Özgün Çalışma/Original Article *Mikrobiyol Bul 2022;56(2):218-229*/doi: 10.5578/mb.20229803

Geliş Tarihi (Received): 15.10.2021 • Kabul Ediliş Tarihi (Accepted): 26.03.2022

Karbapenem Dirençli *Klebsiella pneumoniae* Klinik İzolatlarına Karşı Seftazidim-avibaktam ve Kolistinin In Vitro Etkinliği

In Vitro Activity of Ceftazidime-avibactam and Colistin Against Carbapenem-Resistant *Klebsiella pneumoniae* Clinical Isolates

Tuğrul HOŞBUL[1](ID), Canset Nur AYDOGAN[1](ID), Sinem KAYA[2](ID), Orhan BEDİR[1](ID), Ramazan GÜMRAL[1](ID), Ali ALBAY[1](ID)

[1] Sağlık Bilimleri Üniversitesi Gülhane Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Ankara.
[1] *University of Health Sciences Gülhane Faculty of Medicine, Department of Medical Microbiology, Ankara, Turkey.*

[2] Sağlık Bilimleri Üniversitesi Gülhane Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Laboratuvarı, Ankara.
[2] *University of Health Sciences Gülhane Training and Research Hospital, Laboratory of Medical Microbiology, Ankara, Turkey.*

**Bu çalışma, Sağlık Bilimleri Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinatörlüğü tarafından desteklenmiştir (Proje No: 2019/102).*

***Bu çalışma, 6. Ulusal Klinik Mikrobiyoloji Hibrid Kongresi (20-24 Ekim 2021, Çevrim içi)'nde sözlü bildiri olarak sunulmuştur.*

Makale Atıfı: *Hoşbul T, Aydogan CN, Kaya S, Bedir O, Gümral R, Albay A. Karbapenem dirençli Klebsiella pneumoniae klinik izolatlarına karşı seftazidim-avibaktam ve kolistinin in vitro etkinliği. Mikrobiyol Bul 2022;56(2):218-229.*

ÖZ

Çok ilaca dirençli gram-negatif basillerin neden olduğu enfeksiyonlar dünya çapında artan oranlarda bildirilmektedir. Karbapenem dirençli *Enterobacterales* üyelerinin neden olduğu enfeksiyonların tedavisinde kolistin, tigesiklin ve aminoglikozitler neredeyse tek ve son seçenek antibiyotiklerdir. Seftazidim-avibaktam, geniş spektrumlu bir sefalosporin ve avibaktamdan oluşan karbapenem dirençli *Enterobacterales* üyelerine karşı iyi aktivite gösteren yeni bir antibiyotik kombinasyonudur. Bu çalışmada, seftazidim-avibaktam ve kolistinin karbapenem dirençli *Klebsiella pneumoniae* izolatlarına karşı in vitro aktivitesinin değerlendirilmesi ve yerel antimikrobiyal sürveyans verisinin elde edilmesi amaçlanmıştır. Çalışmaya 2018-2021 yılları arasında hastanemizde yatan hastalara ait çeşitli klinik örneklerden izole edilmiş karbapenem dirençli toplam 150 *K.pneumoniae* izolatı dahil edilmiştir. Tekrarlayan izolatlar çalışma dışı bırakılmıştır. Çalışmaya dahil edilen izolatlar; kan (n= 72), trakeal aspirat (n= 40), yara (n= 20), biyopsi ve apse (n= 10), steril vücut sıvıları (n= 5) ve periferik venöz kateter (n= 3) örneklerinden elde edilmiştir. İzolatlar matriks destekli lazer dezorpsiyon iyonizasyon-uçuş zamanı kütle spektrometresi (MALDI-TOF MS, Bruker Daltonics, Almanya) ile tanımlanmıştır. İzolatların meropenem, kolistin, seftazidim ve seftazidim-avibaktam için minimum inhibitör konsantrasyon (MİK) değerleri sıvı mikrodilüsyon yöntemiyle belirlenmiştir. İzolatların test edilen antibiyotiklere duyarlılıkları Avrupa Antimikrobiyal Duyarlılık Testi Komitesi [European Committee of Antimicrobial Susceptibility Testing (EUCAST)] kriterlerince değerlendirilmiştir. Karbapenemazların (VIM, IMP, NDM, KPC ve OXA-48) varlığı, polimeraz zincir reaksiyonu (PCR) ile özgül primerler kullanılarak araştırılmıştır. Plazmit aracılı kolistin direnci açısından *mcr-1, mcr-2, mcr-3, mcr-4* ve *mcr-5* genleri PCR ile değerlendirilmiştir. Tüm *K.pneumoniae* izolatları çalışmada değerlendirilen karbapenemaz genlerinden en az biri için pozitif bulunmuştur. İzolatların

İletişim (Correspondence): *Dr.Öğr. Üyesi Tuğrul Hoşbul, Sağlık Bilimleri Üniversitesi Gülhane Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Ankara, Türkiye.* ***Tel (Phone):*** *+90 312 304 20 00,* ***E-posta (E-mail):*** *tugrulhosbul@gmail.com*

107 (%71.3)'sinde bla_{OXA-48}, 25 (%16.7)'inde bla_{KPC}, 7 (%4.7)'sinde bla_{NDM}, 10 (%6.7)'unda bla_{OXA-48} ve bla_{KPC} birlikteliği, 1 (%0.6)'inde bla_{OXA-48} ve bla_{NDM} birlikteliği saptanmıştır. bla_{VIM} ve bla_{IMP} genlerine sahip izolat bulunmamıştır. Çalışmada araştırılan *mcr* genlerinin hiçbiri izolatlarda saptanmamıştır. İzolatların seftazidim-avibaktam ve kolistine olan duyarlılıkları sırasıyla %92.7 (139/150) ve %48 (72/150) olarak bulunmuştur. İzolatların meropenem, seftazidim, seftazidim-avibaktam ve kolistin için $MİK_{50}$ ve $MİK_{90}$ değerleri sırasıyla 32/256, > 128/> 128, 1/8 ve 4/16 µg/ml olarak saptanmıştır. Seftazidim-avibaktam dirençli izolatlardan yedisi bla_{NDM}, üçü bla_{KPC} ve biri bla_{OXA-48} ve bla_{NDM} genleri için pozitif bulunmuştur. Metalo-beta-laktamaz üreten izolatlarda seftazidim-avibaktam için yüksek MİK seviyeleri (> 128 µg/ml) saptanmıştır. Sonuç olarak, verilerimiz seftazidim-avibaktamın karbapenem dirençli *K.pneumoniae* izolatları için iyi bir alternatif terapötik seçenek olduğunu göstermektedir. *K.pneumoniae* izolatlarında yüksek oranda kolistin direncinin saptanmış olması dikkate değerdir. Ülkemiz için bu çalışmanın bir diğer dikkate değer bulgusu da bla_{KPC} üreten *K.pneumoniae* izolatlarındaki artış olmuştur. Son tercih terapötik antibiyotiklerde bile görülen direnç gelişimini önlemek için akılcı antibiyotik kullanım ilkelerine uyulmalıdır. Seftazidim-avibaktam ve kolistin sürveyansı için uygun antimikrobiyal duyarlılık testleri rutin olarak yapılmalıdır.

Anahtar kelimeler: *Seftazidim-avibaktam; kolistin; karbapenem-dirençli Enterobacteriaceae; Klebsiella pneumoniae; antibiyotik direnci.*

ABSTRACT

Infections caused by multi drug-resistant gram-negative bacilli are increasingly reported worldwide. Colistin, tigecycline and aminoglycosides are almost the only and last choice antibiotics in the treatment of infections caused by carbapenem-resistant *Enterobacterales* members. Ceftazidime-avibactam is a novel antibiotic combination consisting of a broad-spectrum cephalosporin and avibactam with good antimicrobial activity against carbapenem-resistant *Enterobacterales* members. The aim of this study was to assess the in vitro activity of ceftazidime-avibactam and colistin against carbapenem-resistant *Klebsiella pneumoniae* isolates and to obtain local antimicrobial surveillance data. A total of 150 carbapenem-resistant *K.pneumoniae* isolates obtained from various clinical samples of the patients hospitalized in our hospital between 2018-2021 were included in the study. Duplicate isolates were excluded from the study. The isolates were recovered from blood (n= 72), tracheal aspirate (n= 40), wound (n= 20), biopsy and abscess (n= 10), steril body fluid (n= 5), and peripheral venous catheter (n= 3) samples. Isolates were identified by matrix assisted laser desorption ionization-time of flight mass spectrometry (MALDI-TOF MS, Bruker Daltonics, Germany). The minimum inhibitory concentration (MIC) values of the isolates for meropenem, colistin, ceftazidime, and ceftazidime-avibactam were determined by broth microdilution method. Susceptibility of the isolates to the tested antibiotics was evaluated by the European Committee of Antimicrobial Susceptibility Testing (EUCAST) criteria. The presence of carbapenemases (VIM, IMP, NDM, KPC, and OXA-48) was investigated by polymerase chain reaction (PCR) using specific primers. The *mcr-1, mcr-2, mcr-3, mcr-4*, and *mcr-5* genes were evaluated by PCR for plasmid-mediated colistin resistance. All *K.pneumoniae* isolates were found to be positive for at least one of the carbapenemase genes evaluated in the study. The bla_{OXA-48} gene was detected in 107 (71.3%), bla_{KPC} gene in 25 (16.7%); bla_{NDM} gene in 7 (4.7%), co-production of bla_{OXA-48} and bla_{KPC} genes in 10 (6.7%), co-production of bla_{OXA-48} and bla_{NDM} genes in 1 (0.6%) isolate. None of the isolates harbored the bla_{VIM} and bla_{IMP} genes. None of the *mcr* genes screened in the study were detected among the isolates. The susceptibility of the isolates to ceftazidime-avibactam and colistin was 92.7% (139/150) and 48% (72/150), respectively. The MIC_{50} and MIC_{90} values for meropenem, ceftazidime, ceftazidime-avibactam, and colistin of the isolates were determined as 32/256, > 128/> 128, 1/8, and 4/16 µg/ml, respectively. Of the ceftazidime-avibactam resistant isolates, seven were positive for bla_{NDM}, three for bla_{KPC}, and one for both bla_{OXA-48} and bla_{NDM} genes. High ceftazidime-avibactam MIC levels (> 128 µg/ml) were detected in metallo-beta-lactamase producing isolates. Consequently, our data suggested that ceftazidime-avibactam exhibited as a good alternative therapeutic choice for carbapenem-resistant *K.pneumoniae* isolates. It is noteworthy that high rate of colistin resistance was detected in *K.pneumoniae* isolates. Another notable finding of this study is the increase in *K.pneumoniae* isolates producing bla_{KPC} for our country. To prevent the development of resistance which is observed even in last-choice therapeutic antibiotics, the principles of rational antibiotic use should be followed. The appropriate antimicrobial susceptibility testing should be routinely performed for surveillance of ceftazidime-avibactam and colistin.

Keywords: *Ceftazidime-avibactam; colistin; carbapenem-resistant Enterobacteriaceae; Klebsiella pneumoniae; antibiotic resistance.*

GİRİŞ

Gram-negatif basillerin neden olduğu enfeksiyonlar dünya çapında giderek daha fazla bildirilmektedir. Kazanılan direnç mekanizmalarına bağlı olarak gelişen antimikrobiyal direnç sorunu nedeniyle tedavide yaşanan zorluklar sürekli artmaktadır. *Enterobacterales* üyesi olan *Klebsiella pneumoniae* Türkiye dahil olmak üzere birçok ülkede enfeksiyonlara bağlı ölüm ve morbidite oranlarını artıran önemli bir faktör haline gelmiştir. Karbapenemler, genişlemiş spektrumlu beta-laktamaz (GSBL) ve/veya AmpC sefalosporinaz üreten *Enterobacterales* üyelerinin neden olduğu enfeksiyonların tedavisinde temel olarak tercih edilen beta-laktam grubu antibiyotiklerdir. Ancak karbapenem dirençli izolatların neden olduğu enfeksiyonlarda tedavi seçenekleri çok sınırlıdır ve kolistin, tigesiklin ve aminoglikozitler gibi antibiyotikler neredeyse son seçenek terapötik ilaçlar olmaya devam etmektedir[1,2].

Enterobacterales üyelerinde karbapenemlere karşı iki önemli direnç mekanizması bilinmektedir. Birincisi serin karbapenemazlar (KPC ve OXA) ve metalo-beta-laktamazlar (VIM, IMP ve NDM) gibi karbapenemazların üretilmesidir. Diğeri ise, GSBL'lerin veya Ambler sınıf C beta-laktamazların eşlik ettiği bir ya da daha fazla dış membran por proteinin fonksiyon kaybı veya azalmış ekspresyonu ile karakterize direnç gelişimidir. Karbapenem dirençli bakteriler, daha yüksek mortalite ve morbiditeye neden olarak küresel bir halk sağlığı sorunu oluşturur ve tedavi seçenekleri kısıtlıdır. Avibaktam, GSBL'ler ve *K.pneumoniae* karbapenemaz (KPC), Ambler sınıf C beta-laktamazlar ve bazı D sınıfı beta-laktamazlar dahil sınıf A beta-laktamazlara etki gösteren bir beta-laktamaz inhibitörüdür. Seftazidim-avibaktam, 2015 yılında Amerika Birleşik Devletleri Gıda ve İlaç Dairesi [U.S. Food and Drug Administration (FDA)] tarafından onaylanan, KPC ve/veya OXA beta-laktamaz üreten *K.pneumoniae* suşları gibi karbapenem dirençli *Enterobacterales* üyelerine karşı iyi etkinlik gösteren yeni bir antibiyotik kombinasyonudur[3,4]. Polimiksin grubu antibiyotiklerin bir üyesi olan kolistin, karbapenem dirençli *Enterobacterales* enfeksiyonlarının tedavisinde neredeyse son seçenek olarak kullanılmaktadır. Kolistin, gram-negatif bakterilerin dış hücre zarındaki lipopolisakkaritlere ve fosfolipitlere bağlanarak membran lipitlerinin fosfat gruplarında iki değerlikli katyonları etkilemektedir. Bunun sonucunda hücrenin dış zarı tahrip olmakta, hücre içeriği dışarı çıkarak bakterisidal etki göstermektedir[5,6]. Ancak kolistin için artan direnç oranları, sınırlı etkinlik ve toksisite ile ilgili sorunlar devam etmektedir[4,7]. Çeşitli çalışmalarda karbapenem dirençli olanlar da dahil olmak üzere çok ilaca dirençli izolatlara (ÇİD) karşı seftazidim-avibaktam ve kolistinin etkinlikleri araştırılmıştır. Öte yandan, antibiyotik duyarlılığı coğrafik duruma ve sağlık merkezlerinin koşullarına bağlı olarak değişmektedir.

Bu çalışmanın amacı, hastanemizde çeşitli klinik örneklerden elde edilmiş karbapenem dirençli *K.pneumoniae* izolatlarına karşı seftazidim-avibaktam ve kolistinin in vitro aktivitesini değerlendirmek, izolatlarda karbapenem direnç genlerinin dağılımını belirlemek ve yerel antimikrobiyal sürveyans verilerini elde etmektir.

GEREÇ ve YÖNTEM

Bu çalışma, Sağlık Bilimleri Üniversitesi Girişimsel Olmayan Araştırmalar Etik Kurul onayı ile gerçekleştirildi (Tarih: 22.10.2019 ve Karar No: 19/320).

Bakteriyel İzolatlar

Sağlık Bilimleri Üniversitesi Gülhane Eğitim ve Araştırma Hastanesi Tıbbi Mikrobiyoloji Laboratuvarı'nda, 1 Ocak 2018 ile 1 Şubat 2021 tarihleri arasında 141 farklı hastaya ait çeşitli klinik örneklerinden izole edilen toplam 150 karbapenem dirençli *K.pneumoniae* izolatı çalışmaya dahil edildi. Tekrarlayan izolatlar çalışmadan çıkarıldı. Her hasta dönemi için farklı antibiyotipte olan, özellikle kan ve dolaşım sisteminden elde edilmiş bir izolat çalışmaya dahil edildi. Çalışmadaki izolatların %48 (72/150)'i kan, %20 (30/150)'si endotrakeal aspirat, %13.3 (20/150)'ü yara, %6.7 (10/150)'si transtrakeal aspirat, %6.7 (10/150)'si doku-apse, %3.3 (5/150)'ü diğer steril vücut sıvıları (plevra sıvısı, safra sıvısı, bronkoalveolar lavaj ve beyin omurilik sıvısı), %2 (3/150)'si periferik venöz kateter örneklerinden izole edildi. İzolatlar, geleneksel yöntemlere ek olarak matriks destekli lazer desorpsiyon iyonizasyon-uçuş süresi kütle spektrometrisi (MALDI-TOF MS, Bruker Daltonics, Bremen, Almanya) ile tanımlandı. İzolatlar %20 gliserol takviye edilmiş beyin-kalp infüzyon sıvısında saklandı. Tüm izolatlar, sonraki analizlere kadar -20°C'de saklandı.

Antimikrobiyal Duyarlılık Testleri

Rutin laboratuvar testlerinde izolatların karbapenemlere duyarlılıkları Kirby-Bauer disk difüzyon yöntemi ve/veya VITEK2 sistemiyle (bio-Merieux, Fransa) belirlendi. İzolatların meropenem, kolistin, seftazidim ve seftazidim-avibaktama duyarlılıkları "The Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI)" doküman M07 önerileri doğrultusunda sıvı mikrodilüsyon yöntemi ile belirlendi[8]. Antibiyotik stok çözeltileri üretici firma önerilerine göre hazırlandı ve -80°C'de dondurularak saklandı. Sıvı mikrodilüsyon testlerinde; seftazidim ve seftazidim-avibaktam için 128-0.125 µg/ml, meropenem için 512-0.5 µg/ml, kolistin için 16-0.5 µg/ml aralıklarında konsantrasyonlar, taze hazırlanmış katyon ayarlı Mueller-Hinton sıvı besiyeri içeren 96 kuyucuklu mikroplaklarda seri iki kat seyreltmeler yapılarak hazırlandı. Avibaktam, sabitlenmiş 4 µg/ml'lik bir konsantrasyonda seftazidimle birleştirildi. İzolatların minimum inhibitör konsantrasyonu (MİK) değerleri, Avrupa Antimikrobiyal Duyarlılık Testi Komitesi [European Committee of Antimicrobial Susceptibility Testing (EUCAST)] kriterlerine göre değerlendirildi[9]. Bu kriterlere göre seftazidim için ≤ 1 µg/ml duyarlı, ≥ 8 µg/ml olan değerler dirençli; seftazidim-avibaktam için ≤ 8 µg/ml duyarlı, ≥ 16 µg/ml olan değerler dirençli; meropenem için ≤ 2 µg/ml duyarlı, ≥ 16 µg/ml olan düzeyler dirençli; kolistin için ise ≤ 2 µg/ml duyarlı ve ≥ 4 µg/ml olan sonuçlar dirençli olarak yorumlandı. Antimikrobiyal duyarlılık testlerinde *Pseudomonas aeruginosa* ATCC® 27853, *Escherichia coli* ATCC® 25922, *K.pneumoniae* ATCC® 700603 ve *E.coli* NCTC 13846 kontrol suşları kullanıldı.

Polimeraz Zincir Reaksiyonu için DNA Ekstraksiyonu

DNA eldesi, daha önce tarif edildiği şekilde kaynatma yöntemi kullanılarak gerçekleştirildi[10]. Kısaca, tüm izolatlar aerobik olarak triptik soy sıvı besiyerinde 37°C'de 18-24

saat inkübe edildi. İnkübasyon sonunda elde edilen 1 ml bakteri süspansiyonu santrifüj edildi. Çökelti 1 ml Tris-EDTA (TE) tamponuyla süspanse edildi ve 10 000 rpm'de santrifüj sonrası işlem aynı tampon çözeltisi ile üç kez tekrarlandı. Son olarak çökelti 100 µl TE ile süspanse edildi ve 100°C'de 20 dakika kaynatıldıktan sonra 10 dakika 14 000 rpm'de santrifüj edildi. Santrifüjden sonra, üstteki sıvı toplandı ve PCR yöntemi için kalıp DNA olarak kullanıldı.

PCR ile Karbapenem ve Kolistin Direnç Genlerinin Tespiti

Karbapenem direnç genlerinin (bla_{OXA-48}, bla_{NDM}, bla_{KPC}, bla_{IMP}, bla_{VIM}) ve plazmit aracılı kolistin direnç genlerinin (*mcr-1, mcr-2, mcr-3, mcr-4, mcr-5*) varlığı her biri ayrı reaksiyonlarda olmak olmak üzere Tablo I'de listelenen özgül primerler kullanılarak PCR ile araştırıldı. PCR çalışmalarında araştırılan genler için pozitif kontrol izolatlarına ait DNA'lar kullanıldı. bla_{KPC} dışındaki karbapenem direnç genleri için PCR amplifikasyonları, 2.5 µl toplam DNA, 1 X PCR tamponu [50 mM Tris-HCl (pH 8.0), 100 mM NaCl, 0.1 mM EDTA, 5 mM ditiotretiol, %50 gliserol ve %1 Triton®X-100], 2.5 mM $MgCl_2$, her bir deoksinükleotit trifosfattan (dNTP) 0.2 mM, her primerden 20 pmol ve 0.25 U Taq DNA polimeraz (5 U/µl) (ABM, Kanada) içeren 25 µl reaksiyon karışımında gerçekleştirildi. bla_{NDM} ve bla_{OXA-48} için amplifikasyon protokolü 95°C'de beş dakika başlangıç denatürasyonu ve 95°C'de 45 saniye, 60°C'de 45 saniye ve 72°C'de 60 saniyeden oluşan 36 döngü ve 72°C'de sekiz dakika son uzama olacak şekilde uygulandı[11]. bla_{VIM} ve bla_{IMP} genleri için, PCR döngü koşulları 94°C'de beş dakika başlangıç denatürasyonü, 94°C'de 30 saniye denatürasyon, 52°C'de 40 saniye bağlanma ve 72°C'de 50 saniye sentez basamaklarından oluşan 36 döngü ve 72°C'de beş dakika son uzama şeklinde uygulandı[12]. bla_{KPC} geninin tespiti için 2.0 µl bakteri DNA'sı, 1X PCR tampon çözeltisi, 2.0 mM $MgCl_2$, her dNTP'den 0.25 mM, her primerden 20 pmol ve 1 U Taq DNA polimeraz (5 U/ µl) (ABM, Kanada) içeren 25 µl PCR reaksiyon karışımı kullanıldı. bla_{KPC} direnç geni için 95°C'de beş dakika başlangıç denatürasyonu, 95°C'de 60 saniye denatürasyon, 58°C'de 30 saniye bağlanma ve 72°C'de 90 saniye sentez basamaklarından oluşan 36 döngü ve 72°C'de 10 dakika son uzama basamağından oluşan amplifikasyon protokolü uygulandı[13]. *mcr* direnç genlerinin tespiti için her bir direnç geni ayrı reaksiyonlarda olmak üzere daha önce tarif edildiği gibi toplamda 20 µl PCR karışımı ve döngü koşullarında gerçekleştirildi[14]. PCR ürünleri, Safe View (ABM, Kanada) ile boyanmış %1'lik bir agaroz jelde, 40 dakika boyunca 100 V elektrik akımındaki elektroforez sonrası UV ışığıyla görüntülendi ve Tablo I'de gösterilen amplikon uzunluğuna göre değerlendirildi.

İstatistiksel Analiz

Kategorik veriler ki-kare testi veya Fisher's exact testi kullanılarak değerlendirildi ve < 0.05 olan p değerleri istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

BULGULAR

Çalışmadaki izolatların 99'u yoğun bakımlarda yatan hasta örneklerinden, 51'i ise çeşitli kliniklerde yatan hasta örneklerinden izole edilmiştir. Yüz kırk (%93.3) *K.pneumoniae* izolatı kan, endotrakeal aspirat, yara sürüntüsü, transtrakeal aspirat ve doku kültürü klinik

Tablo I. Çalışmada Kullanılan Primerler ve Dizilimleri

Direnç geni	Primer dizilimi (5′-3′)	PCR ürünü (bp)	Kaynak
bla_{OXA-48}	F 5′ 3′-GCG TGG TTA AGG ATG AAC AC R 5′ 3′-CAT CAA GTT CAA CCC AAC CG	438	11
bla_{NDM}	F 5′ 3′-GCA GCT TGT CGG CCA TGC GGG C R 5′ 3′-GGT CGC GAA GCT GAG CAC CGC AT	782	11
bla_{VIM}	F 5′ 3′-GAT GGT GTT TGG TCG CAT A R 5′ 3′-CGA ATG CGC AGC ACC AG	390	12
bla_{IMP}	F 5′ 3′-GGA ATA GAG TGG CTT AAY TCT R 5′ 3′-CCA AAC YAC TAS GTT ATC T	188	12
bla_{KPC}	F 5′ 3′-TGT CAC TGT ATC GCG GTC R 5′ 3′-CTC AGT GCT CTA CAG AAA AAC	900	13
mcr-1	F 5′ 3′-AGT CCG TTT GTT CTT GTG GC R 5′ 3′-AGA TCC TTG GTC TCG GCT TG	320	14
mcr-2	F 5′ 3′-CAA GTG TGT TGG TCG CAG TT R 5′ 3′-TCT AGC CCG ACA AGC ATA CC	715	14
mcr-3	F 5′ 3′-AAA TAA AAA TTG TTC CGC TTA TG R 5′ 3′-AAT GGA GAT CCC CGT TTT T	929	14
mcr-4	F 5′ 3′-TCA CTT TCA TCA CTG CGT TG R 5′ 3′-TTG GTC CAT GAC TAC CAA TG	1116	14
mcr-5	F 5′ 3′-ATG CGG TTG TCT GCA TTT ATC R 5′ 3′-TCA TTG TGG TTG TCC TTT TCT G	1644	14

bp: Baz çifti.

örneklerinden elde edilmiştir. Özellikle yara yeri, doku, apse ve solunum sistemi örnekleri için Klinik Mikrobiyoloji Uzmanlık Derneği (KLİMUD) Klinik Örnekten Sonuç Raporuna uygulama rehberlerindeki kriterlere göre uygun nitelikte soyutlanmış izolatlar çalışmaya dahil edilmiştir[15,16].

EUCAST kriterlerinde önerilen meropenem duyarlılık sonuçlarına göre 20 (%13.3) izolat "duyarlı (artmış dozda)" olarak belirlenmiştir. Seftazidim-avibaktam ve kolistine duyarlılık oranları sırasıyla %92.7 (139/150) ve %48 (72/150) şeklinde bulunmuştur. İzolatların meropenem, seftazidim, seftazidim-avibaktam ve kolistin için $MİK_{50}$ ve $MİK_{90}$ değerleri sırasıyla 32/256, > 128/> 128, 1/8 ve 4/16 µg/ml olarak bulunmuştur. İzolatların test edilen antibiyotiklere olan duyarlılık test sonuçları Tablo II'de verilmiştir. Klinik örneklere göre kolistin direnç oranları kan ve periferik kateter için %38.7 (29/75), endotrakeal ve transtrakeal aspirat için %82.5 (33/40), yara, doku ve apse için %46.7 (14/30), diğer steril vücut sıvıları (plevra, safra sıvısı, bronkoalveolar lavaj, beyin omurilik sıvısı için %40 (2/5) şeklinde saptanmıştır. Solunum yolu klinik örneklerinde istatistiksel olarak anlamlı bir kolistin direnç varlığı tespit edilmiştir ($p< 0.05$). Kolistine dirençli 78 izolattan biri hariç diğer tüm kolistin dirençli izolatlar seftazidim-avibaktama duyarlı bulunmuştur.

Tablo II. *İzolatların Sıvı Mikrodilüsyon ile Antibiyotiklere Olan Duyarlılıkları (n= 150)*

Antibiyotikler	MİK Aralığı (µg/ml)	$MİK_{50}$ Değeri	$MİK_{90}$ Değeri	SDD* Sayı (%)	YDD** Sayı (%)	Dirençli Sayı (%)
MEM	512-0.5	32	256	-	20 (13.3)	130 (86.7)
CAZ	128-0.125	> 128	> 128	-	-	150 (100)
CZA	128-0.125	1	8	139 (92.7)	-	11 (7.3)
CL	16-0.250	4	16	72 (48)	-	78 (52)

MİK: Minimum inhibitör konsantrasyon, MEM: Meropenem, CAZ: Seftazidim, CZA: Seftazidim-avibaktam, CL: Kolistin.

* SDD: Standart dozda duyarlı.
** YDD: Yüksek dozda duyarlı.

Tablo III. *İzolatlarda Saptanan Karbapenemaz Genlerinin Dağılımı*

Karbapenemaz Geni	*Klebsiella pneumoniae* (n= 150) Sayı (%)
bla_{OXA-48}	107 (71.3)
bla_{KPC}	25 (16.7)
bla_{NDM}	7 (4.7)
bla_{OXA-48}+bla_{KPC}	10 (6.7)
bla_{OXA-48}+bla_{NDM}	1 (0.7)
bla_{VIM}	-
bla_{IMP}	-
Toplam	150 (100)

Tüm izolatlar çalışmada değerlendirilen karbapenemaz genlerinden en az biri için pozitif olarak bulunmuştur. İncelenen *K.pneumoniae* izolatlarından tek başına bla_{OXA-48} 107 (%71.3), yalnız bla_{NDM} 7 (%4.7) ve yalnız bla_{KPC} 25 (%16.7), hem bla_{OXA-48} hem de bla_{KPC} birlikteliği 10 (%6.7), hem bla_{OXA-48} hem de bla_{NDM} birlikteliği bir (%0.6) izolatta saptanmıştır. Çalışmamızda bla_{VIM} ve bla_{IMP} üreten izolat bulunmamıştır (Tablo III). Antimikrobiyal duyarlılık testlerinde kolistine dirençli bulunan izolatların hiçbirinde *mcr-1, mcr-2, mcr-3, mcr-4, mcr-5* kolistin direnç genleri saptanmamıştır.

TARTIŞMA

Enterobacterales üyeleri, sağlık hizmetiyle ilişkili ve toplumdan edinilen enfeksiyonların başlıca nedenlerindendir ve bu bakteriler arasında karbapenem grubu antibiyotikler için bile direnç ortaya çıkmaktadır. Bu nedenle, karbapenem dirençli bakteriler dünya genelinde özel bir ilgi alanı oluştururlar. Önceleri karbapenemlere direnç daha çok *Acinetobacter baumannii* ve *P.aeruginosa* izolatları arasında saptanmışken, son yıllarda *K.pneumoniae* karbapenem direncinin en sık bildirilen etkeni ve karbapenem direncinin yayılmasına en çok neden olan etken haline gelmiştir[2,17]. Çok ilaca dirençli izolatların prevalansı son yıllarda giderek artmaktadır ve tedavi seçenekleri oldukça sınırlı kalmaktadır. Kolistin, tigesiklin ve aminoglikozitler ÇİD izolatlar için neredