9)** olarak belirlenmiştir. Bu uyumsuz izolatların tür düzeyindeki dağılımı incelendiğinde; en fazla türün *Enterobacter* spp. (n=14) olduğu, bunu sırasıyla *Morganella* spp. (n=11), *Providencia* spp. (n=9), *Serratia* spp. (n=7) ve *Citrobacter* spp. (n=5) izolatlarının takip ettiği saptanmıştır.

Tablo 27. ÇDST ve KDT Sonuç Dağılım Tablosu

	KDT Negatif (n)	KDT Pozitif (n)	Toplam (n)
ÇDST Negatif	67	46	113
ÇDST Pozitif	7	34	41(%26.6)
Toplam	74	80(%51.9)	154

4.4.1.3. AmpC Beta Laktamaz Saptama Kiti

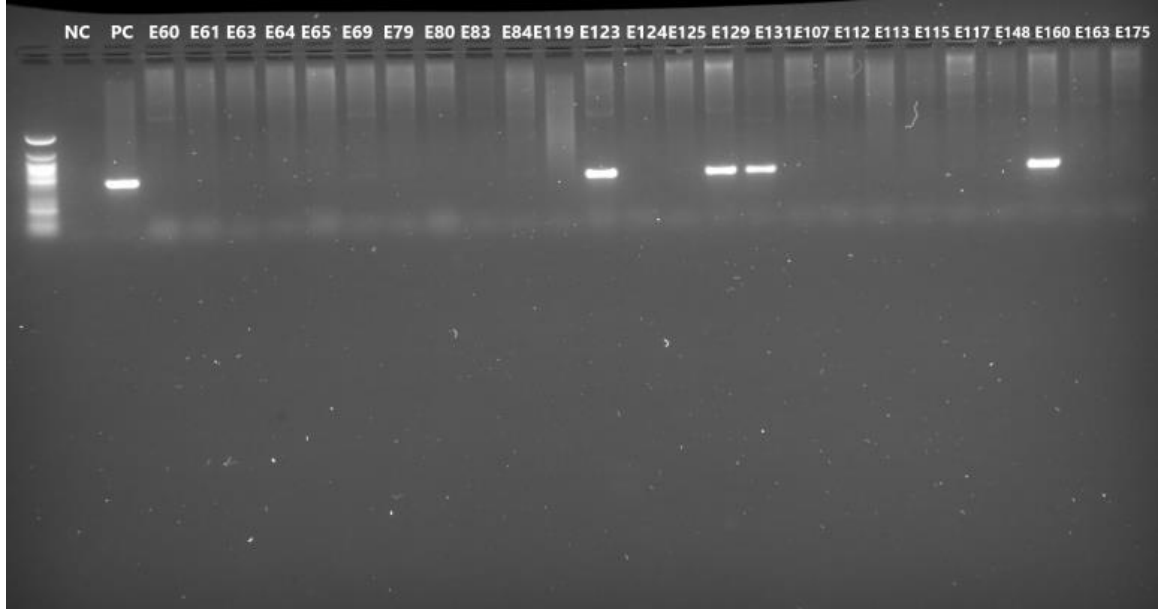
Çalışmamıza dahi edilen kökenler kromozomlarında doğal indüklenebilir AmpC geni taşıdıkları için fenotipte sefoksitin direnci saptanan 132 izolata AmpC saptama kiti ile doğrulama yapılmamıştır. Kalan sefoksitin duyarlı saptanan 20 izolatta ise AmpC beta laktamaz üretimini doğrulamak amacıyla MastDiscKombi (Birleşik Krallık) kiti kullanılarak doğrulama testi yapılmıştır. 20 (%12,98) Sefoksitin duyarlı saptanan toplam 20 izolatın %60'ında (n=12) AmpC beta-laktamaz üretimi pozitif bulunurken, %40'ında (n=8) AmpC üretimi negatif olarak saptanmıştır. (Tablo 28.) AmpC kiti ile pozitif saptanan (n=12) türlerin büyük çoğunluğunun *Morganella* türüne (n=9) ait olduğu saptanmıştır. Buna karşılık *Enterobacter*, *Citrobacter* ve *Hafnia* türlerinde pozitiflik saptanmamıştır.

Tablo 28. Sefoksitin Duyarlı İzolatların Bakteri Türüne Göre AmpC Saptama Kiti Sonuçları

Bakteri Cinsi / Türü	Toplam İzolat (n)	AmpC Pozitif n (%)	AmpC Negatif n (%)
<i>Morganella spp.</i>	10	9 (%90)	1 (%10)
<i>Providencia spp.</i>	3	1 (%33.3)	2 (%66.7)
<i>Serratia spp.</i>	2	2 (%100)	0 (%0)
<i>Citrobacter spp.</i>	2	0 (%0)	2 (%100)
<i>Enterobacter spp.</i>	2	0 (%0)	2 (%100)
<i>Hafnia spp.</i>	1	0 (%0)	1 (%100)
Toplam	20	12 (%60)	8 (%40)

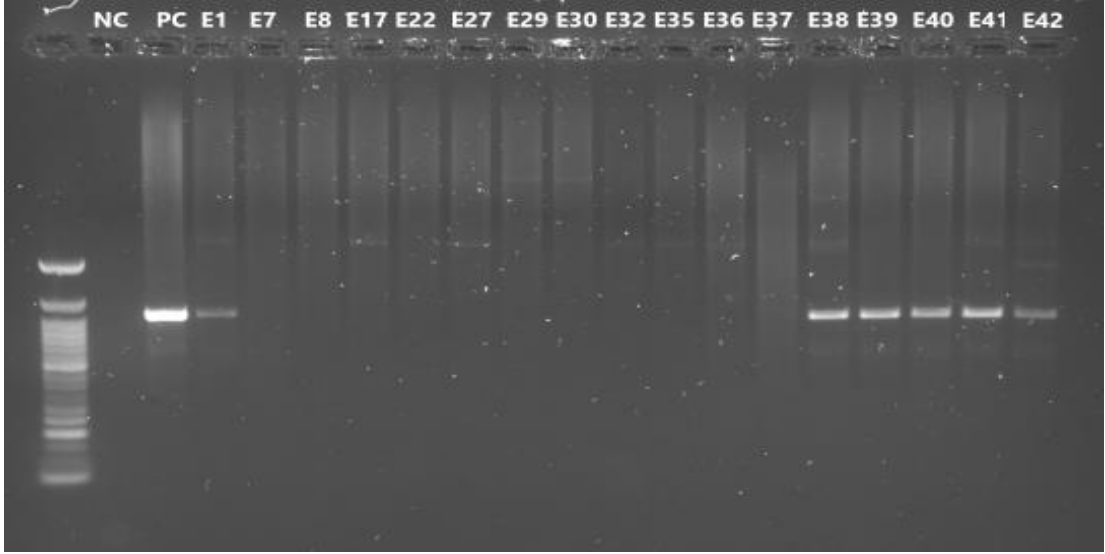
4.3.2. Moleküler Testler

Seçilen 154 izolatın tümüne AmpC beta laktamaz, GSBL ve Karbapenemaz genleri belirtilen primerler ile çoğaltılıp PCR reaksiyonu gerçekleştirildikten sonra agaroz jel elektroforezde yürütülmüştür. AmpC genlerinden MOX ve FOX, GSBL genlerinden CTX-M-15, effluks pompalarında *acrA*, *acrB*, *tolC*, karbapenemaz genlerinden SME'nin PCR optimizasyonu sağlanamadığı için bu genlerin sonuçları verilememiştir. Çalışılan bazı genlere ait görüntüler aşağıda verilmiştir. (Tüm izolatların çalışılan gen sonuçları tezin Ek 1'de verilmiştir.)

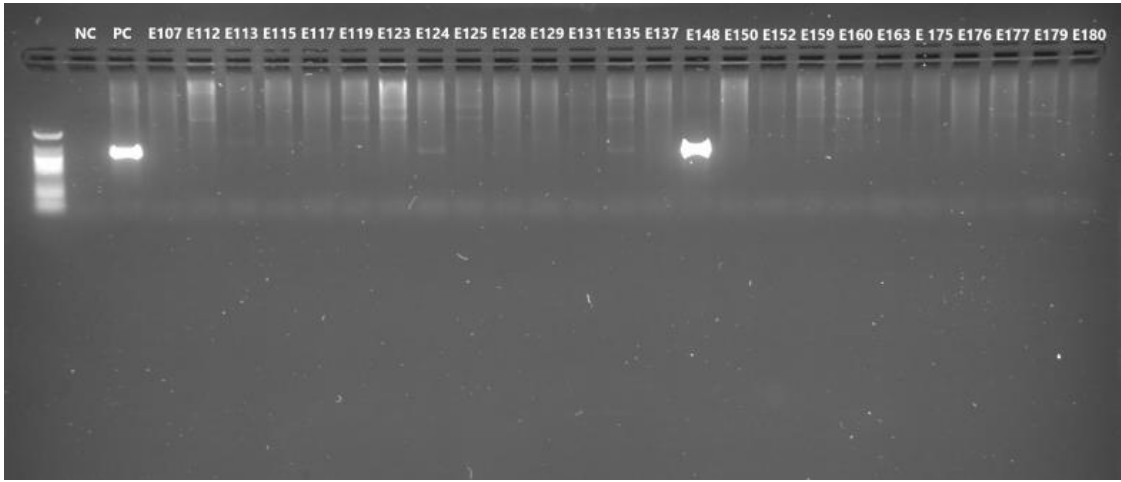


Şekil 12. PCR ile CTX-M Grup 1 geni pozitif saptanan izolatlara ait jel görüntüsü

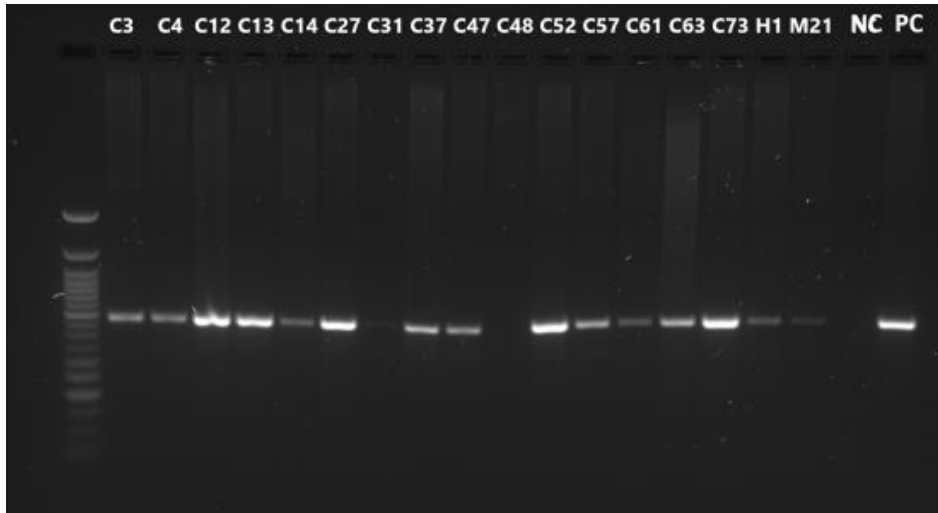
PC:Pozitif kontrol/NC:Negatif kontrol



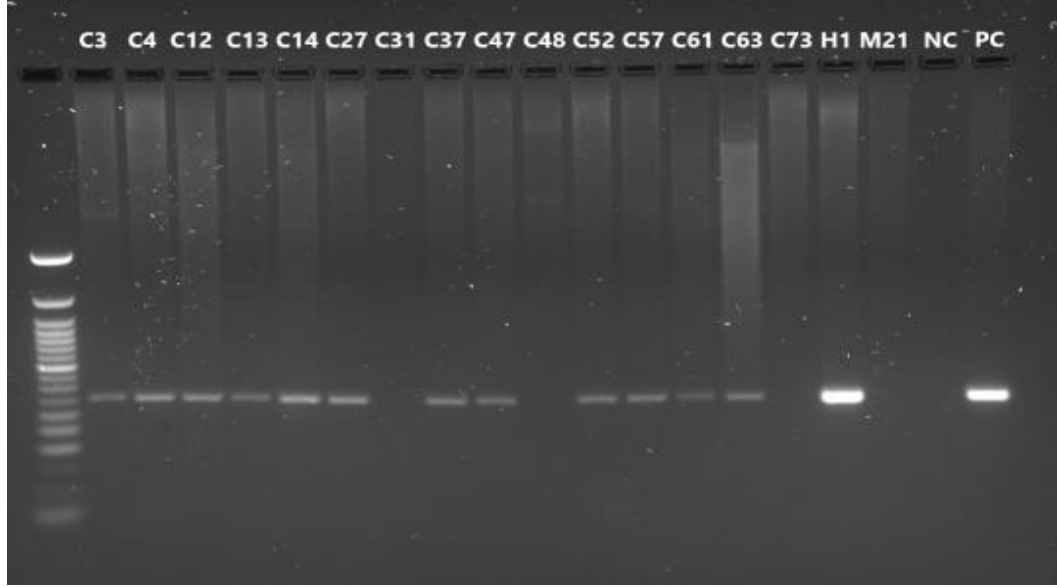
Şekil 13. PCR ile TEM geni pozitif saptanan izolatlara ait jel görüntüsü



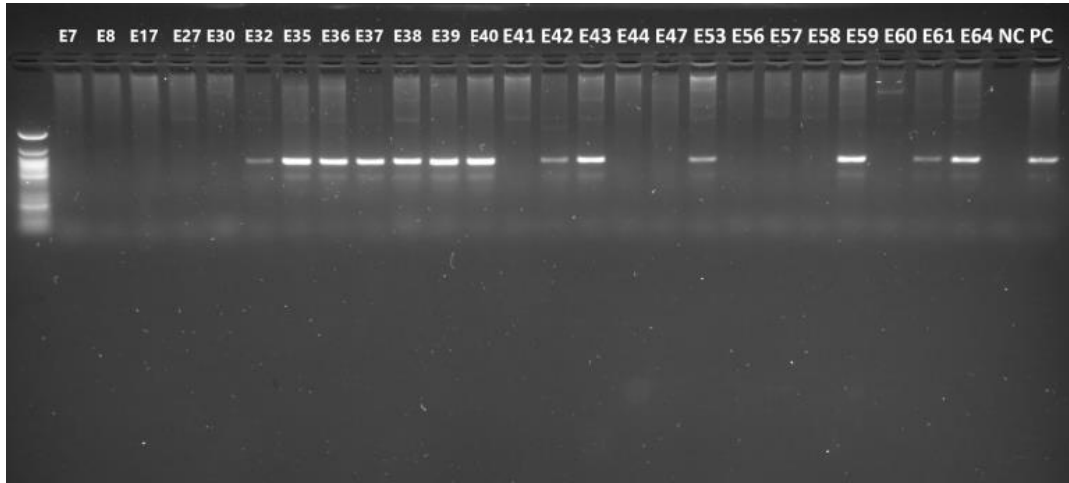
Şekil 14. PCR ile SHV geni pozitif saptanan izolatlara ait jel görüntüsü



Şekil 15. PCR ile CMY-2 geni pozitif saptanan izolatlara ait jel görüntüsü



Şekil 16. PCR ile ACC geni pozitif saptanan izolatlara ait jel görüntüsü



Şekil 17. PCR ile NDM geni pozitif saptanan izolatlara ait jel görüntüsü

Moleküler analizler neticesinde, incelenen izolatlarda en yüksek oranda tespit edilen direnç genleri; GSBL için CTX-M Grup 1(%44,8; n=69), AmpC beta-laktamaz için CIT (%55,8, n=86) ve karbapenemaz için ise NDM (%14,9; n=23) olarak belirlenmiştir (Tablo 29).

- Genişletilmiş Spektrumlu Beta-Laktamaz (GSBL) Genleri: İzolatlar arasında en yüksek prevelansa sahip GSBL geni *blaCTX-M Grup 1* (%44,8) olarak belirlenmiştir. Bu genin özellikle *Serratia* (%87,5) ve *Providencia* (%82,6) suşlarında baskın olduğu saptanmıştır. Diğer direnç genlerinden *blaTEM* %16,2 oranında saptanırken, *blaSHV* %5,2 ile en düşük oranda saptanan gen olmuştur.

- Karbapenemaz Genleri: Çalışma kapsamında yalnızca *blaNDM* (%14,9) ve *blaOXA-48* (%6,5) karbapenemaz genleri tespit edilmiştir. Bu genlerin büyük bir çoğunluğunun *Enterobacter spp.* izolatlarında (*blaNDM* n=20; *blaOXA-48* n=8) olduğu saptanmış olup, bu tür karbapenem direnci yönünden öne çıkmıştır. *Providencia* türlerinde *blaNDM*, *Citrobacter* türlerinde ise *blaOXA-48* geni baskın gen olarak tespit edilmiştir. Buna karşın, incelenen izolatların hiçbirinde *blaIMP*, *blaVIM* ve *blaKPC* gen varyantlarına rastlanmamıştır.
- AmpC Beta-Laktamaz Genleri: Sefalosporin direnciyle ilişkili AmpC genlerinden *blaCIT* %55,8, *blaCMY-2* ise %46,8 oranında yüksek pozitiflik göstermiştir. İncelenen *Providencia* izolatlarının tamamında hem *blaCIT* hem de *blaCMY-2* gen birlikteliği saptanmıştır. Toplamda 40 izolatta saptanan EBC geninin tamamının ise yalnızca *Enterobacter spp.* (%51,3) suşlarında bulunması türe özgü bir dağılım olarak kaydedilmiştir. AmpC direnç gen çeşitliği en çok *Citrobacter* türlerinde görülmüştür (*blaCIT*, *blaCMY-2*, *blaACC* ve *blaDHA*)

Tablo 29.Moleküler Testler ile Tespit Edilen Gen Grupları

Direnç Grubu	Gen	ECC n=78 (% 50.64)	C n=15 (%9.74)	S n=16 (%10.38)	M n=21 (%13.63)	P n=23 (%14.93)	H n=1 (%0.64)	Toplam n=154
GSBL	<i>bla CTX-M GRUP 1</i>	30 (%38.5)	3 (%20.0)	14 (%87.5)	3 (%14.3)	19 (%82.6)	-	69 (%44.8)
	<i>bla TEM</i>	11 (%14.1)	-	1 (%6.2)	1 (%4.8)	12 (%52.2)	-	25 (%16.2)
	<i>bla SHV</i>	4 (%5.1)	1 (%6.7)	-	2 (%9.5)	1 (%4.3)	-	8 (%5.2)
Karbapenemaz	<i>bla NDM</i>	20 (%25.6)	1 (%6.7)	-	-	2 (%8.7)	-	23 (%14.9)
	<i>bla OXA-48</i>	8 (%10.3)	2 (%13.3)	-	-	-	-	10 (%6.5)
	<i>bla IMP</i>	-	-	-	-	-	-	-
	<i>bla VIM</i>	-	-	-	-	-	-	-
	<i>bla KPC</i>	-	-	-	-	-	-	-
AmpC	<i>bla CIT</i>	26 (%33.3)	14 (%93.3)	10 (%62.5)	12 (%57.1)	23 (%100.0)	1 (%100.0)	86 (%55.8)
	<i>bla CMY 2</i>	10 (%12.8)	14 (%93.3)	12 (%75.0)	12 (%57.1)	23 (%100.0)	1 (%100.0)	72 (%46.8)
	<i>bla DHA</i>	5 (%6.4)	11 (%73.3)	7 (%43.8)	6 (%28.6)	20 (%87.0)	-	49 (%31.8)
	<i>bla EBC</i>	40 (%51.3)	-	-	-	-	-	40 (%26.0)
	<i>bla ACC</i>	3 (%3.8)	12 (%80.0)	8 (%50.0)	5 (%23.8)	-	1 (%100.0)	29 (%18.8)
E:Enterobacter spp C: Citrobacter spp. S :Serratia spp. M: Morganella morganii P :Providencia spp. H :Hafnia alvei								

4.3.2.1.Direnç Genleri ile Antibiyotik MİK'leri Arası Değerlendirme

NDM geni pozitif olan 23 izolatın ertapenem MİK50 düzeyi 64 µ/ml, MİK90 ise >64 µg/ml hesaplanmıştır. Meropenem için MİK50 düzeyi 32 µ/ml, MİK90 ise 64 µ/ml olarak hesaplanmıştır. CZA için MİK50-MİK90 ise >64 µg/ml olarak hesaplanmıştır. AZA için MİK50 0.25 µg/ml, MİK90 değeri ise 2 µg/ml olarak hesaplanmıştır.

OXA-48 geni pozitif olan 10 izolatın ertapenem MİK50 düzeyi 4 µ/ml, MİK90 ise 64 µg/ml hesaplanmıştır. Meropenem için MİK50 düzeyi 1 µ/ml, MİK90 ise 16 µ/ml olarak hesaplanmıştır. CZA için MİK50 0.5 µ/ml MİK90 64 µ/ml olarak hesaplanmıştır. AZA için MİK50 0.25 µg/ml, MİK90 değeri ise 1 µg/ml olarak hesaplanmıştır.

Karbapenemaz geni pozitif olan izolatların Mann-Whitney U testi sonuçlarına göre Ertapenem, Meropenem ve CZA MİK değerleri, geni negatif olan izolatlara kıyasla istatistiksel olarak anlamlı düzeyde daha yüksek bulunmuştur ($p < 0.001$).

OXA-48 ve NDM geninin birlikte olduğu 4 izolat irdelendiğinde ertapenem meropenem ve CZA MİK'lerinin ≥ 16 $\mu\text{g/ml}$ 'nin üzerinde olduğu tespit edilmiştir. Karbapenemaz gen birlikteliğinin olduğu 1 izolatta ise bütün antibiyotikler duyarlı kategoride kalmıştır. (MİK'ler 0.25-2 $\mu\text{g/ml}$)

4.3.2.2 ÇDTS VE KDT Sonuçları İle Direnç Genleri Arasındaki İlişkinin Değerlendirilmesi

ÇDST ile pozitif olarak saptanan toplam 41 izolatın genetik profiline bakıldığında, CTX-M Grup 1 geni en yaygın direnç mekanizması olarak öne çıkmaktadır. İzolatların %63,4'ünde ($n=26$) CTX-M Grup 1, %34,14'ünde ($n=14$) TEM, %7,3'ünde ($n=3$) SHV geni saptanmıştır.

ÇDST'de pozitiflik vermesine rağmen, 9 izolatta test edilen üç gen (CTX-M- grup 1, TEM, SHV) de negatif bulunmuştur.

KDT ile GSBL pozitifliği saptanan 80 izolatın genetik profiline bakıldığında, CTX-M Grup 1 geni en yaygın direnç mekanizması olarak öne çıkmaktadır. İzolatların 56.25'inde ($n=45$) CTX-M Grup 1, %20'sinde ($n=16$) TEM, %7,5'inde ($n=6$) SHV geni saptanmıştır.

KDT ile yakalanan 12 *Morganella* izolatının 7'sinde hiçbir gen bulunmamıştır. KDT ile pozitif bulunan 10 *Citrobacter* izolatının 6'sında gen saptanmamıştır.

4.3.3 Tüm Genom Sekanslama (WGS)

GSBL, AmpC Beta Laktamaz ve Karbapenemaz genleri çalışılan 154 izolat içerisinde fenotip-genotip uyumsuzluğu olan 8 izolatın (4 *ECC*, 1 *Citrobacter*, 2 *Serratia*, 1 *Providencia* kökeni) tüm genom analizi "Massive Bioinformatics ARGE Teknolojileri A.Ş." tarafından yapılmıştır.

İleri moleküler karakterizasyon amacıyla seçilen 4 *Enterobacter* izolatına uygulanan Tüm Genom Sekanslama (WGS) analizi sonucunda, suşların tamamının *Enterobacter*

hormaechei türü olduğu belirlenmiştir. İzolatların sekans tipleri (ST), barındırdıkları beta-laktamaz ve diğer antibiyotik direnç genleri ile mobil genetik elementlerden plazmidik insersiyon sekanslarının (IS) dağılımı Tablo 30'da ayrıntılı olarak gösterilmiştir.

Tüm genom sekanslaması yapılan dört *Enterobacter hormaechei* izolatının farklı sekans tiplerine (ST1753, ST182, ST279 ve ST728) sahip poliklonal bir yapı sergilediği belirlenmiştir. Beta-laktamaz profilleri değerlendirildiğinde, türün intrensek AmpC geni olan *blaACT* varyantlarının tüm izolatlarda korunduğu görülmüştür. Direnç determinantları incelendiğinde; E37 izolatının MBL *blaNDM-6* ve yüksek düzey aminoglikozid direnci sağlayan *rmtC* genini taşıdığı saptanırken, E57 izolatının *blaOXA-48*, *blaCTX-M-15* ve *blaACT-16* genlerini bir arada barındıran yüksek riskli bir ortak üretici (co-producer) olduğu görülmüştür. GSBL üretimi açısından incelendiğinde E41 izolatında *blaCTX-M-15* ve *blaTEM-1/1B* genleri öne çıkarken, E58 izolatında herhangi bir GSBL veya karbapenemaz saptanmamasına rağmen mobilize kolistin direnç geni olan *mcr-10* tespit edilmesi klinik açıdan kritik bir bulgudur.

Karbapenemaz ve GSBL genlerinin yanı sıra, *E. hormaechei* izolatlarının oldukça geniş bir çoklu direnç profiline sahip olduğu gözlenmiştir. Beta-laktamazlara ek olarak, izolatlarda yaygın şekilde saptanan kinolon direnç genleri (*aac(6')-Ib-cr*, *oqxA/B*, *qnrB1*), fosfomisin direnç geni (*fosA*) gibi genler suşların çoklu ilaç dirençli karakterini desteklemektedir. İzolatların plazmidik insersiyon sekansları açısından oldukça zengin bir mobiloma sahip olması, bu direnç determinantlarının yatay gen transferi ile kazanılmış olma ihtimalini ve klinikte yayılım riski taşıdığını güçlendirmektedir (Tablo 30).

Tablo 30. *Enterobacter hormaechei* İzolatlarına Ait WGS Bulguları

Bakteri türü	<i>Enterobacter hormaechei</i> (E37)	<i>Enterobacter hormaechei</i> (E41)	<i>Enterobacter hormaechei</i> (E57)	<i>Enterobacter hormaechei</i> (E58)
Direnç Genleri (Beta laktamaz)	<i>blaACT</i> <i>blaNDM-6</i>	<i>blaACT-16</i> , <i>bla CTX-M-15</i> <i>blaTEM-1</i> <i>blaTEM-1B</i>	<i>blaACT-16</i> , <i>bla CTX-M-15</i> <i>blaTEM-1</i> <i>blaTEM-1B</i> <i>blaOXA-48</i>	<i>blaACT141</i>
Diğer Direnç Genleri	<i>aph(3'')-Ib</i> <i>aph(6)-Id</i> <i>rmtc</i> <i>fosA</i> <i>oqx B</i> <i>sul1</i> <i>ble</i>	<i>aph(3'')-Ib</i> <i>aph(6)-Id</i> <i>aac(6')-Ib-cr</i> <i>oqx B, oqx A</i> <i>tet(A), tet(D)</i> <i>fosA</i> <i>dfrA14</i> <i>catB3</i> <i>aac(6')-Ib-cr5</i> <i>sul2</i>	<i>aph(3'')-Ib</i> <i>aph(6)-Id</i> <i>aac(3)-Ile</i> <i>aadA1</i> <i>aac(3)-IIa</i> <i>aac(6')-Ib-cr</i> <i>oqx B, oqx A</i> <i>catB3, catA1</i> <i>fosA</i> <i>qnrB1</i> <i>aac(6')-Ib-cr5</i> <i>sul2</i>	<i>oqx B, oqx A</i> <i>fosA</i> <i>mcr-10</i>
Sekans tipleri	ST1753	ST182	ST279	ST728
İnsersiyon Sekansları (plazmidik)	IS1, IS3, IS5, IS6, IS91	IS1, IS3, IS4, IS5, IS6, IS91, IS110, ISNCY	IS1, IS3, IS4, IS6, IS21, IS66, IS110, ISNCY	IS5, IS6, IS110, ISNCY

Analiz edilen iki *S. marcescens* izolatının her ikisinin de aynı sekans tipine (ST439) ait olduğu tespit edilmiş olup, benzer bir genetik arka planı paylaştıkları görülmüştür. Her iki izolatta da GSBL geni olarak *blaCTX-M-15* ve dar spektrumlu *blaOXA-1* tespit edilirken, kromozomal AmpC geni olan *blaSRT* saptanmıştır. S45 izolatı, bu profile ek olarak plazmid aracılı bir AmpC enzimi olan *blaCMY-6'yı* ve aminoglikozit direncine neden olan *rmtc* genini de taşımaktadır. Beta-laktam dışı antibiyotikler değerlendirildiğinde, her iki izolatta da plazmid aracılı kinolon direnç (PMQR) genlerinden *qnrB1* ve *qnrS1* ile *aac(6')-Ib-cr* saptanmış, aynı zamanda tetrasiklin (*tet(A)*), trimetoprim (*dfrA14*) ve kloramfenikol (*catB3*) direnç determinantları tespit edilmiştir. S32 ve S45 izolatlarında ortak olarak IS1, IS3, IS4 ve IS6 gibi önemli mobil genetik elementler saptanmıştır.

ST1150 sekans tipine sahip *C. koseri* izolatının genomunda yalnızca türe özgü dar spektrumlu *blaMAL-2* ve *blaCKO-1* beta-laktamaz genleri saptanmıştır. Bu izolatta, diğer

türlerde gözlemlenen kazanılmış bir beta-laktam veya beta-laktam dışı direnç genine (aminoglikozid, florokinolon vb.) rastlanmamıştır. Mobilom profilinin de sadece IS3 ve ISNCY ile sınırlı olduğu gözlenmiştir (Tablo 31).

WGS analizi yapılan *Providencia rettgeri* (P32, ST157) izolatu, klinik açıdan yüksek riskli ve yaygın ilaç dirençli bir profil sergilemektedir. İzolatta, karbapenem direncinden sorumlu MBL *blaNDM-1* geni ile, sefalosporin direncini destekleyen iki farklı plazmidik AmpC geni (*blaCMY-6*, *blaDHA-1*) ve *blaOXA-10* oksasilinazı saptanmıştır. Beta-laktam dışı antibiyotik gruplarına bakıldığında; izolatu aminoglikozid, sülfonamid, kloramfenikol, tetrasiklin, makrolid ve rifampin gibi oldukça geniş bir yelpazeye karşı direnç genleri taşıdığı görülmektedir. Son olarak, genomda yoğun olarak saptanan IS6, IS5 ve IS91 gibi mobil genetik elementler (insersiyon sekansları), bu güçlü direnç genlerinin hastane ortamında diğer bakterilere hızla aktarılma (yatay gen transferi) riskinin çok yüksek olduğunu göstermektedir.

Tablo 31. *C. koseri*, *S. marcescens* ve *P. rettgeri* İzolatlarına Ait WGS Bulguları

Bakteri türü	<i>Citrobacter koseri</i> (C63)	<i>Serratia marcescens</i> (S32)	<i>Serratia marcescens</i> (S45)	<i>Providencia rettgeri</i> (P32)
Direnç Genleri (Beta laktamaz)	<i>blaMAL-2</i> <i>blaCKO-1</i>	<i>blaOXA-1</i> <i>blaSRT</i> <i>blaCTX-M-15</i>	<i>blaOXA-1</i> <i>blaSRT</i> <i>blaCTX-M-15</i> <i>blaCMY-6</i>	<i>blaOXA-10</i> <i>blaNDM-1</i> <i>blaCMY-6</i> <i>blaDHA-1</i>
Diğer Direnç Genleri	-	<i>aac(6')-Ib-cr</i> <i>aac(6')</i> <i>aac(6')-Ic</i> <i>qnrB1</i> , <i>qnrS1</i> <i>tet(A)</i> <i>aac(6')-Ib-cr5</i> <i>catB3</i> <i>dfrA14</i>	<i>aac(6')-Ib-cr</i> <i>aac(6')</i> <i>aac(6')-Ic</i> <i>aac(6')-Ib3</i> <i>rmtc</i> <i>qnrB1</i> , <i>qnrS1</i> <i>tet(A)</i> <i>aac(6')-Ib-cr5</i> <i>catB3</i> <i>dfrA14</i> <i>sul1</i>	<i>aac(6')-Ib3</i> <i>aadA1</i> <i>ant(2'')-la</i> <i>catA1</i> <i>catB8</i> <i>sul1</i> <i>tet(B)</i> <i>tet(57)</i> <i>ble</i> <i>dfrA14</i> <i>arr-2</i> <i>msr(E)</i> <i>mph(E)</i>
Sekans tipleri	ST1150	ST439	ST439	ST157
İnsersiyon Sekansları (plazmidik)	IS3,ISNCY	IS1, IS3, IS4, IS6	IS3, IS4, IS5, IS6, IS110, IS1380	ISNCY, IS110, IS5, IS6,IS91,IS110

5. TARTIŞMA

Nadir görülen *Enterobacterales* türlerine bağlı enfeksiyonlar, özellikle son yıllarda sağlık hizmeti ilişkili enfeksiyonlar arasında önemli bir morbidite ve mortalite nedeni olarak öne çıkmaktadır. Sepsis, pnömoni, üriner sistem ve intraabdominal enfeksiyonlar gibi çeşitli klinik tabloların yanında, gıda kaynaklı pek çok enfeksiyon hastalığına da neden olabilmektedirler. Bu kökenlerde antibiyotik direnci de yıllar içerisinde artmaktadır[3].

Antimikrobiyal direnç (AMR), modern tıbbın karşı karşıya olduğu ve küresel halk sağlığını çok boyutlu olarak tehdit eden en büyük krizlerden biridir Dünya Sağlık Örgütü (DSÖ) tarafından 2024 yılında güncellenen, antibakteriyel ilaçların ve diğer halk sağlığı müdahalelerinin araştırma ve geliştirilmesine rehberlik etmek amacıyla, uzman görüşleri kullanılarak Bakteriyel Öncelikli Patojenler Listesini (BPPL) yayınlanmıştır. Karbapenem dirençli *Enterobacterales* ve üçüncü nesil sefalosporin dirençli *Enterobacterales* bu listede “Kritik Öncelikli Patojenler” kategorisinde yer almıştır [168].

Antimikrobiyal direncin başka bir grubunu tanımlayan ESKAPE patojenlerindeki 'E' harfi, genellikle *Enterococcus faecium* olarak değerlendirilmiş olsa da güncel epidemiyolojik veriler ışığında, *Enterobacter* türlerini ve ilişkili diğer minör *Enterobacterales* üyelerini de kapsayacak şekilde genişletilmiştir. Geleneksel klinik mikrobiyoloji pratiğinde uzun süre 'minör' etkenler olarak sınıflandırılan **ESCPM** (*Enterobacter*, *Serratia*, *Citrobacter*, *Providencia*, *Morganella*) grubu; günümüzde sahip oldukları intrensek direnç mekanizmaları ve genetik plastisite sayesinde büyük bir epidemiyolojik sorun haline gelmiştir [169].

ESCPM grubunun temel özelliklerinden biri, kromozomal olarak kodlanan veya indüklenebilen AmpC beta-laktamaz enzimi barındırmalarıdır. Hastane ortamında maruz kaldıkları yoğun yatay gen transferi, bu bakterilerin yalnızca kendi intrinsek mekanizmalarıyla yetinmeyip, plazmid aracılı GSBL'leri ve karbapenemazları da bünyelerine katmalarına olanak tanımıştır. Bu durum, ESCPM grubunun artık ikincil patojen olmaktan çıkıp, çoklu ilaç direnci gösteren ana nozokomiyal ve toplum kökenli patojenler statüsüne yükseldiğini kanıtlamaktadır[169].

Ülkemizde özellikle bu türlerle yapılmış kapsamlı literatür bulunmamakla birlikte dünya genelinde ise sınırlı sayıda çalışma bulunmaktadır. Çalışmamız kapsamında klinik örneklerden izole edilen 448 izolat değerlendirilmiştir. Bu izolatların %42,41'ini *ECC*, %18,30'unu *Morganella*, %15,40'ını *Citrobacter*, %14,95'ini *Serratia*, %8,48'ini *Providencia* ve %0.44'ünü *Hafnia* türleri oluşturmaktadır. Ayrıca 3. kuşak sefalosporin dirençli izolatlar arasından seçilerek tezin ana konusu olan direnç karakterizasyonunun yapıldığı 154 izolatın dağılımı incelendiğinde; bu grupta da en sık *ECC* (%50,6), *Morganella* (%13,6) ve *Serratia* (%10,4) türleri tespit edilmiştir. Çalışmamızdan elde edilen izolatların tür dağılımı, Avrupa genelindeki güncel epidemiyolojik verilerle paralellik göstermektedir. Avrupa'daki 27 hastaneyi kapsayan çok merkezli geniş bir kohort çalışmasında (EuESCPM) da en sık *ECC* ve *S. marcescens* türleri tespit edilmiştir [169].

Çalışmamıza ESCPM üreyen toplam 145 adet idrar örneği dahil edilmiştir. Bu idrar örneklerinden en sık *ECC* türleri(n=67) izole edilmiş olup, izole edilen ***ECC* suşlarının %65,7'sinin poliklinik** hastalarına ait olduğu belirlenmiştir. Bu durum; nozokomiyal karakteri ve ÇİD potansiyeliyle bilinen bu etkenlerin, direnç genlerini topluma taşıyarak toplum kaynaklı idrar yolu enfeksiyonlarında da dikkate değer bir epidemiyolojik tehdit oluşturmaya başladığına işaret etmektedir. Benzer şekilde, geniş kapsamlı SMART (2018-2019) surveyans verilerinin analiz edildiği bir çalışmada, orta gelirli ülkelerde toplum ve hastane kaynaklı *Enterobacterales* enfeksiyonlarında benzer MİK dağılımlarının gösterilmiş olması direnç profilinin yalnızca hastane ortamında kalmadığını desteklemektedir.[170].

Çalışmamıza dahil edilen 145 **yara örneğinin** 32'sinde ***M. morganii*** izole edilmiş olup, bu mikroorganizma yara kültürlerinden en sık izole edilen tür olmuştur. İlgili örneklerin

%62,5'i **yataklı servislerde** yatan **yetişkin ve 65 yaş üzeri** hastalardan izole edilmiştir. Enfeksiyonlarının epidemiyolojisi ve klinik özelliklerinin incelendiği çok merkezli retrospektif bir çalışmada, bu patojenlerin özellikle ileri yaş grubundaki ve ek komplikasyonları olan bireylerde anlamlı düzeyde yüksek prevalansa sahip olduğu bildirilmiştir[171]. Genellikle sekonder bir etken olarak değerlendirilen *M.morganii*'nin, özellikle cerrahi alan, dekübit ve diyabetik ayak gibi yara bölgelerinde yüksek oranlarda izole edilmesi literatürle uyumluluk göstermektedir [49]. Ancak bu lokalize doku enfeksiyonları, hastaların klinik seyrini ve prognozunu olumsuz etkileyebilecek bir potansiyele sahiptir. Literatürde *M. morganii* sepsisine odaklanan çok merkezli bir çalışmada, enfeksiyon odağı yara ve yumuşak doku olan hastaların mortalite ve prognoz açısından ciddi risk altında olduğu, ayrıca intrinsek direnç özelliklerinin de ampirik tedavi başarısızlıklarını tetiklediği bildirilmiştir [172] Yara örneklerinde saptadığımız *M. morganii* suşları, ampirik tedavi seçiminde bu patojenin doku invazyonu ve sepsis riskinin göz ardı edilmemesi gerektiğini göstermektedir.

Çalışmamız kapsamında değerlendirdiğimiz 67 *Serratia* türünün büyük çoğunluğu solunum yolu örnekleri(n=25) ve kan örneklerine(n=17) aittir. **Kan örneklerinden** izole edilen *Serratia* türlerinin %35,3'ü 0-17 yaş arası **pediatrik gruptan** ve bunun da çoğunluğu **yoğun bakım ünitelerinden** elde edilmiştir. *S. marcescens* izolatlarının yoğun bakım ünitesinde yatan hastalardan elde edilmesi, bu patojenin neonatal dönemdeki fırsatçı ve invaziv karakterini desteklemektedir. Literatürde *S. marcescens* 'in antibiyotik direnç mekanizmalarını ele alan yakın tarihli bir derlemede, bu mikroorganizmanın hastane ortamındaki kalıcılığına ve özellikle immün sistemi henüz gelişimini tamamlamamış prematüre bebekler ile yenidoğanlar için taşıdığı yüksek enfeksiyon riskine dikkat çekilmiştir [39]. Yoğun bakım ünitesinde gözlediğimiz bu prevalans, etkenin hastane florasında kolonize olarak hassas hasta gruplarında ciddi nozokomiyal salgınlara yol açma potansiyelini doğrulamaktadır.

Çalışmamız kapsamında otomatize sistemlerce 3.kuşak sefalosporin direnci saptanan 154 izolat fenotipik ve genotipik testler için seçilmiştir. Bu gruptaki değerlendirdiğimiz *Providencia* türlerinin (n= 23) %78.2'si (n=18) **yoğun bakım ünitelerinden** gelen örneklerden izole edilmiştir. Bu durum, mikroorganizmanın invaziv tıbbi cihaz kullanımına sekonder olarak fırsatçı bir enfeksiyon etkenine dönüştüğüne işaret

etmektedir. Girişimsel tıbbi cihazların kullanımıyla ilişkili olarak yüksek biyofilm oluşturma kapasitesine sahip olan *P. stuartii* ve *P. rettgeri*, yoğun bakım ünitelerinde maruz kalınan ağır antibiyotik baskısı nedeniyle dirençli fırsatçı etkenler haline gelmektedir. Nitekim güncel Avrupa sürveyans verilerinde de *Providencia* türlerinin karbapenem direnci (%42,7) ve karbapenemaz üretimi bakımından en yüksek oranları (%29,4) sergileyen bakteriler arasında bildirilmesi, çalışmamızda elde ettiğimiz yerel bulguların küresel literatürle olan uyumunu ortaya koymaktadır.[173].

Meropenem M K değerlerine göre dirençli olan izolatların elde edildiği hastaların yaşı ortalaması (medyan: 39 yaşı), meropenem duyarlı gruba (Medyan: 63 yaşı) kıyasla istatistiksel olarak anlamlı derecede daha geçen bulunmuştur (Mann-Whitney $p=0.030$). Meropenem duyarlı grupta idrar örnekleri baskınken; meropenem dirençli grupta izolatlar anlamlı ölçüde Kan ve ETA/BAL gibi invaziv örneklere kaymıştır (Ki-kare, $p=0.014$). Bu durum; NDM veya OXA-48 gibi gerçek karbapenemaz üreten suşların sadece yaşı hastaların üriner florasında kolonize olmadığını, doğrudan geçen/erişkin hastaların kan dolaşıma girerek yüksek virülanslı, akut ve ölümcül invaziv enfeksiyonlara yol açtığını kanıtlayan önemli bir epidemiyolojik bulgudur.

ESCPM grubu gibi *Enterobacterales* suşları, doğaları gereği kromozomal kaynaklı ind kylenebilir AmpC beta-laktamazlara sahiptir. Söz konusu enzimler, beta-laktam antibiyotiklerin tetikleyici baskısı altında veya regülatör sistemdeki işlevsel defektlere bağlı olarak aşırı düzeyde  retilenmektedir. Bu yüksek düzey ekspresyon durumu, üçüncü kuşak sefalosporinlerin enzimatik inaktivasyonuna yol a arak ciddi direnç profillerinin ortaya çıkmasına zemin hazırlamaktadır. Uluslararası kılavuzlar ve uzman önerilerine dayanarak, 3GC'lerin ESCPM grubu organizmaların neden olduğu enfeksiyonlar için kesin tedavi olarak kullanılmasından kaçınılması gerektiği önerilmektedir [3] . Çalışmamızda *Providencia spp.* izolatlarının %64,87'sinin 3. kuşak sefalosporinlere (Seftriakson, Seftazidim) karşı yüksek direnç sergilediği belirlenmiştir. *Morganella spp.* izolatlarında seftazidimde direnç oranı %62,3 iken, seftriaksonda direnç oranının %39,4 olduğu görülmüştür. *Citrobacter spp.* izolatlarında seftriakson direnci %51,6, seftazidim direnci %23 olarak bulunmuştur. *Serratia spp.* izolatlarında seftriakson direnci %23,8, seftazidim direnci %22,7 olarak saptanmıştır. En büyük hasta grubunu oluşturan *Enterobacter spp.* izolatlarında, seftriakson direnci %41, seftazidim direnci

%39,4, olarak saptanmıştır. Ülkemizde yürütülen bölgesel sürveyans verileri incelendiğinde; üçüncü basamak bir hastanede izole edilen *Enterobacter cloacae* ve *Klebsiella aerogenes* suşlarının beş yıllık antimikrobiyal direnç profillerinin değerlendirildiği güncel bir çalışmada, üçüncü kuşak bir sefalosporin olan sefiksim direncinin %60 gibi yüksek bir düzeyde seyrettiği bildirilmiştir[174]. Çalışmamızdaki 448 *Enterobacterales* izolatında saptanan yüksek üçüncü kuşak sefalosporin direnci, Boattini ve arkadaşlarının 2024 Avrupa kohortu (EuESCPM) için bildirdiği %15,7'lik oranın oldukça üzerindedir[169]. Literatürle aramızdaki bu belirgin fark; hem ülkemizin yer aldığı Doğu Akdeniz havzasındaki yoğun geniş spektrumlu antibiyotik seçim baskısıyla hem de üçüncü basamak bir referans hastanesi olmamızla açıklanabilir. Dış merkezlerde başarısız ampirik tedavi almış, uzun süreli hospitalizasyon öyküsü bulunan komplike olguların merkezimize kabul edilmesi lokal direnç oranlarımızı doğrudan artırmaktadır. Elde ettiğimiz bu yüksek direnç hızları, ampirik tedavi protokollerinin bölgesel sürveyans verileri ışığında dinamik olarak güncellenmesinin hayati önemini ortaya koymaktadır. Kohlmann ve arkadaşlarının türe özgü mutasyon oranları üzerine yaptıkları analizler, *ampC* derepresyon riskinin *Enterobacter cloacae* complex ve *Citrobacter freundii*'de son derece yüksek olduğunu kanıtlamıştır. Buna karşılık, özellikle *Morganella* izolatlarında stabil derepresyon mutasyonlarının ortaya çıkma frekansı çok daha düşüktür [175]. Daha eski bir prospektif kohortta ise, geniş spektrumlu sefalosporin tedavisi sırasında direnç gelişimi özellikle *Enterobacter spp.*'de daha sık görülmüştür[137]. Bu durum, *Enterobacter* enfeksiyonlarında monoterapi olarak kullanılan üçüncü kuşak sefalosporinlerin klinik başarısızlık ve mortalite ile doğrudan ilişkili olduğunu açıklarken, diğer türlerdeki riskin de derecelendirilmesi gerektiğine işaret eder.

Çalışmamız kapsamında dördüncü kuşak sefalosporin olan sefepime karşı direnç oranı %53 (n=71) olarak bulunmuştur. Tür bazında en yüksek direnç oranları Providencia (%100) ve Serratia (%80,95) türlerinde saptanmıştır. ECC türlerinde ise bu oran %51,5 olarak saptanmıştır. Sefepim, zwitteriyonik yapısının sağladığı hızlı membran geçişi ve AmpC enzimine karşı yapısal stabilitesi nedeniyle, genel olarak AmpC üreten *Enterobacterales* enfeksiyonlarında güvenilir bir ajan kabul edilmektedir. Buna karşın çalışmamızda sefepim direncinin %53 gibi oldukça yüksek bir seviyede saptanması, yerleşik farmakodinamik öngörülerin, güncel epidemiyolojik verilerle belirgin bir

uyumsuzluk sergilediğini ortaya koymaktadır. Özellikle bölgesel hastane floramızda çoklu direnç determinantlarının (GSBL ve karbapenemazlar) hızla yayıldığı göz önüne alındığında, ajanın tek başına AmpC stabilitesine güvenilerek ampirik tedavide konumlandırılması riskli ve yetersiz bir yaklaşım olarak değerlendirilmektedir. Çalışmamızda *Morganella* türlerinde %5 sefepim direnci saptanmıştır. AmpC derepresyonunun sefepim MIC değerlerini artırdığı bilinse de, duyarlı kategoriden dirençli kategoriye geçişin *Morganella* gibi türlerde çok nadir olduğu bildirilmiştir [175].

Karbapenemler (imipenem, meropenem, ertapenem); GSBL ve yüksek düzeyde AmpC üreten suşlara karşı en etkin ve güvenilir tedavi seçenekleri olarak kabul edilmektedir. Amerikan Bulaşıcı Hastalıklar Derneği (IDSA) bu mikroorganizmaların neden olduğu enfeksiyonların tedavisinde GSBL enzimi üretme riskinin yüksek olması nedeniyle sefepimin MİK değerleri 2 mg/L'den yüksek olduğunda karbapenemlerin kullanılmasını önermektedir[176]. *Providencia spp.*, *Proteus spp.* ve *Morganella morganii* türlerinin imipeneme karşı doğal yollarla azalmış bir duyarlılık profili (yüksek MİK değerleri) sergilemesi ve bu durumun klinik pratikte zorunlu bir yüksek doz kullanımına yol açması gerekçesiyle, imipenem duyarlılığının araştırılması bu çalışmanın kapsamı dışında tutulmuştur. Çalışmamız kapsamında disk difüzyon yöntemi ile ertapenem direnci %41 meropenem direnci ise %21 olarak bulunmuştur. Ertapeneme karşı en fazla direnç *ECC* (%64,2) ve *Serratia* (%56,3) türlerinde tespit edilmişken meropeneme karşı en fazla direnç oranı *Serratia* türlerinde (%50) saptanmıştır. Çalışmamızda saptanan karbapenem direnç profilinin tür bazındaki dağılımı, literatürdeki çok merkezli güncel Avrupa verileriyle hem genel oranlar hem de baskın patojenler açısından dikkat çekici farklılıklar göstermektedir. Avrupa genelinde 27 hastaneyi kapsayan geniş ölçekli EuESCPM kohort çalışmasında kromozomal AmpC taşıyan *Enterobacterales* izolatlarında genel karbapenem direnç oranı %9,5 olarak rapor edilmiş ve bu direncin en yüksek oranda *Providencia* türlerinde kümелendiği bildirilmiştir[169]. Buna karşın, bizim çalışmamızda karbapenem direncinin fenotipik olarak ağırlıklı olarak *Enterobacter* ve *Serratia* türlerinde yoğunlaşması, lokal floramızın moleküler epidemiyolojik açıdan Avrupa kohortundan belirgin şekilde ayrıştığını ortaya koymaktadır. Ülkemizde *ECC* izolatlarına özgü yürütülen bir araştırmada ertapenem direnci %18-26, meropenem direnci ise %8-10 olarak bildirilmiştir[177]. Çalışmamızın ertapenem disk direncine göre seçilen 64 izolatlık kısmında ertapenem ve meropenem için yapılan sıvı mikrodilüsyon testinde

ertapenem ve meropenem direnç oranı sırasıyla %76,2 ve %48,3' tespit edilmiştir. Bu bulgulara göre hem disk difüzyon hem de sıvı mikrodilüsyon ile ertapenemde direnç oranı meropeneme oranla daha fazla saptanmıştır. Çalışmamız kapsamında ertapenem ve meropenem için MİK50/ MİK90 değerleri sırasıyla 8/>32 µg/ml ve 8/64mg/L bulunmuştur. Ayrıca karbapenemaz gen varlığı ile Meropenem MİK değerleri arasında ileri düzeyde anlamlı bir ilişki (Pearson $\chi^2 = 11.434 = 11.434$; $p=0.001$) bulunurken, Ertapenem MİK değerleri ile karbapenemaz genleri arasında hiçbir anlamlı ilişki saptanmamıştır ($p=1.000$). Ertapenem direncinin temel nedeni, molekülün büyük ve negatif yüklü yapısı sebebiyle dış membran porinlerinden (özellikle OmpC ve OmpF) geçişinin oldukça kısıtlı olmasıdır. Bakterinin antibiyotik baskısı altında porin ekspresyonunu azaltması (down-regülasyon) ve hücre içine sızabilen sınırlı miktardaki ilacın mevcut GSBL veya AmpC enzimleri tarafından hidrolize edilmesi, klinik düzeyde yüksek dirence yol açar. Bu sinerjik durum, ortamda gerçek bir karbapenemaz geni bulunmasa dahi bakterinin fenotipik olarak yüksek ertapenem direnci geliştirebildiğini göstermektedir. Bu mekanizma sebebiyle, izole ertapenem direnci karbapenemaz varlığını öngörmekte zayıf bir göstergedir [178]. Çalışmamızda moleküler analizler neticesinde en fazla tespit edilen karbapenemaz genleri *blaNDM* (%14,9) ve *blaOXA-48* (%6,5) olmuştur. Ayrıca bazı izolatlarda (n=4) iki genin birden varlığı tespit edilmiştir. Literatürde Akdeniz havzası karbapenemaz epidemiyolojisini inceleyen güncel yayınlar da Türkiye'nin OXA-48 tipi enzimler için endemik bir rezervuar olduğunu; son yıllarda uluslararası klonal yayılımı ülkemize giriş yapan NDM determinantlarının da bu gen profiline entegre olarak eş zamanlı taşıyıcılık oranlarını belirgin ölçüde artırdığını doğrulamaktadır [179]. Çalışmamızda saptanan karbapenemaz genlerinden *blaNDM* (%14,9; n=20) ve *blaOXA-48* (%6,5; n=8) genlerinin çoğunluğunun *ECC* izolatlarında kümелendiği dikkati çekmektedir. Bu durum *ECC* türlerinin bölgemizdeki mobil direnç genlerinin temel rezervuarı olarak işlev gördüğünü hücresel ve moleküler düzeyde doğrular niteliktedir. Gerçekleştirdiğimiz duyarlılık analizlerinde, bu iki genin eş zamanlı varlığını barındıran izolatlarda ertapenem, meropenem ve CZA için MİK değerlerinin >16 µg/ml seviyelerine çıkması, söz konusu enzimatik yükün in vitro duyarlılık üzerinde yarattığı yüksek fenotipik direnci net bir biçimde ortaya koymaktadır. Bununla birlikte çalışmamızda *blaVIM*, *blaIMP* ve *blaKPC* gibi diğer majör karbapenemaz genlerine hiç rastlanmamış olması, bölgemizin moleküler epidemiyolojik profilini ve klonal

dinamiklerini tanımlamak açısından spesifik ve ayırt edici bir bulgudur. Bu durum ülkemizin Avrupa'nın geri kalanından (özellikle Yunanistan ve İtalya gibi KPC/VIM endemik ülkelerden) ayrıştığını göstermektedir. Bu bulgu, Avrupa Hastalık Önleme ve Kontrol Merkezi (ECDC) tarafından yürütülen EuSCAPE projesi verileriyle tam bir uyum içindedir. Söz konusu raporda; KPC ve VIM genlerinin Güney Avrupa'da kümелendiği, ülkemizin de içinde bulunduğu Doğu Akdeniz havzasında ise OXA-48 ve NDM tipi karbapenemazların hiperendemik olarak baskınlık kurduğu bildirilmiştir[180]. Aynı şekilde, ülkemizin farklı bölgelerinden bildirilen lokal sürveyans raporlarıyla da tam bir uyum sergilemektedir. Nitekim ülkemiz merkezli yakın tarihli bir moleküler epidemiyoloji çalışmasında da yoğun bakım izolatlarında KPC ve IMP genlerine hiç rastlanmadığı; direnç profilinin tamamen NDM ve OXA-48 taşıyıcılığı (özellikle ikili ko-ekspresyonlar) üzerinden şekillendiği bildirilmiştir. Bu uyum, hastanemizin yer aldığı bölgedeki dirençli gen havuzunun ulusal karbapenemaz profilini başarılı bir şekilde yansıttığını kanıtlamaktadır[181].

Dirençli ESCPM izolatlarında konvansiyonel antibiyotiklerin (üçüncü ve dördüncü kuşak sefalosporinler, florokinolonlar, karbapenemler) klinik etkinliğini kaybetmesiyle birlikte, tedavi seçenekleri yeni nesil beta-laktam/beta-laktamaz inhibitörü (BL/BLİ) kombinasyonlarına ve siderofor sefalosporinlere yönelmiştir.

Seftazidim-avibaktam, çoklu ilaca dirençli gram-negatif bakteriyel enfeksiyonların tedavisinde birinci basamak ajan olarak kullanılmaktadır. Çalışmamız kapsamında değerlendirilen 154 izolatın disk difüzyon sonuçlarına göre CZA genel direnç oranı %25,4 olarak saptanmıştır. Tür bazında *Morganella*, *Serratia*, *Citrobacter* ve *Hafnia* türlerinde CZA'ya karşı direnç görülmezken CZA'ya karşı en fazla direnç *Providencia* (%47,9) ve *ECC* (%35,9) türlerinde saptanmıştır. Çalışmamızın ertapenem disk direncine göre seçilen 64 izolatlık kısmında yapılan sıvı mikrodilüsyon testinde CZA direnç oranı %42,9 olarak tespit edilmiştir. Sıvı mikrodilüsyon testinde ise tür bazında en fazla *Providencia*'da (%100) direnç görülürken bunu *ECC* (%44,9) takip etmiştir. Sıvı mikrodilüsyon testinde CZA'nın MİK50/MİK90 değerleri 1/>64 µg/ml tespit edilmiştir. CZA duyarlılığı için yapılan disk difüzyon testi ve sıvı mikrodilüsyon testi karşılaştırıldığında disk difüzyon testinin %14,81 VME ve %13,8 ME oranlarına ulaşması, bu antibiyotik türünün referans test olan sıvı mikrodilüsyonla çalışılmasını

gerekli kılmaktadır. Literatür değerlendirildiğinde genel *Enterobacterales* koleksiyonlarında CZA disk difüzyonunun sıvı mikrodilüsyon ile kategorik uyumu çok yüksektir; 30/20 µg disk için kategorik uyum genelde %99.4-99.8, VME %0.2-1.5 aralığındadır[182]. Bununla birlikte, karbapenemaz üretmeyen ancak karbapenem direnci gösteren veya AmpC ilişkili direnç mekanizmalarına sahip *Enterobacterales* alt gruplarında seftazidim-avibaktam (CZA) disk difüzyon testinin tanısal performansının düşük olduğu bildirilmiştir. Nitekim literatürdeki bir çalışmada, karbapenemaz negatif dirençli izolatlar için CZA disk testinin kategorik uyum (CA) oranı %80'de kalırken, çok büyük hata (VME) oranının %20 gibi yüksek bir seviyeye ulaştığı saptanmıştır[183]. Avrupa genelinde 27 hastaneyi kapsayan EuESCPM (2020-2022) çalışmasında, ESCPM izolatlarına karşı en etkili ajanın %95,7 duyarlılık oranı ile CZA olduğu (MİK 50 /MİK 90 2–8 µg/ml) bildirilmiştir. Çalışmamızda elde edilen verilerde *Morganella*, *Serratia*, *Citrobacter freundii* ve *Hafnia* türlerinde CZA'ya karşı direnç saptanmaması, Avrupa genelindeki bu yüksek etkinlikle güçlü bir paralellik göstermektedir. Ancak çalışmamızın genelinde saptanan %25,4'lük CZA direnç oranı Avrupa verilerinden daha yüksektir. Bu farklılığın temel nedeni, çalışmamızdaki *Providencia* (%47,9) ve *ECC* (%35,9) izolatlarında gözlenen belirgin direnç yüksekliğidir ve lokal epidemiyolojik farklılıkların önemini vurgulamaktadır. Karbapenem direnci gösteren izolatlar değerlendirildiğinde, CZA etkinliğinde her iki çalışmada da belirgin bir düşüş ivmesi gözlenmiştir. EuESCPM kohortunda karbapenem direnç fenotipi gösteren ESCPM izolatları arasında CZA etkinliği %66'ya gerilerken; çalışmamızda ertapenem direncine sahip izolatların sıvı mikrodilüsyon sonuçlarına göre CZA etkinliği %57,1 olarak saptanmıştır. Özellikle mikrodilüsyon testinde *Providencia* türlerinde gözlenen %100'lük CZA direnci dikkat çekicidir. Seftazidim-avibaktamın sınıf B metalo-beta-laktamazlara (MBL) karşı in vitro etkinliğinin bulunmadığı bilinmektedir. Çalışmamızda *Providencia* ve *ECC* özelinde Avrupa verilerine kıyasla daha yüksek saptanan direnç oranlarının, MBL (örneğin NDM) üreten klonların yaygınlığı ile ilişkili olabileceği düşünülmektedir [184]. Seftazidimin in vitro etkinliğini geri kazandıran avibaktam; Sınıf A (GSBL, KPC), Sınıf C (AmpC) ve Sınıf D (OXA-48) β-laktamazları etkili bir şekilde inhibe eder. Ancak aktif bölgesinde serin kalıntısı bulunmayan metalo-β-laktamazlara (NDM, VIM, IMP) ve *Acinetobacter* türlerindeki OXA tipi karbapenemazlara karşı inaktiftir [185]. Çalışmamızda aynı zamanda NDM ve OXA-48 genlerini birlikte taşıyan

ECC izolatlarında(n=4); CZA MİK50 ve MİK90 değerlerinin 64 µg/ml bulunması genotipik enzim yükünün in vitro duyarlılık fenotipi üzerindeki doğrudan etkisini ortaya koymaktadır.

Karbapenem dirençli *Enterobacterales*'in neden olduğu enfeksiyonların tedavi seçenekleri sınırlıdır ve yeni antibiyotiklerin geliştirilmesi acil bir gerekliliktir. İmipenem/relebaktam, çoklu ilaç dirençli bakterilerle ilişkili ciddi enfeksiyonların tedavisinde yakın zamanda kullanılmaya başlanmıştır. Çalışmamızda değerlendirilen IMR genel duyarlılık oranı %28,5 olarak saptanmıştır. En fazla direnç oranı %46,6 ile *Serratia* türlerinde, %29,33 ile de *ECC* türlerinde tespit edilmiştir. SMART gözetim programının bir parçası olarak küresel ölçekte toplanan gram-negatif basillerin klinik izolatlarına karşı IMR'nin aktivitesinin değerlendirildiği bir çalışmada, IMR direnci *Serratia marcescens* izolatlarında %29,8 gibi yüksek bir oranda saptanırken, *Enterobacter* türlerinde bu oran yalnızca %3,3 olarak bildirilmiştir. Bu durum IMR'ye karşı direncin *Serratia marcescens*'te KPC-3 ve SME-1 üretimiyle ilişkili olduğunu göstermiştir[186]. *Serratia*'ya özel klinik ve tür düzeyinde MİK verileri halen sınırlıdır. Mevcut çalışmalar, *Serratia* türleri için doğrudan ayrıntılı kırılım vermese de *Enterobacterales* verileri IMR ve özellikle MEV'in KPC/ESBL/AmpC aracılı dirençte yüksek in vitro etkinliğe sahip olduğunu, metallo-β-laktamaz üreten *Serratia* suşlarında ise etkisiz kalacağını düşündürmektedir. [187-189].

Meropenem-vaborbaktam KPC üreten *Enterobacteriaceae*'nin neredeyse %99'una karşı in vitro aktivite gösteren piyelonefrit dahil olmak üzere komplike idrar yolu enfeksiyonu olan hastalarda kullanım için ABD'de onaylanan ilk karbapenem β-laktamaz inhibitörü kombinasyonudur. Çalışmamız kapsamında disk difüzyon testi ile MEV genel direnç oranı %12,5 olarak saptanmıştır. Direnç oranı tür bazında değerlendirildiğinde en fazla direnç oranı *Serratia* türlerinde (%46,6) bulunmuştur. Literatür değerlendirildiğinde bu türlerin irdelendiği çalışmaya rastlanmamıştır. Yapılan çalışmalar genel *Enterobacterales* izolatları üzerinden olmakla birlikte İspanya'da *ECC* ve *K.aerogenes* üzerinde yeni βI/βLI kombinasyonlarının aktivitesinin değerlendirildiği SMART 2016–2022 çalışmasında *ECC* için MEV'in %95 üzerinde duyarlılık gösterdiği saptanmıştır [190].

Providencia izolatlarında CZA direnci, *Serratia* suşlarında ise hem MEV hem de IMR direnç oranlarının %46,6 gibi yüksek bir düzeyde saptanması, yeni nesil BL/BLI

kombinasyonlarının dirençli olguların yönetiminde her zaman etkinlik gösteremediğini kanıtlamaktadır.

Sefiderokol, bakterinin demir taşıma kanallarını (siderofor reseptörleri; cirA, fiu, piuA) kullanarak dış membranı aşan ve periplazmik aralığa giren, dolayısıyla porin kaybından veya efflux (atım) pompa direncinden etkilenmeyen bir ajandır. Tüm karbapenemaz sınıflarına (A, B, C, D) karşı yüksek stabilite gösterir. Çalışmamız kapsamında disk difüzyon yöntemi ile test edilen FDC'ye karşı %22,06 oranında genel bir direnç saptanmıştır. Tür bazında değerlendirildiğinde ise en fazla direnç ECC türlerinde (%40,84) meydana gelmiştir. Gözlemlenen bu %40,8'lik direnç oranı, bakterilerin demir reseptörlerinde gelişen in vivo mutasyonları yansıtır olabileceği gibi, daha güçlü bir ihtimal olarak ciddi bir tanısal metodolojik kısıtlılığa da işaret etmektedir. Sefiderokol'un in vitro duyarlılık testleri için altın standart yöntem, ortamdaki demir miktarının azaltıldığı katyon ayarlı Mueller-Hinton sıvı besiyerinde yapılan sıvı mikrodilüsyondur. Rutin laboratuvar pratiğinde FDC'nin standart disk difüzyon ile çalışılmış olması, zon çaplarındaki belirsizlikler, agar plaklarındaki markaya bağlı demir konsantrasyonu varyasyonları ve zayıf üreme nedeniyle ECC türlerinde yüksek oranda yalancı direnç üretebilir. FDC duyarlılığının disk difüzyon ile değerlendirildiği çalışmalar, disk difüzyonun FDC için yüksek Çok Büyük Hata, düşük kategorik uyum ve "teknik belirsizlik alanları" (ATU) yarattığını doğrulamaktadır. [191, 192].

Aztreonam-avibaktam, MBL üreten bakteriler dahil olmak üzere çoklu ilaç dirençli gram-negatif bakterilerle mücadele etmek için üretilmiş umut vadeden yeni bir kombinasyon tedavisidir. Monobaktam bir antibiyotik olan aztreonam, MBL'ler tarafından hidrolize karşı dirençlidir ancak diğer β -laktamazlar tarafından parçalanabilir. Yeni bir β -laktam olmayan β -laktamaz inhibitörü olan avibaktam ise, geniş spektrumlu β -laktamazları (ESBL) ve AmpC β -laktamazları etkili bir şekilde nötralize ederek aztreonamın dirençli patojenlere karşı etkinliğini geri kazandırır. Çalışmamız kapsamında hem disk difüzyon testinde hem de sıvı mikrodilüsyon testinde tüm türlerde %100 duyarlılık göstererek yeni nesil BI/BLI kombinasyonları arasında en iyi performansı sergilemiştir. NDM ve OXA-48'in beraber bulunduğu çift karbapenemazlı izolatların olduğu grupta dahi, AZA test edilen tüm izolatlar karşı %100 duyarlılık göstermiş ve sıvı mikrodilüsyon testinde MİK90 değeri 2 $\mu\text{g/ml}$ 'yi aşmamıştır. Bu bulgular çift karbapenemaz üreten

Enterobacterales çalışmalarında bildirilen yüksek aktivite ile uyumludur[193]. Metallo- β -Laktamaz Üreten *Enterobacteriaceae*'ye Karşı Sefiderokol ve Aztreonam-Avibaktam'ın in vitro aktiviteleri'nin değerlendirildiği bir çalışmada aztreonam-avibaktamın %95,8 duyarlılık göstermesi de bu verimizi destekler niteliktedir[194].

Amikasin, bakterisidal aktiviteye sahip, doğal veya yarı sentetik bileşiklerden oluşan aminoglikozid grubu antibiyotiklerin bir üyesidir. Aminoglikozidler klinik sınır değerleri bulunan *Enterobacterales*, *Pseudomonas spp.* ve *Acinetobacter spp.*'nin neden olduğu ciddi veya komplike enfeksiyonlar için tedavide kullanılmaktadırlar. Çalışmamız kapsamında yeni nesil beta-laktam kombinasyonlarına dirençli ESCPM izolatlarında amikasin genel direnci %5,9 gibi düşük bir oranda bulunmuştur. Özellikle *Providencia*, *Morganella*, *Citrobacter* ve *Hafnia* suşlarında direnç saptanmaması önemli bir klinik bulgudur. Ancak bu sonuç genellenemez; CRE serilerinde amikasin direncinin %54.4'e ulaşabildiği ve 16S rRNA metilaz genlerinin yaygın olduğu ve çoğunlukla NDM veya KPC tipi karbapenemazlarla aynı plazmid üzerinde taşındığı gösterilmiştir[195]. Birleşik Krallık/İrlanda verilerinde de pan-aminoglikozid dirençli *Enterobacteriaceae*'nin %94,5'inde 16S rRNA metilaz saptanmış, bunların çoğu aynı zamanda karbapenemaz taşımıştır[196]. Bölgemizde bu mobil direnç genlerinin henüz yaygınlaşmamış olması hastalarımız açısından bir tedavi avantajı sunmaktadır.

Uygun ve zamanında uygulanan antimikrobiyal tedavi, hastalar için klinik sonuçları önemli ölçüde iyileştirir. Bu nedenle, tür tanımlama ve antimikrobiyal duyarlılık testi sonuçlarının elde edilme süresini kısaltmak, klinik mikrobiyologlar için yüksek öncelikli bir konudur. Otomatize sistemler (Vitek 2, Phoenix M50 vb.) bu konuda rutin laboratuvar ortamlarında sıklıkla kullanılmaktadır. Ancak bu sistemler ESCPM izolatlarında önemli tanısal hatalara yol açabilmektedir. Otomasyon sistemlerinin hızlı sonuç üretme odaklı algoritmaları ile söz konusu bakteriyel direnç mekanizmalarının yavaş ve indüklenabilir kinetiği arasında ciddi bir uyumsuzluk (fenotipik-genotipik) mevcuttur.

Disk difüzyon testi referans alındığında, otomatize sistemlerin ertapenem için %23,80 ve sefepim için %13,11 oranında VME yaptığı belirlenmiştir. Test edilen diğer antibiyotikler de VME sınırı olan %5'in üzerinde kalmıştır. Ayrıca CRO, CTX FEP ve ertapenem için bu iki test arasındaki kategorik uyum %90'ın altında kalmış olup sadece meropenem için kabul edilebilir sınır olan %90'ın üzerine çıkabilmiştir. ESCPM türleri için doğrudan

VITEK 2 ve disk difüzyon testi karşılaştırması yapan, tür bazında ayrıntılı hata oranı veren spesifik bir çalışma bulunmamakla birlikte Endonezya’da bir çalışmada, kan dolaşımı enfeksiyonlarında içinde *Enterobacter cloacae* ve *Serratia marcescens*’in de bulunduğu manuel disk difüzyon testinin VITEK 2’ye göre genel uyumu %84,64 bulunmuştur[197].Gerçekte dirençli olan patojenlerin laboratuvarda yalancı duyarlı olarak sınıflandırılması (VME) durumu, mikrobiyoloji pratiğindeki en tehlikeli hata kategorisini oluşturur. Bu tanısal yanılgı, klinik süreçte hedef patojene karşı etkisiz ampirik veya spesifik antibiyotik tedavisinin seçilmesiyle sonuçlanarak mortalite ve morbidite riskini doğrudan artıran bir faktördür. Bartoletti ve arkadaşlarının gerçekleştirdiği çok merkezli araştırmalar; otomatize sistem cihazlarında antibiyotik duyarlılık testinde saptanan VME ve Majör ME kaynaklı hatalı ampirik veya hedefe yönelik tedavi uygulamalarının, hastaların 30 günlük mortalite oranlarını istatistiksel olarak anlamlı düzeyde artırdığını ortaya koymuştur[198].

Çalışmamız kapsamında incelenen türlerde sıklıkla saptanan birleşik direnç mekanizması GSBL üretimidir. Çift disk sinerji testi ve kombinasyon disk testi GSBL tespiti için yapılan fenotipik testler içerisinde yer almaktadır. Ancak bu türler kromozomal AmpC beta laktamaz üretici olduklarından dolayı GSBL saptamada kullanılan testlerin değerlendirilmesinde ve performansında ciddi kısıtlılıklar olmaktadır. ÇDST'deki klasik anahtar deliği görünümü bu türlerde oluşmamakta, ancak KDT'de sefalosporin ve inhibitör aynı diskte bulunduğu için inhibisyon zonu kolayca ölçülebilmektedir [199]. Hem CLSI hem de EUCAST tarafından standart doğrulama testi olarak KDT önerilir. EUCAST kılavuzları ÇDST'yi de geçerli bir yöntem olarak kabul eder. Çalışmamız kapsamında ÇDTS ile 41 izolat GSBL pozitif saptanmışken KDT ile bu sayı 80’çikmiştir. KDT ile GSBL pozitif bulunan dirençli izolatların 46’sı (%29,9), ÇDST yönteminde negatif sonuç vermiş ve tespit edilememiştir. Literatür tarandığında bu türler bazında yapılan karşılaştırmalı çalışma olmamakla birlikte tüm *Enterobacterales* izolatlarında çalışmalar mevcuttur. İçerisinde *Providencia spp.*’nin bulunduğu 313 *Enterobacteriaceae* izolatı arasında, test edilen örneklerden ÇDST 176 (%56,23) örneği tespit ederken, KDT 200 örneği (%63,89) tespit etmiştir. Bu doğrultuda, minör *Enterobacterales* üyelerinde ÇDTS’nin güvenilir bir GSBL tarama yöntemi olmadığı ve KDT’nin rutin laboratuvar kullanımına entegre edilmesi gerektiği görülmektedir. Çalışmamızda moleküler araştırmalar sonucu GSBL genleri arasında CTX-M Grup 1 (%44,8) en baskın gen olarak

tespit edilmiştir. Özellikle *Serratia* (%87,5) ve *Providencia* (%82,6) suşlarında bu genin yüksek oranda bulunması, klasik beta-laktamların bu ajanlara karşı ampirik tedavide yerinin olmadığını göstermektedir. Güncel küresel süveyans verileri, sefalosporin direncinden sorumlu genotipik profillerin coğrafi bölgelere göre değişkenlik gösterebileceğini, ancak CTX-M Grup 1 (özellikle CTX-M-15) hakimiyetinin evrensel bir hal aldığını göstermektedir. SENTRY Antimicrobial Surveillance Programı kapsamında yayınlanan geniş ölçekli raporda da incelenen çok merkezli *Enterobacterales* serilerinde *blaCTX-M-15* genotipinin en yüksek prevalansa sahip mobil rezistom bileşeni olduğu bildirilmiştir; bu veri lokal bulgularımızla tam bir uyum sergilemektedir [119].

Kromozomal AmpC beta laktamaz üreticisi olduğunu bildiğimiz bu kökenler fenotipik olarak FOX ve 3GS dirençli, 4. Kuşak sefalosporinler ise duyarlı olarak beklenir[86]. Ancak çalışmamız kapsamında değerlendirdiğimiz 154 izolatın 20 tanesinde FOX duyarlı saptanmıştır. Duyarlı bulunan izolatlara AmpC saptama kiti ile bakıldığında %60'ında (çoğunluğu *Morganella* türü olan) fenotipik AmpC pozitif sonuç vermiştir. Bu kapsamda FOX diski tek başına, bakterinin indüklenmemiş halde ürettiği düşük miktardaki AmpC'yi tespit etmede yetersiz kalmaktadır. Boronik asit veya kloksasilin gibi spesifik inhibitörler ise bu zayıf enzimatik aktiviteyi durdurarak zon çapındaki genişlemeyi görünür kılar. Bu durum, fenotipik testlerde yalnızca tek ajanlı disk okumalarına güvenilemeyeceğini göstermektedir. Yapılan araştırmalar da sefoksitin direncinin de tek başına AmpC varlığına işaret etmediğini ortaya koymaktadır [200]. Bu direnç fenotipinde, *ompK35* ve *ompK36* mutasyonlarına bağlı gelişen porin kayıplarının da sefoksitin duyarlılığındaki azalmaya potansiyel birer katkı sağlayabileceği dikkate alınmalıdır[200]. Çalışmamızda yapılan moleküler analiz sonuçlarına göre baskın AmpC beta laktamaz genleri *blaCIT* ve *blaCMY-2* olmuştur. *blaCMY-2* plazmid aracılı AmpC (pAmpC) olan *blaCIT* grubunun bir varyantıdır. Literatürde pAmpC epidemiyolojisini inceleyen kapsamlı çalışmalarda *blaCMY-2* geninin, sahip olduğu yüksek transfer özellikli konjugatif plazmidler (örn. IncA/C ve IncII) sayesinde dünya genelinde en yüksek prevalansa ve en geniş coğrafi dağılıma sahip pAmpC olduğu kesin olarak ortaya konmuştur[86]. Tespit ettiğimiz *blaCIT/CMY-2* hakimiyeti, bölgemizdeki direnç gen havuzunun uluslararası yayılımla tam bir paralellik gösterdiğine işaret etmektedir.

Tüm Genom Dizileme teknolojileri hem izole edilmiş kültürlerden hem de doğrudan klinik örneklerden bakteri tür, suş ve genotiplerinin tanımlanmasında yaygın olarak kullanılmaktadır. Ayrıca bu yöntem, antimikrobiyal direnç genlerinin ve spesifik nokta

mutasyonlarının saptanmasına olanak tanıyarak antibiyotik direnç profillerinin belirlenmesinde kritik bir rol oynamaktadır[201]. Tüm genom sekanslama için gönderilen 8 izolatin verileri incelendiğinde PCR ile arasında saptanan direnç genleri açısından hem tamamlayıcı hem de uyumsuz sonuçlar elde edilmiştir.

Çalışmamızda PCR ile saptanan GSBL ve karbapenemaz gen grupları, WGS analizi ile allel düzeyinde spesifik olarak tiplendirilmiştir. Örneğin, *Providencia rettgeri* ve *Serratia marcescens* izolatlarında PCR ile genel bir grup olarak saptanan *blaCTX-M Grup 1* geni, WGS analizinde epidemiyolojik açıdan son derece önemli olan *blaCTX-M-15* varyantı olarak tanımlanmıştır. Benzer şekilde *Enterobacter hormaechei* izolatında PCR ile tespit edilen *blaNDM*, WGS ile *blaNDM-6* alleli olarak raporlanmıştır. *E. hormaechei* izolatında PCR yalnızca *blaOXA-48* genini yakalayabilmişken; WGS analizi bu izolatta *blaACT-16*, *blaCTX-M-15*, *blaTEM-1*, *blaTEM-1B* ve *blaOXA-48* genlerinin tamamını saptamıştır. Bu durum, PCR panellerinin kapsama alanı dışında kalan minör varyantların veya hedef bölgedeki mutasyonların PCR'da yalancı negatifliklere yol açabileceğini, WGS'nin ise tüm resistomu tarafsız bir şekilde ortaya koyduğunu göstermektedir. Literatürde de sıklıkla vurgulandığı üzere, PCR temelli yöntemler hedeflenen primerlerin sınırları içinde kaldığından, antimikrobiyal direncin altında yatan genetik karmaşıklığı ve hareketli genetik elemanların dinamiklerini yakalamakta yetersiz kalabilmektedir[202]. Çalışmamızdaki bazı izolatlarda PCR'ın tespit ettiği genlerin WGS tarafından raporlanamaması, moleküler analizlerin önemli kısıtlılığına işaret etmektedir. *E. hormaechei* izolatında PCR; *blaCTX-M GRUP 1*, *blaEBC*, *blaCIT*, *blaACC*, *blaCMY-2*, *blaNDM* ve *blaOXA-48* gibi geniş bir gen paneli pozitifliği verirken, WGS yalnızca *blaACT* ve *blaNDM-6* genlerini saptayabilmiştir. Benzer şekilde bir diğer *E. hormaechei* izolatında PCR'da görülen *blaCTX-M GRUP 1*, *blaTEM* ve *blaEBC* genleri WGS analizinde saptanamamıştır. PCR ve WGS arasındaki bu tür uyumsuzluklar klinik mikrobiyoloji pratiğinde iki ana nedene dayandırılır. Birincisi, fenotipik direnç gösteren ve PCR'da pozitif sonuç veren izolatların laboratuvar ortamında pasajlanmaları sırasında mobil genetik elementleri ve direnç plazmidlerini kaybetmeleridir (plasmid curing). İkincisi ise, WGS biyoinformatik analiz sürecinde sekanslama derinliğinin (read depth) düşük kalmasıdır. WGS'nin kısa veya uzun okuma (short/long-read) teknolojilerinde, düşük kopya sayılı veya çoklu direnç kasetleri içeren plazmidlerin genom birleştirilmeleri sırasında önemli direnç genleri gözden kaçabilmektedir. Yapılan yakın zamanlı çalışmalar, WGS'nin kapsama ve duyarlılık limitasyonları nedeniyle bazen karbapenemaz genlerini kaçırabildiğini, bu nedenle PCR ve WGS'nin birbirine alternatif olmaktan ziyade birbirini tamamlayan

yöntemler olarak kullanılması gerektiğini vurgulamaktadır[203]. Çalışmamızda değerlendirilen *Enterobacter hormaechei* izolatının tüm genom dizileme analizinde, plazmit aracılı kolistin direnç geni olan *mcr-10* saptanmıştır. Literatürde ilk olarak klinik bir *Enterobacter roggenkampii* izolatına ait IncFIA plazmidi üzerinde tanımlanan *mcr-10*; kolistin direnci açısından küresel bir tehdit oluşturan mcr gen ailesinin (özellikle *mcr-1* ve *mcr-9*) nispeten yeni bir varyantıdır. Bu gen, spesifik olarak *Enterobacter* türlerinde (başta *E. roggenkampii* ve *E. hormaechei* olmak üzere) lokalize olma eğilimi göstermektedir. Söz konusu genin kolistin direnci üzerindeki etkisi genellikle düşük düzeyli veya fenotipik olarak sessiz kalsa da mobil genetik elemanlar aracılığıyla yayılabilmesi ve diğer direnç mekanizmalarıyla birleşerek çoklu ilaca dirençli fenotipler oluşturabilmesi klinik açıdan önemli bir risk teşkil etmektedir [204]. Bununla birlikte, çalışmamızın temel odak noktası beta-laktam grubu antibiyotiklerin değerlendirilmesi olduğu için izolatta fenotipik kolistin duyarlılık testi gerçekleştirilmemiştir. Dolayısıyla, genotipik düzeyde tespit edilen *mcr-10* ve potansiyel benzeri direnç genlerinin fenotipik yansımalarının in vitro olarak doğrulanamaması, mevcut çalışmamızın bir kısıtlılığı olarak değerlendirilmektedir. *Providencia rettgeri blaNDM-1* taşıırken, *E. hormaechei* nadir görülen *blaNDM-6* varyantını taşımaktadır. Ayrıca diğer bir *E. hormaechei* izolatında *blaNDM-6*'ya, pan-aminoglikozid direnci sağlayan 16S rRNA metilaz geni (*rmtC*) ve bleomisin direnç geni (*ble*) eşlik etmektedir. Literatürde NDM üreten izolatların, aynı genetik kaset (çoğunlukla ISAb125 veya IS5 gibi elemanlar aracılığıyla) üzerinde aminoglikozid direnç genlerini beraber taşıdığı sıklıkla rapor edilir [205]. *blaNDM-6* varyantı, *blaNDM-1*'e kıyasla karbapenemleri daha yüksek afinite ile hidrolize edebilme potansiyeli taşıdığı için epidemiyolojik olarak çok değerlidir[206]. *Serratia* izolatlarının her ikisi de ST439 sekans tipine sahiptir. İkisi de *blaCTX-M-15* ve *blaOXA-1* GSBL genlerini taşımaktadır. İnsersiyon sekans profilleri (IS3, IS4, IS6) de büyük oranda örtüşmektedir. İki farklı hastadan izole edilen bu *Serratia* suşlarının aynı sekans tipine ve çok benzer direnç adacıklarına sahip olması, bir hastane içi klonal yayılıma işaret eder. *E. hormaechei* izolatlarından biri, hem bir karbapenemaz olan *blaOXA-48*'i hem GSBL olan *blaCTX-M-15*'i hem de çoklu AmpC varyantlarını (*blaACT-16*, *blaACT-141*) bir arada barındırmaktadır (ST279). Benzer bir profil P32 izolatında da (*blaNDM-1*, *blaCMY-6*, *blaDHA-1*) görülmektedir. *blaOXA-48*, tek başına zayıf bir karbapenemaz aktivitesi gösterse de bu izolatlardaki gibi *blaCTX-M-15* ve *blaACT* gibi sefalosporinazlarla kombine olduğunda yüksek düzeyde ertapenem ve meropenem direnci yaratır[207]. WGS'nin önemi burada ortaya çıkıyor; fenotipik testlerde bu üçlü

kombinasyonu (ESBL + AmpC + OXA-48) birbirinden ayırmak neredeyse imkansızken, dizileme ile tüm rezistom önemli bir şekilde haritalanmıştır. WGS, *C. koseri* izolatında türe özgü intrinsik *blaMAL-2* ve *blaCKO-1* kromozomal genlerini tespit etmiştir. *Serratia* izolatlarında ise yine türe özgü blaSRT genleri haritalanmıştır. Biyokimyasal yöntemlerin tür ayrımını bazen net yapamadığı durumlarda WGS'nin intrinsik direnç genleri üzerinden sağladığı bu veri çok kıymetlidir. Bu genler kazanılmış dirençten ziyade, türün doğal genetik karakterini göstermektedir.[208].

6. SONUÇLAR

Bu tez çalışmasının literatüre ve klinik mikrobiyoloji pratiğine sunduğu önemli bulgular şu şekilde özetlenmiştir.

- **Toplum Kaynaklı Enfeksiyonlara Yönelim:** Çalışmamızda incelenen poliklinik idrar örneklerinde (n=448), geleneksel olarak nozokomiyal bir patojen olarak kabul edilen *ECC*'nin %65,7 gibi yüksek bir oranda izole edilmesi dikkat çekicidir. Bu bulgu, hastane ortamı ile ilişkilendirilen patojenlerin yalnızca yatan hastalarla sınırlı kalmayıp toplum içine de yayılabildiğine ve toplum kaynaklı enfeksiyonlarda giderek daha fazla rol oynadığına işaret etmektedir.
- **YBÜ Seçilimi:** Çalışmamızda dirençli izolatlar grubu (n=154) ele alındığında, *Providencia* enfeksiyonlarının %52,6 gibi yüksek bir oranla doğrudan YBÜ'lerde kümелendiği görülmüştür. Bu bulgu, YBÜ'lerdeki yoğun antibiyotik kullanımının yarattığı seçici baskının, dirençli suşların bu birimlerde ön plana çıkmasına zemin hazırladığını düşündürmektedir.
- ***M.morganii* Yara Baskınlığı:** Yara kültürlerine ait suşlar (n=32) değerlendirildiğinde, *Morganella morganii*'nin *ECC* baskınlığını aşarak primer etken olarak öne çıktığı görülmüştür. Bu mikroorganizmanın yataklı servislerde %62,5 oranında izole edilmesi, etkenin yara yeri kolonizasyonuna olan yatkınlığına işaret etmektedir. Bu bulgu, yataklı birimlerdeki yara bakım protokolleri ve ampirik tedavi

stratejileri belirlenirken *M. morganii* riskinin göz önünde bulundurulması gerektiğini göstermektedir.

- **Pediyatrik ünitelerde *Serratia*:** Kan dolaşımı enfeksiyonlarına neden olan *Serratia* izolatlarının %35,3 oranında pediyatrik grupta kümelenmesi, pediyatri ünitelerinin bu etken kaynaklı bakteriyemi ve potansiyel salgın riski açısından daha duyarlı olduğuna işaret etmektedir. Bu bulgu, söz konusu hasta gruplarının izlendiği birimlerde enfeksiyon kontrol önlemlerinin ve aktif süzveyansın titizlikle uygulanmasının kritik önemini vurgulamaktadır.
- **Meropenem Direnci, Genç Yaş ve İnvaziv Enfeksiyon İlişkisi:** Çalışmamızda, meropenem MİK değeri >8 µg/ml olan dirençli izolatların istatistiksel olarak daha genç yaş grubuyla ve kan ile endotrakeal aspirat gibi invaziv klinik örneklerle ilişkili bulunması dikkat çekicidir. Bu durum, yüksek karbapenem direncinin potansiyel olarak artmış virölans kapasitesiyle ve daha ağır seyreden enfeksiyon tablolarıyla birlikte görülebileceğini düşündürmektedir.
- **Sefepimin Ampirik Tedavideki Kısıtlılığı:** Geleneksel olarak AmpC beta-laktamaz üreten suşlara karşı stabil ve etkin kabul edilen dördüncü kuşak bir sefalosporin olan sefepimin; çalışmamızdaki dirençli grupta *Serratia* izolatlarına karşı %100, *Providencia* izolatlarına karşı ise %80,95 gibi yüksek direnç oranları sergilemesi dikkat çekicidir. Bu bulgular, sefepimin özellikle bu türlerin etken olduğu enfeksiyonların ampirik tedavisindeki güvenilirliğinin önemli ölçüde azaldığına ve tedavi seçenekleri arasında dikkatle değerlendirilmesi gerektiğine işaret etmektedir.
- **Dirençli İzolatlara Karşı Amikasin Duyarlılığı:** Çalışmamızda, karbapenemler de dahil olmak üzere geniş spektrumlu birçok antimikrobiyal ajana karşı yüksek oranda direnç saptanmasına karşın; amikasin direncinin %5,9 gibi oldukça düşük bir oranda kalması ve incelenen dört farklı türde tam duyarlılık (%100) sergilemesi dikkat çekicidir. Bu bulgu, çoklu ilaca dirençli patojenlerin neden olduğu zorlu enfeksiyonların yönetiminde, amikasinin bölgemiz için halen güvenilir ve güçlü bir rezerv ajan konumunda olduğunu göstermektedir.

- **Otomatize Sistemlerin Güvenilirlik Sınırları:** Çalışmamız, Vitek 2 otomatize sisteminin ertapenem (%23,80) ve sefepim (%13,11) duyarlılık testlerinde, klinik tedavi başarısını olumsuz etkileyebilecek düzeyde Çok Büyük Hata (VME) oranlarına sahip olduğunu göstermiştir. Bu bulgu, özellikle ağır seyirli *ECC* ve *Serratia* enfeksiyonlarının yönetiminde otomatize sistemlerden elde edilen verilerin ampirik tedaviyi yönlendirmede yanıltıcı olabileceğini; dolayısıyla bu kritik ajanlar için duyarlılık sonuçlarının mutlaka referans yöntemlerle doğrulanması gerektiğini vurgulamaktadır.
- **GSBL Saptanmasında KDT'nin Tanısal Üstünlüğü:** Çalışmamızda, kromozomal AmpC üretimi nedeniyle klasik Çift Disk Sinerji Testi (ÇDST) yönteminde baskılanarak yalancı negatif sonuç veren 46 izolatın Kombine Disk Testi (KDT) ile saptanabilmesi dikkat çekicidir. Bu bulgu, AmpC ko-produksiyonu olan karmaşık dirençli izolatların GSBL taramasında; KDT'nin ÇDST'ye kıyasla daha yüksek tanısal duyarlılığa sahip olduğunu ve tanısal akışta daha güvenilir bir yöntem olarak öne çıktığını göstermektedir.
- **Sefoksitin Testinin Tanısal Kısıtlılığı:** Çalışmamızda sefoksitine duyarlı görünen izolatların %60'ında (özellikle *Morganella* türlerinde) AmpC doğrulama testleri pozitif çıkmıştır. Bu sonuç, düşük düzeyde AmpC üreten bakterilerin tespitinde tek başına sefoksitin diski kullanmanın kısıtlı kaldığını ve direncin gözden kaçmasına (yalancı negatifliğe) neden olabileceğini göstermektedir.
- **ESCPM Grubunda blaCTX-M Grup 1 Baskınlığı:** ESCPM grubundaki GSBL üreten suşlar arasında *blaCTX-M Grup 1* geninin (%44,8) diğer direnç genlerine kıyasla belirgin bir üstünlük kurduğu ve bölgesel direnç tablosunu şekillendiren ana gen olarak öne çıktığı belirlenmiştir.
- **ECC Türlerinde Karbapenemaz Genlerinin Yoğunlaşması:** Çalışmamızda saptanan *blaNDM* (%14,9) ve *blaOXA-48* (%6,5) karbapenemaz genlerinin tamamının *ECC* türlerinde yoğunlaşması, araştırmanın en önemli epidemiyolojik bulgularından biridir. Bu durum, hastane ortamındaki hareketli plazmit aktarımının temel kaynağı olarak *ECC* türlerinin öne çıktığını göstermektedir.

- **Ertanepem Dirençli izolatlarda CZA'nın Tanısal Kısıtlılığı:** Referans sıvı mikrodilüsyon yöntemine kıyasla CZA disk difüzyon testinin kategorik uyumu %85,71, çok büyük hata (VME) oranı ise %14,81 olarak bulunmuş olup, hatalı sonuçların büyük kısmı *Enterobacter* türlerinden kaynaklanmıştır. Bu nedenle, bilhassa ertanepem dirençli ESCPM grubu izolatların CZA duyarlılık testlerinde rutin disk difüzyon yerine referans yöntem olan sıvı mikrodilüsyon testinin kullanılması önerilmektedir.
- **AZA'nın Yüksek İn Vitro Etkinliği:** Yeni nesil beta-laktam/beta-laktamaz inhibitörü (BL/BLİ) kombinasyonları arasında en iyi performansı gösteren AZA hem disk difüzyon hem de referans sıvı mikrodilüsyon testlerinde incelenen tüm türlerde %100 duyarlılık sergilemiştir. NDM ve OXA-48 ko-produksiyonu gösteren çift karbapenemazlı izolatlar dahil olmak üzere test edilen tüm suşlar AZA'ya duyarlı bulunmuş olup, sıvı mikrodilüsyon ölçümlerinde MİK90 değeri 2 µg/mL'nin altında kalmıştır.
- **WGS ile Saptanan Mobilom Dinamikleri:** WGS verilerimiz, pan-direnç profili oluşturan ana genlerin çeşitli insersiyon sekansları (IS1, IS3, IS6) ile yayıldığını göstermekte olup; bu hareketli genetik yapının hastane içindeki yatay gen transferi (HGT) döngüsünü hızlandırarak dirençli izolatların yayılma tehdidini artırdığını doğrulamaktadır.

7. ÇALIŞMANIN KISITLILIKLARI

- **Antibiyotik Duyarlılık Testlerinde Kısıtlılıklar:** Çalışmamızın temel kısıtlılıklarından biri, proje bütçesindeki sınırlamalar nedeniyle bazı yeni nesil ajanlar için referans sıvı mikrodilüsyon (BMD) yönteminin uygulanamamış olmasıdır. Sefiderokol duyarlılığının saptanmasında altın standart olan test için gerekli demir kısıtlı katyon ayarlı Mueller-Hinton sıvı besiyerinin (ID-CAMHB) yüksek maliyeti sebebiyle FDC MİK değerleri belirlenememiştir. Benzer şekilde, imipenem-relebaktam ve meropenem-vaborbaktam duyarlılıkları da yalnızca disk difüzyon yöntemiyle değerlendirilebilmiş, bu ajanlara ait BMD çalışmaları gerçekleştirilememiştir
- **Moleküler Analiz Kısıtlılıkları:** Proje bütçesindeki sınırlamalar nedeniyle moleküler taramalar, literatürde epidemiyolojik olarak en sık bildirilen GSBL, AmpC ve karbapenemaz genleri ile sınırlandırılmıştır. Aynı gerekçeyle, tüm genom dizileme analizi tüm dirençli izolatlara uygulanamamış olup, seçilmiş bir örneklem grubu üzerinde gerçekleştirilebilmiştir. Ayrıca, başlangıçta çalışma paneline dahil edilmesi planlanan bazı genlerin (*blaSME*, *acrA*, *acrB* ve *tolC*) PCR optimizasyon süreçlerinde yaşanan teknik güçlükler nedeniyle amplifikasyonları sağlanamamış ve bu hedefler değerlendirme dışı bırakılmıştır.

8. KAYNAKÇA

1. De Angelis, G., et al., *Molecular Mechanisms, Epidemiology, and Clinical Importance of β -Lactam Resistance in Enterobacteriaceae*. Int J Mol Sci, 2020. **21**(14).
2. Dwivedi, N., et al., *Hits and misses in treatment of ESCPM gram negative infections*. Indian Journal of Medical Microbiology, 2022. **40**(1): p. 147-149.
3. Mizrahi, A., et al., *Infections caused by naturally AmpC-producing Enterobacteriaceae: Can we use third-generation cephalosporins? A narrative review*. Int J Antimicrob Agents, 2020. **55**(2): p. 105834.
4. Friedman, N.D., E. Temkin, and Y. Carmeli, *The negative impact of antibiotic resistance*. Clin Microbiol Infect, 2016. **22**(5): p. 416-22.
5. Wilson, H. and M.E. Török, *Extended-spectrum β -lactamase-producing and carbapenemase-producing Enterobacteriaceae*. Microb Genom, 2018. **4**(7).
6. Munson, E. and K.C. Carroll, *An Update on the Novel Genera and Species and Revised Taxonomic Status of Bacterial Organisms Described in 2016 and 2017*. J Clin Microbiol, 2019. **57**(2).
7. *Koneman's Color Atlas And Textbook Of Diagnostic Microbiology*. Vol. 7. 2017: Hipokrat Kitapevi. 224.
8. Baylis, C., et al., *The Enterobacteriaceae and their significance to the food industry*. 2011.
9. Janda, J.M. and S.L. Abbott, *The Changing Face of the Family Enterobacteriaceae (Order: "Enterobacterales"): New Members, Taxonomic Issues, Geographic Expansion, and New Diseases and Disease Syndromes*. Clin Microbiol Rev, 2021. **34**(2).
10. Adeolu, M., et al., *Genome-based phylogeny and taxonomy of the 'Enterobacterales': proposal for Enterobacterales ord. nov. divided into the families Enterobacteriaceae, Erwiniaceae fam. nov., Pectobacteriaceae fam. nov., Yersiniaceae fam. nov., Hafniaceae fam. nov., Morganellaceae fam. nov., and Budviciaceae fam. nov*. Int J Syst Evol Microbiol, 2016. **66**(12): p. 5575-5599.
11. Chuvpochina, M., et al., *Proposal of names for 329 higher rank taxa defined in the Genome Taxonomy Database under two prokaryotic codes*. FEMS Microbiol Lett, 2023. **370**.

12. Davin-Regli, A., J.P. Lavigne, and J.M. Pagès, *Enterobacter spp.: Update on Taxonomy, Clinical Aspects, and Emerging Antimicrobial Resistance*. Clin Microbiol Rev, 2019. **32**(4).
13. Akbari, M., B. Bakhshi, and S. Najar Peerayeh, *Particular Distribution of Enterobacter cloacae Strains Isolated from Urinary Tract Infection within Clonal Complexes*. Iran Biomed J, 2016. **20**(1): p. 49-55.
14. Allerberger, F., et al., *Epidemiology of infections due to multiresistant Enterobacter aerogenes in a university hospital*. Eur J Clin Microbiol Infect Dis, 1996. **15**(6): p. 517-21.
15. Hoffmann, H. and A. Roggenkamp, *Population genetics of the nomenspecies Enterobacter cloacae*. Appl Environ Microbiol, 2003. **69**(9): p. 5306-18.
16. Paauw, A., et al., *Genomic diversity within the Enterobacter cloacae complex*. PLoS One, 2008. **3**(8): p. e3018.
17. Shantiae, S., E. Tajbakhsh, and H. Momtaz, *Molecular characterization of Enterobacter aerogenes isolated from urinary tract infections in Iran*. Acta Trop, 2022. **232**: p. 106485.
18. Davin-Regli, A., et al., *Efflux-mediated drug resistance in bacteria: mechanisms, regulation and clinical implications*. 2016.
19. Salimiyan rizi, K., K. Ghazvini, and H. Farsiani, *Clinical and pathogenesis overview of Enterobacter infections*. Reviews in Clinical Medicine, 2020. **6**(4): p. 146-154.
20. Doijad, S.P., et al., *Resolving colistin resistance and heteroresistance in Enterobacter species*. Nat Commun, 2023. **14**(1): p. 140.
21. Abdul-Mutakabbir, J.C., et al., *Cefiderocol: A Novel Siderophore Cephalosporin against Multidrug-Resistant Gram-Negative Pathogens*. Pharmacotherapy, 2020. **40**(12): p. 1228-1247.
22. Werkman, C.H. and G.F. Gillen, *Bacteria Producing Trimethylene Glycol*. J Bacteriol, 1932. **23**(2): p. 167-82.
23. Jabeen, I., et al., *A brief insight into Citrobacter species - a growing threat to public health*. Front Antibiot, 2023. **2**: p. 1276982.
24. Cong'En, J.H., et al., *Endogenous endophthalmitis caused by Citrobacter koseri originating from a renal abscess*. BMJ Case Rep, 2014. **2014**.

25. Räisänen, K., et al., *Three clusters of carbapenemase-producing Citrobacter freundii in Finland, 2016-20*. J Antimicrob Chemother, 2021. **76**(10): p. 2697-2701.
26. Ribeiro, T.G., et al., *Citrobacter telavivum sp. nov. with chromosomal mcr-9 from hospitalized patients*. Eur J Clin Microbiol Infect Dis, 2021. **40**(1): p. 123-131.
27. Hossain, I., et al., *Prevalence of urinary tract infections, associated risk factors, and antibiotic resistance pattern of uropathogens in young women at Noakhali, Bangladesh*. Asian Journal of Medical and Biological Research, 2021. **7**(2): p. 202-213.
28. Bonasoni, M.P., et al., *Second Trimester Fetal Loss Due to Citrobacter koseri Infection: A Rare Cause of Preterm Premature Rupture of Membranes (PPROM)*. Diagnostics (Basel), 2022. **12**(1).
29. Ledda, A., et al., *Hospital outbreak of carbapenem-resistant Enterobacterales associated with a bla(OXA-48) plasmid carried mostly by Escherichia coli ST399*. Microb Genom, 2022. **8**(4).
30. Liu, L., et al., *Antimicrobial Resistance and Molecular Characterization of Citrobacter spp. Causing Extraintestinal Infections*. Front Cell Infect Microbiol, 2021. **11**: p. 737636.
31. Liu, L., et al., *Antimicrobial Resistance and Cytotoxicity of Citrobacter spp. in Maanshan Anhui Province, China*. Front Microbiol, 2017. **8**: p. 1357.
32. Osei Sekyere, J. and M.A. Reta, *Global evolutionary epidemiology and resistome dynamics of Citrobacter species, Enterobacter hormaechei, Klebsiella variicola, and Proteae clones*. Environ Microbiol, 2021. **23**(12): p. 7412-7431.
33. Kotb, D.N., et al., *Impact of co-existence of PMQR genes and QRDR mutations on fluoroquinolones resistance in Enterobacteriaceae strains isolated from community and hospital acquired UTIs*. BMC Infect Dis, 2019. **19**(1): p. 979.
34. Minarini, L.A. and A.L. Darini, *Mutations in the quinolone resistance-determining regions of gyrA and parC in Enterobacteriaceae isolates from Brazil*. Braz J Microbiol, 2012. **43**(4): p. 1309-14.
35. Yao, Y., et al., *Carbapenem-Resistant Citrobacter spp. as an Emerging Concern in the Hospital-Setting: Results From a Genome-Based Regional Surveillance Study*. Front Cell Infect Microbiol, 2021. **11**: p. 744431.

36. Lee, R., et al., *Clinical Characteristics and Antimicrobial Susceptibility Trends in Citrobacter Bacteremia: An 11-Year Single-Center Experience*. Infect Chemother, 2019. **51**(1): p. 1-9.
37. Abady, N.R., et al., *Antimicrobial effect of silver nanosilver particles on multi-drug resistant isolates of *Kluyvera cryocrescens* and *Citrobacter freundii**. Annals of the Romanian Society for Cell Biology, 2021. **25**(4): p. 6687-6701.
38. Manohar, P., et al., *Synergistic Effects of Phage-Antibiotic Combinations against *Citrobacter amalonaticus**. ACS Infect Dis, 2022. **8**(1): p. 59-65.
39. Tavares-Carreón, F., et al., **Serratia marcescens* antibiotic resistance mechanisms of an opportunistic pathogen: a literature review*. PeerJ, 2023. **11**: p. e14399.
40. Mahlen, S.D., *Serratia infections: from military experiments to current practice*. Clin Microbiol Rev, 2011. **24**(4): p. 755-91.
41. Anderson, M.T., et al., *Identification of distinct capsule types associated with *Serratia marcescens* infection isolates*. PLoS Pathog, 2022. **18**(3): p. e1010423.
42. Tanaka, T., et al., *A nosocomial outbreak of febrile bloodstream infection caused by heparinized-saline contaminated with *Serratia marcescens*, Tokyo, 2002*. Jpn J Infect Dis, 2004. **57**(5): p. 189-92.
43. Ringrose, R.E., et al., *A hospital outbreak of *Serratia marcescens* associated with ultrasonic nebulizers*. Ann Intern Med, 1968. **69**(4): p. 719-29.
44. Ganley, J.G., et al., *Discovery of Antimicrobial Lipodepsipeptides Produced by a *Serratia* sp. within Mosquito Microbiomes*. Chembiochem, 2018. **19**(15): p. 1590-1594.
45. Dusane, D.H., et al., *Anti-biofilm potential of a glycolipid surfactant produced by a tropical marine strain of *Serratia marcescens**. Biofouling, 2011. **27**(6): p. 645-54.
46. Zivkovic Zaric, R., et al., *Antimicrobial Treatment of *Serratia marcescens* Invasive Infections: Systematic Review*. Antibiotics (Basel), 2023. **12**(2).
47. Harris, P.N. and J.K. Ferguson, *Antibiotic therapy for inducible AmpC β -lactamase-producing Gram-negative bacilli: what are the alternatives to carbapenems, quinolones and aminoglycosides?* Int J Antimicrob Agents, 2012. **40**(4): p. 297-305.

48. Herra C., F.F. [cited 2022 1 September]; Available from: <http://www.antimicrobe.org/b26.asp>.
49. Liu, H., et al., *Morganella morganii*, a non-negligent opportunistic pathogen. Int J Infect Dis, 2016. **50**: p. 10-7.
50. O'Hara, C.M., F.W. Brenner, and J.M. Miller, *Classification, identification, and clinical significance of Proteus, Providencia, and Morganella*. Clin Microbiol Rev, 2000. **13**(4): p. 534-46.
51. Kim, J.H., et al., *Morganella morganii* sepsis with massive hemolysis. J Korean Med Sci, 2007. **22**(6): p. 1082-4.
52. Yao, J., et al., *Carbapenem-resistant Morganella morganii carrying bla(KPC-2) or bla(NDM-1) in the clinic: one-decade genomic epidemiology analysis*. Microbiol Spectr, 2025. **13**(4): p. e0247624.
53. Bonnin, R.A., et al., *Genetic Diversity, Biochemical Properties, and Detection Methods of Minor Carbapenemases in Enterobacterales*. Front Med (Lausanne), 2020. **7**: p. 616490.
54. Zaric, R.Z., et al., *Antimicrobial treatment of Morganella morganii invasive infections: Systematic review*. Indian J Med Microbiol, 2021. **39**(4): p. 404-412.
55. Sheng, W.-H., R.E. Badal, and P.-R. Hsueh, *Distribution of extended-spectrum β -lactamases, AmpC β -lactamases, and carbapenemases among Enterobacteriaceae isolates causing intra-abdominal infections in the Asia-Pacific region: results of the study for Monitoring Antimicrobial Resistance Trends (SMART)*. Antimicrobial agents and chemotherapy, 2013. **57**(7): p. 2981-2988.
56. Tsakris, A., et al., *Characterization of In 3Mor, a new integron carrying VIM-1 metallo- β -lactamase and sat1 gene, from Morganella morganii*. Journal of antimicrobial chemotherapy, 2007. **59**(4): p. 739-741.
57. Verdet, C., et al., *Emergence of DHA-1-producing Klebsiella spp. in the Parisian region: genetic organization of the ampC and ampR genes originating from Morganella morganii*. Antimicrobial agents and chemotherapy, 2006. **50**(2): p. 607-617.

58. 2022; Available from: <https://www.tmc-online.org/userfiles/file/Diren%C3%A7li-Olmas%C4%B1-Beklenen-Fenotipler-2022.pdf>.
59. Bandy, A., *Ringing bells: Morganella morganii fights for recognition*. Public Health, 2020. **182**: p. 45-50.
60. Xiang, Y., et al., *Taxonomic and phenotypic characterization of a novel Providencia species: Providencia lanzhouensis sp. nov.* Microbiol Spectr, 2025. **13**(8): p. e0054925.
61. Wie, S.H., *Clinical significance of Providencia bacteremia or bacteriuria*. Korean J Intern Med, 2015. **30**(2): p. 167-9.
62. Mandell, D.a.B.s.P.a.P.o.İ.D. 8th ed. Vol. 2. 2015. 2503-2517.
63. Warren, J.W., *Providencia stuartii: a common cause of antibiotic-resistant bacteriuria in patients with long-term indwelling catheters*. Rev Infect Dis, 1986. **8**(1): p. 61-7.
64. Armbruster, C.E., et al., *Increased incidence of urolithiasis and bacteremia during Proteus mirabilis and Providencia stuartii coinfection due to synergistic induction of urease activity*. J Infect Dis, 2014. **209**(10): p. 1524-32.
65. Al-Jubouri, M.A. and M.S. Vardhan, *A case of purple urine bag syndrome associated with Providencia rettgeri*. J Clin Pathol, 2001. **54**(5): p. 412.
66. Mulet, M., J. Lalucat, and E. García-Valdés, *DNA sequence-based analysis of the Pseudomonas species*. Environ Microbiol, 2010. **12**(6): p. 1513-30.
67. Swenson, J.M., J.B. Patel, and J.H. Jorgensen, *Special phenotypic methods for detecting antibacterial resistance*. Manual of clinical microbiology, 2011: p. 1155-1179.
68. Günthard, H. and A. Pennekamp, *Clinical significance of extraintestinal Hafnia alvei isolates from 61 patients and review of the literature*. Clin Infect Dis, 1996. **22**(6): p. 1040-5.
69. Ramos, A. and D. Dámaso, *Extraintestinal infection due to Hafnia alvei*. Eur J Clin Microbiol Infect Dis, 2000. **19**(9): p. 708-10.
70. Janda, J.M. and S.L. Abbott, *The genus Hafnia: from soup to nuts*. Clin Microbiol Rev, 2006. **19**(1): p. 12-8.

71. GREIPSSON, S. and F.G. PRIEST*, *Numerical taxonomy of Hafnia alvei*. International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology, 1983. **33**(3): p. 470-475.
 72. Lima, L.M., et al., *β -lactam antibiotics: An overview from a medicinal chemistry perspective*. Eur J Med Chem, 2020. **208**: p. 112829.
 73. Pandey, N. and M. Cascella, *Beta-Lactam Antibiotics*, in *StatPearls*. 2026, StatPearls Publishing
- Copyright © 2026, StatPearls Publishing LLC.: Treasure Island (FL).
74. Liras, P. and J.F. Martín, *β -Lactam Antibiotics*, in *Encyclopedia of Microbiology (Third Edition)*, M. Schaechter, Editor. 2009, Academic Press: Oxford. p. 274-289.
 75. Vardanyan, R. and V. Hruby, *Antibiotics*. Synthesis of essential drugs, 2006. **425**(498): p. 50032-7.
 76. Von Lorch, L., *Phenoxymethylpenicillin or penicillin V; stability to gastric juices and biological activity*. Rendiconti-Istituto superiore di sanita, 1956. **19**(2-3): p. 182-187.
 77. Murray, P.R., Baron, E., Jorgensen, J.H., Landry, M.L., Pfaller, M.A. 2009. 1077-1083.
 78. Leone, S., et al., *New antimicrobial options for the management of complicated intra-abdominal infections*. Eur J Clin Microbiol Infect Dis, 2019. **38**(5): p. 819-827.
 79. Leone, S., et al., *New antibiotics for the treatment of serious infections in intensive care unit patients*. Curr Med Res Opin, 2019. **35**(8): p. 1331-1334.
 80. Feltrin, F., et al., *A Livestock-Associated, Multidrug-Resistant, Methicillin-Resistant Staphylococcus aureus Clonal Complex 97 Lineage Spreading in Dairy Cattle and Pigs in Italy*. Appl Environ Microbiol, 2016. **82**(3): p. 816-21.
 81. therapeutics, G.G.s.t.p.b.o., ed. L.L.H.-D. Brunton, RandaKnollmann, Björn C.,. 2018.
 82. Herrera-Hidalgo, L., et al., *Ampicillin and Ceftriaxone Solution Stability at Different Temperatures in Outpatient Parenteral Antimicrobial Therapy*. Antimicrob Agents Chemother, 2020. **64**(7).

83. Sutherland, R. and G.N. Rolinson, *ACTIVITY OF AMPICILLIN IN VITRO COMPARED WITH OTHER ANTIBIOTICS*. J Clin Pathol, 1964. **17**(4): p. 461-5.
84. Saudagar, P.S., S.A. Survase, and R.S. Singhal, *Clavulanic acid: a review*. Biotechnol Adv, 2008. **26**(4): p. 335-51.
85. Drawz, S.M. and R.A. Bonomo, *Three decades of beta-lactamase inhibitors*. Clin Microbiol Rev, 2010. **23**(1): p. 160-201.
86. Jacoby, G.A., *AmpC beta-lactamases*. Clin Microbiol Rev, 2009. **22**(1): p. 161-82, Table of Contents.
87. Endimiani, A., F. Perez, and R.A. Bonomo, *Cefepime: a reappraisal in an era of increasing antimicrobial resistance*. Expert Rev Anti Infect Ther, 2008. **6**(6): p. 805-24.
88. McCreary, E.K., E.L. Heil, and P.D. Tamma, *New Perspectives on Antimicrobial Agents: Cefiderocol*. Antimicrob Agents Chemother, 2021. **65**(8): p. e0217120.
89. Huo, X., et al., *Cilastatin protects against imipenem-induced nephrotoxicity via inhibition of renal organic anion transporters (OATs)*. Acta Pharm Sin B, 2019. **9**(5): p. 986-996.
90. Papp-Wallace, K.M., et al., *Carbapenems: past, present, and future*. Antimicrob Agents Chemother, 2011. **55**(11): p. 4943-60.
91. Chahine, E.B., M.J. Ferrill, and M.N. Poulakos, *Doripenem: a new carbapenem antibiotic*. Am J Health Syst Pharm, 2010. **67**(23): p. 2015-24.
92. Zhanel, G.G., et al., *Ertapenem: review of a new carbapenem*. Expert Rev Anti Infect Ther, 2005. **3**(1): p. 23-39.
93. Mora-Ochomogo, M. and C.T. Lohans, *β -Lactam antibiotic targets and resistance mechanisms: from covalent inhibitors to substrates*. RSC Med Chem, 2021. **12**(10): p. 1623-1639.
94. Bush, K., G.A. Jacoby, and A.A. Medeiros, *A functional classification scheme for beta-lactamases and its correlation with molecular structure*. Antimicrob Agents Chemother, 1995. **39**(6): p. 1211-33.
95. Bush, K. and P.A. Bradford, *Epidemiology of β -Lactamase-Producing Pathogens*. Clin Microbiol Rev, 2020. **33**(2).
96. Bush, K. and G.A. Jacoby, *Updated functional classification of beta-lactamases*. Antimicrob Agents Chemother, 2010. **54**(3): p. 969-76.

97. Livermore, D.M., *beta-Lactamases in laboratory and clinical resistance*. Clin Microbiol Rev, 1995. **8**(4): p. 557-84.
98. Bhullar, K., et al., *Antibiotic resistance is prevalent in an isolated cave microbiome*. PLoS One, 2012. **7**(4): p. e34953.
99. Bradford, P.A., *Extended-spectrum beta-lactamases in the 21st century: characterization, epidemiology, and detection of this important resistance threat*. Clin Microbiol Rev, 2001. **14**(4): p. 933-51, table of contents.
100. Kizny Gordon, A.E., et al., *The Hospital Water Environment as a Reservoir for Carbapenem-Resistant Organisms Causing Hospital-Acquired Infections-A Systematic Review of the Literature*. Clin Infect Dis, 2017. **64**(10): p. 1435-1444.
101. Bush, K., *Past and Present Perspectives on β -Lactamases*. Antimicrob Agents Chemother, 2018. **62**(10).
102. Pitout, J.D., P. Nordmann, and L. Poirel, *Carbapenemase-Producing Klebsiella pneumoniae, a Key Pathogen Set for Global Nosocomial Dominance*. Antimicrob Agents Chemother, 2015. **59**(10): p. 5873-84.
103. Perez, F. and R.A. Bonomo, *Carbapenem-resistant Enterobacteriaceae: global action required*. Lancet Infect Dis, 2019. **19**(6): p. 561-562.
104. Gür, D., et al., *Diversity of klebsiellae with extended-spectrum beta-lactamases at a Turkish university hospital*. J Hosp Infect, 1992. **22**(2): p. 163-7.
105. Hall, L.M., et al., *OXA-11, an extended-spectrum variant of OXA-10 (PSE-2) beta-lactamase from Pseudomonas aeruginosa*. Antimicrob Agents Chemother, 1993. **37**(8): p. 1637-44.
106. Danel, F., et al., *OXA-17, a further extended-spectrum variant of OXA-10 beta-lactamase, isolated from Pseudomonas aeruginosa*. Antimicrob Agents Chemother, 1999. **43**(6): p. 1362-6.
107. Bahar, G., et al., *Detection of VIM-5 metallo-beta-lactamase in a Pseudomonas aeruginosa clinical isolate from Turkey*. J Antimicrob Chemother, 2004. **54**(1): p. 282-3.
108. Cicek, A.C., et al., *Determination of a novel integron-located variant (blaOXA - 320) of Class D β -lactamase in Proteus mirabilis*. J Basic Microbiol, 2014. **54**(10): p. 1030-5.

109. Sawa, T., K. Kooguchi, and K. Moriyama, *Molecular diversity of extended-spectrum β -lactamases and carbapenemases, and antimicrobial resistance*. J Intensive Care, 2020. **8**: p. 13.
110. Husna, A., et al., *Extended-Spectrum β -Lactamases (ESBL): Challenges and Opportunities*. Biomedicines, 2023. **11**(11).
111. Blair, J.M.A., et al., *Molecular mechanisms of antibiotic resistance*. Nature Reviews Microbiology, 2015. **13**(1): p. 42-51.
112. Bush, K., *Bench-to-bedside review: The role of beta-lactamases in antibiotic-resistant Gram-negative infections*. Crit Care, 2010. **14**(3): p. 224.
113. Paterson, D.L. and R.A. Bonomo, *Extended-spectrum beta-lactamases: a clinical update*. Clin Microbiol Rev, 2005. **18**(4): p. 657-86.
114. Naas, T., L. Poirel, and P. Nordmann, *Minor extended-spectrum beta-lactamases*. Clin Microbiol Infect, 2008. **14 Suppl 1**: p. 42-52.
115. Ur Rahman, S., et al., *The Growing Genetic and Functional Diversity of Extended Spectrum Beta-Lactamases*. Biomed Res Int, 2018. **2018**: p. 9519718.
116. Philippon, A., et al., *A Structure-Based Classification of Class A β -Lactamases, a Broadly Diverse Family of Enzymes*. Clin Microbiol Rev, 2016. **29**(1): p. 29-57.
117. Naas, T., et al., *Beta-lactamase database (BLDB) - structure and function*. J Enzyme Inhib Med Chem, 2017. **32**(1): p. 917-919.
118. Beta-Lactamase DataBase (BLDB): Structure and Function; Available from: <http://www.bldb.eu>.
119. Castanheira, M., P.J. Simner, and P.A. Bradford, *Extended-spectrum β -lactamases: an update on their characteristics, epidemiology and detection*. JAC Antimicrob Resist, 2021. **3**(3): p. dlab092.
120. Liakopoulos, A., D. Mevius, and D. Ceccarelli, *A Review of SHV Extended-Spectrum β -Lactamases: Neglected Yet Ubiquitous*. Front Microbiol, 2016. **7**: p. 1374.
121. D'Andrea, M.M., et al., *CTX-M-type β -lactamases: a successful story of antibiotic resistance*. Int J Med Microbiol, 2013. **303**(6-7): p. 305-17.
122. Ortiz de la Rosa, J.M., P. Nordmann, and L. Poirel, *ESBLs and resistance to ceftazidime/avibactam and ceftolozane/tazobactam combinations in Escherichia*

- coli* and *Pseudomonas aeruginosa*. J Antimicrob Chemother, 2019. **74**(7): p. 1934-1939.
123. Cantón, R., et al., *IRT and CMT beta-lactamases and inhibitor resistance*. Clin Microbiol Infect, 2008. **14 Suppl 1**: p. 53-62.
 124. Chaïbi, E.B., et al., *Inhibitor-resistant TEM β -lactamases: phenotypic, genetic and biochemical characteristics*. Journal of Antimicrobial Chemotherapy, 1999. **43**(4): p. 447-458.
 125. Naas, T., L. Dortet, and B.I. Iorga, *Structural and Functional Aspects of Class A Carbapenemases*. Curr Drug Targets, 2016. **17**(9): p. 1006-28.
 126. Tamma, P.D. and P.J. Simner, *Phenotypic Detection of Carbapenemase-Producing Organisms from Clinical Isolates*. J Clin Microbiol, 2018. **56**(11).
 127. Al-Bayssari, C., et al., *Detection of expanded-spectrum β -lactamases in Gram-negative bacteria in the 21st century*. Expert Rev Anti Infect Ther, 2015. **13**(9): p. 1139-58.
 128. Martínez-Martínez, L. and J.J. González-López, *Carbapenemases in Enterobacteriaceae: types and molecular epidemiology*. Enferm Infecc Microbiol Clin, 2014. **32 Suppl 4**: p. 4-9.
 129. Noguchi, T., et al., *Role of TEM-1 β -Lactamase in the Predominance of Ampicillin-Sulbactam-Nonsusceptible Escherichia coli in Japan*. Antimicrob Agents Chemother, 2019. **63**(2).
 130. Walther-Rasmussen, J. and N. Høiby, *Class A carbapenemases*. J Antimicrob Chemother, 2007. **60**(3): p. 470-82.
 131. Meini, S., et al., *AmpC β -lactamase-producing Enterobacterales: what a clinician should know*. Infection, 2019. **47**(3): p. 363-375.
 132. Tamma, P.D., et al., *A Primer on AmpC β -Lactamases: Necessary Knowledge for an Increasingly Multidrug-resistant World*. Clin Infect Dis, 2019. **69**(8): p. 1446-1455.
 133. Doern, C.D., *Review of AmpC Beta-Lactamases in the Enterobacterales—Answers to Common Questions*. Clinical Microbiology Newsletter, 2021. **43**(10): p. 81-86.

134. Mammeri, H., et al., *Contribution of extended-spectrum AmpC (ESAC) beta-lactamases to carbapenem resistance in Escherichia coli*. FEMS Microbiol Lett, 2008. **282**(2): p. 238-40.
135. D'Angelo, R.G., et al., *Treatment options for extended-spectrum beta-lactamase (ESBL) and AmpC-producing bacteria*. Expert Opin Pharmacother, 2016. **17**(7): p. 953-67.
136. Olson, B., et al., *Broad-spectrum beta-lactam resistance in Enterobacter: emergence during treatment and mechanisms of resistance*. J Antimicrob Chemother, 1983. **11**(4): p. 299-310.
137. Choi, S.H., et al., *Emergence of antibiotic resistance during therapy for infections caused by Enterobacteriaceae producing AmpC beta-lactamase: implications for antibiotic use*. Antimicrob Agents Chemother, 2008. **52**(3): p. 995-1000.
138. Rodríguez-Guerrero, E., et al., *Systematic Review of Plasmid AmpC Type Resistances in Escherichia coli and Klebsiella pneumoniae and Preliminary Proposal of a Simplified Screening Method for ampC*. Microorganisms, 2022. **10**(3).
139. Khan, F., B. Chaudhary, and A.U. Khan, *Class D Type Beta-Lactamases*, in *Beta-Lactam Resistance in Gram-Negative Bacteria: Threats and Challenges*, M. Shahid, A. Singh, and H. Sami, Editors. 2022, Springer Nature Singapore: Singapore. p. 125-138.
140. Yoon, E.J. and S.H. Jeong, *Class D β -lactamases*. J Antimicrob Chemother, 2021. **76**(4): p. 836-864.
141. Li, J., et al., *Genome-wide identification and oxacillinase OXA distribution characteristics of Acinetobacter spp. based on a global database*. Front Microbiol, 2023. **14**: p. 1174200.
142. Poirel, L., et al., *Emergence of oxacillinase-mediated resistance to imipenem in Klebsiella pneumoniae*. Antimicrob Agents Chemother, 2004. **48**(1): p. 15-22.
143. Poirel, L., P. Kämpfer, and P. Nordmann, *Chromosome-encoded Ambler class A beta-lactamase of Kluyvera georgiana, a probable progenitor of a subgroup of CTX-M extended-spectrum beta-lactamases*. Antimicrob Agents Chemother, 2002. **46**(12): p. 4038-40.

144. Rice, L.B., *Mechanisms of resistance and clinical relevance of resistance to β -lactams, glycopeptides, and fluoroquinolones*. Mayo Clin Proc, 2012. **87**(2): p. 198-208.
145. Christaki, E., M. Marcou, and A. Tofarides, *Antimicrobial Resistance in Bacteria: Mechanisms, Evolution, and Persistence*. J Mol Evol, 2020. **88**(1): p. 26-40.
146. Ghai, I. and S. Ghai, *Understanding antibiotic resistance via outer membrane permeability*. Infect Drug Resist, 2018. **11**: p. 523-530.
147. Zhang, F. and W. Cheng, *The Mechanism of Bacterial Resistance and Potential Bacteriostatic Strategies*. Antibiotics (Basel), 2022. **11**(9).
148. Liu, Y.F., et al., *Characterization of carbapenem-non-susceptible Escherichia coli isolates from a university hospital in Taiwan*. J Antimicrob Chemother, 2008. **61**(5): p. 1020-3.
149. Gauba, A. and K.M. Rahman, *Evaluation of Antibiotic Resistance Mechanisms in Gram-Negative Bacteria*. Antibiotics (Basel), 2023. **12**(11).
150. Belay, W.Y., et al., *Mechanism of antibacterial resistance, strategies and next-generation antimicrobials to contain antimicrobial resistance: a review*. Front Pharmacol, 2024. **15**: p. 1444781.
151. Sharma, A., V.K. Gupta, and R. Pathania, *Efflux pump inhibitors for bacterial pathogens: From bench to bedside*. Indian J Med Res, 2019. **149**(2): p. 129-145.
152. Gaurav, A., et al., *Role of bacterial efflux pumps in antibiotic resistance, virulence, and strategies to discover novel efflux pump inhibitors*. Microbiology (Reading), 2023. **169**(5).
153. Hussein, R.A., S.H. Al-Kubaisy, and M.T.S. Al-Ouqaili, *The influence of efflux pump, outer membrane permeability and β -lactamase production on the resistance profile of multi, extensively and pandrug resistant Klebsiella pneumoniae*. J Infect Public Health, 2024. **17**(11): p. 102544.
154. *Routine and extended internal quality control for MIC determination and disk diffusion as recommended by EUCAST*. 2026; Available from: https://www.eucast.org/fileadmin/eucast/pdf/disk_test_documents/2026/v_16.0_EUCAST_QC_tables_routine_and_extended_QC.pdf.
155. Perera, P., et al., *Phenotypic and genotypic distribution of ESBL, AmpC β -lactamase and carbapenemase-producing Enterobacteriaceae in community-*

- acquired and hospital-acquired urinary tract infections in Sri Lanka. J Glob Antimicrob Resist*, 2022. **30**: p. 115-122.
156. Dallenne, C., et al., *Development of a set of multiplex PCR assays for the detection of genes encoding important beta-lactamases in Enterobacteriaceae. J Antimicrob Chemother*, 2010. **65**(3): p. 490-5.
 157. Yengui, M., et al., *Rapid Detection of Beta-Lactamases Genes among Enterobacterales in Urine Samples by Using Real-Time PCR. Biomed Res Int*, 2022. **2022**: p. 8612933.
 158. Woodford, N., E.J. Fagan, and M.J. Ellington, *Multiplex PCR for rapid detection of genes encoding CTX-M extended-spectrum (beta)-lactamases. J Antimicrob Chemother*, 2006. **57**(1): p. 154-5.
 159. Zhou, Q., et al., *Detection of AmpC β -lactamases in gram-negative bacteria. Heliyon*, 2022. **8**(12): p. e12245.
 160. Wassef, M., et al., *Genotypic Identification of AmpC β -Lactamases Production in Gram-Negative Bacilli Isolates. Jundishapur J Microbiol*, 2014. **7**(1): p. e8556.
 161. Pérez-Pérez, F.J. and N.D. Hanson, *Detection of plasmid-mediated AmpC beta-lactamase genes in clinical isolates by using multiplex PCR. J Clin Microbiol*, 2002. **40**(6): p. 2153-62.
 162. Qin, X., et al., *Prevalence and mechanisms of broad-spectrum beta-lactam resistance in Enterobacteriaceae: a children's hospital experience. Antimicrob Agents Chemother*, 2008. **52**(11): p. 3909-14.
 163. Hong, S.S., et al., *Multiplex PCR for rapid detection of genes encoding class A carbapenemases. Ann Lab Med*, 2012. **32**(5): p. 359-61.
 164. Swick, M.C., et al., *Expression of multidrug efflux pump genes *acrAB-tolC*, *mdfA*, and *norE* in Escherichia coli clinical isolates as a function of fluoroquinolone and multidrug resistance. Antimicrob Agents Chemother*, 2011. **55**(2): p. 921-4.
 165. Ferrari, R.G., et al., *Expression of the *marA*, *soxS*, *acrB* and *ramA* genes related to the *AcrAB/TolC* efflux pump in Salmonella enterica strains with and without quinolone resistance-determining regions *gyrA* gene mutations. Braz J Infect Dis*, 2013. **17**(2): p. 125-30.
 166. BAŞER, A., *Türkiye ve Irak hasta örneklerinden izole edilen karbapenem dirençli Klebsiella pneumoniae izolatlarının moleküler karakterizasyonu*, in *BİYOLOJİ*

ANABİLİM DALI. 2021, ERCİYES ÜNİVERSİTESİ / FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ Kayseri.

167. Chung, H.S., D. Yong, and M. Lee, *Mechanisms of ertapenem resistance in Enterobacteriaceae isolates in a tertiary university hospital*. J Investig Med, 2016. **64**(5): p. 1042-9.
168. Sati, H., et al., *The WHO Bacterial Priority Pathogens List 2024: a prioritisation study to guide research, development, and public health strategies against antimicrobial resistance*. Lancet Infect Dis, 2025. **25**(9): p. 1033-1043.
169. Boattini, M., et al., *Enterobacterales carrying chromosomal AmpC β -lactamases in Europe (EuESCPM): Epidemiology and antimicrobial resistance burden from a cohort of 27 hospitals, 2020-2022*. Int J Antimicrob Agents, 2024. **63**(5): p. 107115.
170. Telles, J.P., et al., *1289. The Challenge of Treating Community-Associated Enterobacterales Infections in a Middle-Income Country: Data from SMART 2018-2019*. Open Forum Infect Dis, 2021. **8**(Suppl 1): p. S733-4.
171. Alsaadi, A., et al., *Epidemiology and clinical characteristics of Morganella morganii infections: A multicenter retrospective study*. J Infect Public Health, 2024. **17**(3): p. 430-434.
172. Erlanger, D., et al., *Clinical manifestations, risk factors and prognosis of patients with Morganella morganii sepsis*. J Microbiol Immunol Infect, 2019. **52**(3): p. 443-448.
173. Sabtcheva, S., et al., *Genomic Characterization of Carbapenemase-Producing Enterobacter hormaechei, Serratia marcescens, Citrobacter freundii, Providencia stuartii, and Morganella morganii Clinical Isolates from Bulgaria*. Antibiotics (Basel), 2024. **13**(5).
174. Colak, M. and N. Asgin, *Antimicrobial resistance profiles of Enterobacter cloacae and Klebsiella aerogenes a tertiary hospital in Turkey: A five-years study*. Medical Science and Discovery, 2021.
175. Kohlmann, R., T. Bähr, and S.G. Gatermann, *Species-specific mutation rates for ampC derepression in Enterobacterales with chromosomally encoded inducible AmpC β -lactamase*. J Antimicrob Chemother, 2018. **73**(6): p. 1530-1536.

176. Tamma, P.D., et al., *Infectious Diseases Society of America Guidance on the Treatment of AmpC β -Lactamase-Producing Enterobacterales, Carbapenem-Resistant *Acinetobacter baumannii*, and *Stenotrophomonas maltophilia* Infections*. Clin Infect Dis, 2022. **74**(12): p. 2089-2114.
177. Çubuk, F., et al., *Species-Specific Distribution and Antimicrobial Resistance Rates of Enterobacter species Isolated from Clinical Specimens*. Turk Mikrobiyol Cem Derg, 2023. **53**(3): p. 182-187.
178. Cimen, C., et al., *Performance of disk diffusion, gradient test, and VITEK 2 for carbapenem susceptibility testing in OXA-48-like carbapenemase-producing Enterobacterales: a comparative study*. J Clin Microbiol, 2025. **63**(5): p. e0189324.
179. Girmenia, C., A. Serrao, and M. Canichella, *Epidemiology of Carbapenem Resistant Klebsiella pneumoniae Infections in Mediterranean Countries*. Mediterr J Hematol Infect Dis, 2016. **8**(1): p. e2016032.
180. Grundmann, H., et al., *Occurrence of carbapenemase-producing Klebsiella pneumoniae and Escherichia coli in the European survey of carbapenemase-producing Enterobacteriaceae (EuSCAPE): a prospective, multinational study*. Lancet Infect Dis, 2017. **17**(2): p. 153-163.
181. Demir, H.K. and Y. Nakipoglu, *Investigation of the prevalence of carbapenem resistance genes in faecal carriage of carbapenem resistant Klebsiella spp. isolates by multiplex real-time PCR method*. J Infect Dev Ctries, 2023. **17**(11): p. 1606-1612.
182. Sader Helio, S., et al., *Assessment of 30/20-Microgram Disk Content versus MIC Results for Ceftazidime-Avibactam Tested against Enterobacteriaceae and Pseudomonas aeruginosa*. Journal of Clinical Microbiology, 2018. **56**(6): p. 10.1128/jcm.01960-17.
183. Zhang, J., et al., *Performance Evaluation of the Gradient Diffusion Strip Method and Disk Diffusion Method for Ceftazidime-Avibactam Against Enterobacterales and Pseudomonas aeruginosa: A Dual-Center Study*. Front Microbiol, 2021. **12**: p. 710526.
184. Jean, S.S., et al., *Geographic variations in distributions of carbapenemase-encoding genes, susceptibilities, and minimum inhibitory concentrations of*

- inpatient meropenem-resistant Enterobacterales to ceftazidime-avibactam, meropenem-vaborbactam, and aztreonam-avibactam across four global regions: 2020-2022 data from the Antimicrobial Testing Leadership and Surveillance.* Int J Antimicrob Agents, 2025. **66**(1): p. 107500.
185. Vougiouklakis, G., et al., *Ceftazidime/Avibactam Monotherapy Versus Other Antibiotics: Where Do We Stand?* Pathogens, 2025. **14**(11): p. 1119.
 186. Carpenter, J., et al., *Activity of imipenem/relebactam against carbapenemase-producing Enterobacteriaceae with high colistin resistance.* J Antimicrob Chemother, 2019. **74**(11): p. 3260-3263.
 187. Huang, X., et al., *First Report of bla (IMP-4) and bla (SRT-2) Coproducing Serratia marcescens Clinical Isolate in China.* Front Microbiol, 2021. **12**: p. 743312.
 188. Scudeller, L., et al., *Systematic review and meta-analysis of in vitro efficacy of antibiotic combination therapy against carbapenem-resistant Gram-negative bacilli.* Int J Antimicrob Agents, 2021. **57**(5): p. 106344.
 189. Barbier, F., et al., *Rationale and evidence for the use of new beta-lactam/beta-lactamase inhibitor combinations and cefiderocol in critically ill patients.* Ann Intensive Care, 2023. **13**(1): p. 65.
 190. Rodríguez-Villodres, Á., et al., *Activity of cefepime, carbapenems and new β -lactam/ β -lactamase inhibitor combinations on Enterobacter cloacae complex and Klebsiella aerogenes in Spain (SMART 2016-2022).* JAC Antimicrob Resist, 2024. **6**(3): p. dlac087.
 191. DeMarco, M.G., et al., *Impact of media brand on cefiderocol disk diffusion results.* Journal of Clinical Microbiology, 2025. **63**(5): p. e01648-24.
 192. Bonnin, R.A., et al., *Comparison of disk diffusion, MIC test strip and broth microdilution methods for cefiderocol susceptibility testing on carbapenem-resistant enterobacterales.* Clin Microbiol Infect, 2022. **28**(8): p. 1156.e1-1156.e5.
 193. Blanco-Martín, T., et al., *Assessment of the activity and mechanisms of resistance to cefiderocol and combinations of β -lactams and the novel β -lactamase inhibitors avibactam, taniborbactam, zidebactam, nacubactam, xeruborbactam, and*

- ANT3310 in emerging double-carbapenemase-producing Enterobacterales.* Antimicrob Agents Chemother, 2024. **68**(11): p. e0092424.
194. Huang, Y.S., et al., *In Vitro Activities and Inoculum Effects of Cefiderocol and Aztreonam-Avibactam against Metallo- β -Lactamase-Producing Enterobacteriaceae.* Microbiol Spectr, 2023. **11**(3): p. e0056923.
 195. Li, C., et al., *Prevalence and Molecular Characteristics of 16S rRNA Methylase Genes in Clinical Isolates of Carbapenem-Resistant Enterobacterales.* Infect Drug Resist, 2024. **17**: p. 5137-5145.
 196. Taylor, E., et al., *High prevalence of 16S rRNA methyltransferases among carbapenemase-producing Enterobacteriaceae in the UK and Ireland.* Int J Antimicrob Agents, 2018. **52**(2): p. 278-282.
 197. Sugiarttha, I.G.E., et al., *COMPARISON RESULTS OF ANALYTICAL PROFILE INDEX AND DISC DIFFUSION ANTIMICROBIAL SUSCEPTIBILITY TEST TO TECHNICAL DEDICATED REASONABLE 300B METHOD.* INDONESIAN JOURNAL OF CLINICAL PATHOLOGY AND MEDICAL LABORATORY, 2017(Vol 23, No 2 (2017)): p. 131-137.
 198. Bartoletti, M., et al., *Clinical consequences of very major errors with semi-automated testing systems for antimicrobial susceptibility of carbapenem-resistant Enterobacterales.* Clin Microbiol Infect, 2022. **28**(9): p. 1290.e1-1290.e4.
 199. Shaaban, M., S.L. Elshaer, and O.A. Abd El-Rahman, *Prevalence of extended-spectrum β -lactamases, AmpC, and carbapenemases in Proteus mirabilis clinical isolates.* BMC Microbiol, 2022. **22**(1): p. 247.
 200. Foo, J.J., et al., *Should Cefoxitin Non-Susceptibility in Ceftriaxone-Susceptible E. coli and K. pneumoniae Prompt Concerns Regarding Plasmid-Mediated AmpC Resistance? A Genomic Characterization and Summary of Treatment Challenges in Singapore.* Antibiotics (Basel), 2025. **14**(7).
 201. Mustafa, A.S., *Whole Genome Sequencing: Applications in Clinical Bacteriology.* Med Princ Pract, 2024. **33**(3): p. 185-197.
 202. Shelburne, S.A., et al., *Whole-Genome Sequencing Accurately Identifies Resistance to Extended-Spectrum β -Lactams for Major Gram-Negative Bacterial Pathogens.* Clin Infect Dis, 2017. **65**(5): p. 738-745.

203. Probst, K., et al., *Molecular Detection of Carbapenemases in Enterobacterales: A Comparison of Real-Time Multiplex PCR and Whole-Genome Sequencing*. Antibiotics (Basel), 2021. **10**(6).
204. Wang, C., et al., *Identification of novel mobile colistin resistance gene mcr-10*. Emerg Microbes Infect, 2020. **9**(1): p. 508-516.
205. Zeng, H., et al., *Co-occurrence of blaNDM-1, rmtC, and mcr-9 in multidrug-resistant Enterobacter kobei strain isolated from an infant with urinary tract infection*. J Glob Antimicrob Resist, 2023. **33**: p. 221-226.
206. Wu, W., et al., *NDM Metallo- β -Lactamases and Their Bacterial Producers in Health Care Settings*. Clin Microbiol Rev, 2019. **32**(2).
207. Pitout, J.D.D., et al., *The Global Ascendancy of OXA-48-Type Carbapenemases*. Clin Microbiol Rev, 2019. **33**(1).
208. Petrella, S., et al., *Characterization of the chromosomal class A beta-lactamase CKO from Citrobacter koseri*. FEMS Microbiol Lett, 2006. **254**(2): p. 285-92.

9.EKLER

Ek 1: Moleküler Testler ile Tespit Edilen Gen Grupları

CTX-M GRUP 1	TE M	SH V	EB C	DH A	CI T	AC C	CM Y-2	ND M	OXA -48	IM P	VI M	KP C	ÖRN EK NO
N	P	N	P	N	N	N	N	N	N	N	N	N	E1
P	N	N	P	N	N	N	N	N	N	N	N	N	E7
N	N	N	P	N	N	N	N	N	N	N	N	N	E8
P	N	N	P	N	P	N	N	N	N	N	N	N	E17
N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	E21
P	N	N	N	P	N	N	N	N	N	N	N	N	E22
P	N	N	P	N	P	N	N	N	N	N	N	N	E27
N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	E28
P	N	N	P	N	N	N	N	N	N	N	N	N	E29
P	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	E30
P	N	N	P	N	P	N	P	P	N	N	N	N	E32
N	N	P	P	N	N	P	P	P	P	N	N	N	E35
P	N	N	P	N	N	N	N	P	N	N	N	N	E36
P	N	N	P	N	P	P	P	P	P	N	N	N	E37
P	P	N	P	N	N	N	N	P	P	N	N	N	E38
P	P	N	N	N	N	N	N	P	N	N	N	N	E39
P	P	N	N	N	N	N	N	P	N	N	N	N	E40
N	P	N	P	N	N	N	N	N	N	N	N	N	E41
P	P	N	P	N	N	N	N	P	N	N	N	N	E42
P	N	N	P	N	P	N	N	P	N	N	N	N	E43
P	N	N	P	N	N	N	N	N	N	N	N	N	E44
N	N	N	P	N	P	N	N	N	N	N	N	N	E45
P	P	N	P	P	N	N	N	N	P	N	N	N	E47
P	N	N	N	N	N	N	N	P	N	N	N	N	E53
P	P	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	E56
N	N	N	N	N	N	N	N	N	P	N	N	N	E57
P	P	N	P	N	N	N	N	N	N	N	N	N	E58
N	N	N	N	N	N	N	N	P	N	N	N	N	E59
N	N	N	P	N	N	N	N	N	N	N	N	N	E60
N	N	N	N	N	P	N	N	P	N	N	N	N	E61
N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	E63
N	N	N	N	N	N	P	P	P	N	N	N	N	E64
N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	E65
N	N	N	N	N	N	N	P	N	N	N	N	N	E69
N	N	P	P	N	P	N	N	N	N	N	N	N	E79
N	N	N	P	N	P	N	N	N	N	N	N	N	E80
N	N	N	P	P	P	N	N	N	N	N	N	N	E83

N	N	P	P	N	P	N	P	N	N	N	N	N	E84
N	N	N	N	P	N	N	N	P	N	N	N	N	E86
N	N	N	P	N	P	N	P	P	N	N	N	N	E89
N	N	N	N	N	N	N	P	N	N	N	N	N	E90
N	N	N	P	N	N	N	N	P	N	N	N	N	E91
N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	E94
N	N	N	P	N	N	N	N	N	N	N	N	N	E99
P	N	N	N	N	N	N	N	N	P	N	N	N	E105
N	N	N	P	N	N	N	N	P	P	N	N	N	E107
N	N	N	P	N	P	N	N	N	N	N	N	N	E112
N	N	N	N	N	P	N	N	N	N	N	N	N	E113
N	N	N	N	N	P	N	N	N	N	N	N	N	E115
N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	E117
N	N	N	P	N	N	N	N	N	N	N	N	N	E119
P	N	N	N	N	P	N	N	N	N	N	N	N	E123
N	N	N	P	N	N	N	N	N	N	N	N	N	E124
N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	E125
N	N	N	N	N	P	N	N	N	N	N	N	N	E126
N	N	N	N	N	P	N	N	N	N	N	N	N	E128
P	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	E129
P	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	E131
P	N	N	P	N	N	N	N	N	P	N	N	N	E135
P	N	N	P	N	P	N	P	N	N	N	N	N	E 137
N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	E146
N	N	P	P	N	P	N	N	N	N	N	N	N	E 148
P	N	N	P	N	P	N	N	N	N	N	N	N	E150
P	N	N	P	N	N	N	N	N	N	N	N	N	E152
P	P	N	P	N	P	N	N	P	N	N		N	E159
P	P	N	P	N	N	N	N	P	N	N	N	N	E160
N	N	N	N	N	N	N	N	P	N	N	N	N	E163
N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	E165
N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	E166
N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	E173
N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	E174
N	N	N	P	N	N	N	N	N	N	N	N	N	E175
N	N	N	P	N	P	N	N	N	N	N	N	N	E176
N	N	N	P	N	P	N	N	N	N	N	N	N	E177
N	N	N	N	P	P	N	P	N	N	N	N	N	E179
N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	E180
N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	E182
N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	E183
N	N	N	N	P	P	P	P	N	N	N	N	N	C3
N	N	N	N	N	P	P	P	N	N	N	N	N	C4

N	N	N	N	P	P	P	P	P	N	N	N	N	C12
N	N	N	N	P	P	P	P	N	N	N	N	N	C13
N	N	N	N	N	P	P	P	N	N	N	N	N	C14
N	N	P	N	P	P	P	P	N	N	N	N	N	C27
N	N	N	N	N	P	N	P	N	N	N	N	N	C31
P	N	N	N	N	P	P	P	N	P	N	N	N	C 37
N	N	N	N	P	P	P	P	N	N	N	N	N	C47
N	N	N	N	P	N	N	N	N	N	N	N	N	C48
N	N	N	N	P	P	P	P	N	N	N	N	N	C52
N	N	N	N	P	P	P	P	N	N	N	N	N	C57
P	N	N	N	P	P	P	P	N	N	N	N	N	C61
N	N	N	N	P	P	P	P	N	N	N	N	N	C63
P	N	N	N	P	P	N	P	N	P	N	N	N	C 73
P	P	N	N	P	P	N	P	N	N	N	N	N	P3
P	P	N	N	P	P	N	P	N	N	N	N	N	P6
P	P	N	N	P	P	N	P	N	N	N	N	N	P9
P	P	N	N	P	P	N	P	N	N	N	N	N	P11
P	P	N	N	P	P	N	P	N	N	N	N	N	P12
P	N	N	N	P	P	N	P	N	N	N	N	N	P13
P	N	N	N	N	P	N	P	N	N	N	N	N	P14
P	P	N	N	P	P	N	P	N	N	N	N	N	P 15
N	P	N	N	P	P	N	P	N	N	N	N	N	P16
N	P	N	N	N	P	N	P	N	N	N	N	N	P17
P	N	N	N	P	P	N	P	N	N	N	N	N	P18
P	N	N	N	P	P	N	P	N	N	N	N	N	P19
P	N	N	N	P	P	N	P	P	N	N	N	N	P20
P	P	P	N	P	P	N	P	N	N	N	N	N	P22
P	N	N	N	N	P	N	P	N	N	N	N	N	P23
N	P	N	N	P	P	N	P	N	N	N	N	N	P24
P	N	N	N	P	P	N	P	N	N	N	N	N	P25
P	P	N	N	P	P	N	P	N	N	N	N	N	P26
P	P	N	N	P	P	N	P	N	N	N	N	N	P27
N	N	N	N	P	P	N	P	N	N	N	N	N	P29
P	N	N	N	P	P	N	P	N	N	N	N	N	P32
P	N	N	N	P	P	N	P	P	N	N	N	N	P36
P	N	N	N	P	P	N	P	N	N	N	N	N	P38
N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	S 4
P	N	N	N	P	P	P	P	N	N	N	N	N	S12
N	N	N	N	P	N	N	P	N	N	N	N	N	S 14
P	N	N	N	N	P	P	P	N	N	N	N	N	S15
P	N	N	N	P	N	P	P	N	N	N	N	N	S17
P	P	N	N	N	P	P	P	N	N	N	N	N	S23
P	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	S32

P	N	N	N	P	P	N	P	N	N	N	N	N	S44
P	N	N	N	P	N	P	P	N	N	N	N	N	S45
P	N	N	N	P	P	P	P	N	N	N	N	N	S46
P	N	N	N	N	P	P	P	N	N	N	N	N	S47
P	N	N	N	N	P	P	P	N	N	N	N	N	S58
P	N	N	N	P	P	N	P	N	N	N	N	N	S60
P	N	N	N	N	P	N	P	N	N	N	N	N	S61
P	N	N	N	N	P	N	N	N	N	N	N	N	S62
P	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	S63
N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	M12
P	P	N	N	N	P	N	P	N	N	N	N	N	M21
P	N	N	N	N	P	P	P	N	N	N	N	N	M31
N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	M39
N	N	N	N	N	P	P	P	N	N	N	N	N	M40
N	N	N	N	N	P	N	P	N	N	N	N	N	M42
N	N	N	N	P	P	N	P	N	N	N	N	N	M43
N	N	N	N	P	P	N	P	N	N	N	N	N	M44
N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	M48
N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	M52
N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	M53
N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	M54
N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	M55
N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	M57
N	N	N	N	P	P	N	P	N	N	N	N	N	M60
N	N	P	N	P	P	N	P	N	N	N	N	N	M66
P	N	N	N	N	P	P	P	N	N	N	N	N	M67
N	N	N	N	N	P	P	P	N	N	N	N	N	M69
N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	M75
N	N	P	N	P	P	P	P	N	N	N	N	N	M76
N	N	N	N	P	P	N	P	N	N	N	N	N	M 83
N	N	N	N	N	P	P	P	N	N	N	N	N	H2
N:Negatif, P:Pozitif E:Enterobacter, C:Citrobacter,P:Providencia,S:Serratia,M:Morganella, H:Hafnia													

Ek 2. ÇDTS ile Pozitif Saptanan İzolatlar ve Sinerji Veren Antibiyotik Türleri

ÖRNEK NO	ÇDTS SONUCU	ÖRNEK NO	ÇDTS SONUCU
E1	CAZ/CTX/+	P6	FEP/+
E17	CAZ/CTX/+	P9	FEP/+
E22	FEP/+	P11	FEP/+
E47	CTX/+	P12	FEP/+
E57	FEP/+	P14	CTX/+
E79	FEP/+	P 15	FEP/+
E115	FEP/+	P16	FEP/+
E129	FEP/+	P17	FEP/+
E 148	FEP/+	P22	FEP/+
E150	FEP/+	P23	FEP/+
E152	FEP/+	P24	FEP/+
E180	FEP/+	P26	FEP/+
C3	CAZ/FEP+	P27	CAZ/FEP+
C13	FEP/+	S15	CAZ/+
C14	FEP/+	S44	CTX/FEP/+
C47	CAZ/FEP+	S58	FEP/+
C57	FEP/+	S60	CTX/FEP/+
C61	CTX/+	S61	CAZ/FEP+
C63	CTX/+	S62	FEP/+
P3	FEP/+	S63	CTX/CAZ/FEP/+
M67	FEP/+		
*FEP:sefepim,CAZ:seftazidim,CTX:sefotaksim/ +:pozitif E:Enterobacter, C:Citrobacter,P:Providencia,S:Serratia,			

Ek 3. KDT ile Pozitif Saptanan İzolatlar ve Pozitiflik Veren Antibiyotik Türleri

ÖRNEK NO	KDT SONUCU	ÖRNEK NO	KDT SONUCU
E1	CAZ/CTX/+	P17	FEP/+
E22	CTX/+	P18	CTX/+
E43	FEP/+	P19	CTX/+
E47	CTX/+	P20	CTX/+
E57	FEP/+	P22	FEP/+
E61	CTX/+	P23	FEP/+
E63	CAZ/CTX/+	P24	FEP/+
E65	CTX/+	P25	CTX/CAZ/+
E69	CTX/+	P26	FEP/+
E83	CTX/+	P27	CTX/CAZ/FEP/+
E84	CTX/+	P29	CTX/CAZ/+
E90	CTX/+	P32	CTX/+
E105	FEP/+	P36	CTX/FEP/+
E117	CTX/+	P38	CTX/+
E123	CAZ/CTX/+	S12	CAZ/FEP+
E124	CAZ/CTX/+	S 14	CTX/+
E 137	CAZ/+	S15	CAZ/FEP+
E 148	CAZ/CTX/FEP/+	S17	CTX/+
E152	CAZ/CTX/FEP/+	S23	CAZ/FEP+
E175	CAZ/CTX/+	S32	CAZ/FEP+
E180	CTX/CAZ/+	S44	CTX/CAZ/FEP/+
C13	CTX/+	S46	CAZ/FEP+
C14	CTX/CAZ/FEP/+	S47	CAZ/FEP+
C27	CTX/+	S58	CTX/CAZ/FEP/+
C31	CTX/+	S60	CTX/CAZ/FEP/+
C 37	CAZ/+	S61	CTX/CAZ/FEP/+
C47	CTX/CAZ/FEP/+	S62	CTX/CAZ/FEP/+
C48	CAZ/FEP+	S63	CTX/CAZ/FEP/+
C61	CTX/CAZ/FEP/+	M21	CAZ/CTX/+
C63	CTX/CAZ/+	M31	CTX/+
C 73	CTX/+	M40	CTX/CAZ/+
P3	FEP/+	M42	CTX/CAZ/+
P6	FEP/+	M43	CTX/CAZ/+
P9	FEP/+	M44	CTX/CAZ/+
P11	FEP/+	M60	CTX/+
P12	FEP/+	M66	CTX/CAZ/+
P13	CTX/+	M67	CTX/+
P14	CAZ/CTX/+	M69	CTX/+
P 15	FEP/+	M76	CTX/+
P16	FEP/+	M 83	CTX/CAZ/+
E: <i>Enterobacter</i> , C: <i>Citrobacter</i> , P: <i>Providencia</i> , S: <i>Serratia</i> , M: <i>Morganella</i> , FEP:sefepim,CAZ:seftazidim,CTX:sefotaksim/ +:pozitif			

Ek 4. Sıvı Mikrodilüsyon ile Tespit Edilen Mik Değerleri

ÖRNEK NO	ERTAPENEM MİK	MEROPENEM MİK	SEFTAZİDİM-AVİBAKTAM MİK	AZTREONAM-AVİBAKTAM MİK
E7	1	0.25	0.5	0.5
E8	0.5	0.5	1	1
E17	1	<0.125	0.5	1
E27	1	<0.125	1	2
E30	2	<0.125	0.5	0.5
E32	16	16	>64	0.25
E35	16	16	64	0.125
E36	16	32	64	0.125
E37	16	16	32	0.25
E38	>32	64	>64	0.5
E39	>32	64	>64	2
E40	>32	64	>64	4
E41	1	<0.125	0.5	0.5
E42	32	16	32	0.25
E43	>32	32	>64	0.25
E44	0.5	<0.125	4	2
E47	2	1	64	0.5
E53	16	16	32	0.5
E56	1	<0.125	0.25	0.125
E57	1	0.25	0.25	0.5
E58	1	<0.125	1	2
E59	16	16	64	0.25
E60	>32	64	16	1
E61	>32	128	>64	0.25
E64	>32	64	>64	0.5
E65	1	1	0.5	1
E80	1	0.25	4	1
E83	0.06	<0.125	0.25	0.5
E86	16	8	64	2
E89	32	32	32	0.5
E91	32	32	>64	0.25
E99	8	0.5	1	2
E105	32	8	>64	0.25
E107	0.25	<0.125	0.5	2
E112	0.5	0.5	0.25	1
E113	0.125	0.5	0.5	1
E125	1	1	0.25	0.25
E128	0.5	<0.125	1	1
E129	0.5	0.25	1	2
E131	0.5	8	>64	0.5
E135	1	0.5	0.25	1
E150	1	<0.125	0.5	0.5
E159	>32	32	>64	0.125
E160	>32	64	<0.06	0.125
E163	32	16	>64	0.5
E175	0.5	<0.125	32	0.5
E176	0.5	<0.125	1	1
E179	0.5	<0.125	1	1
E180	0.125	<0.125	0.25	0.5

T.C.
ERCIYES ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ DEKANLIĞI' NA

Dr. Sümeyye ZENGİN'e ait " **Klinik Örneklerden İzole Edilen Nadir Görülen Enterobacterales Türlerinde Beta Laktam Antibiyotik Direncinin Fenotipik Ve Genotipik Karakterizasyonu** " adlı çalışma, jürimiz tarafından Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalında Tıpta Uzmanlık Tezi olarak kabul edilmiştir.

Tarih: .../.../2026

İmza

Başkan:

Üye:

Üye: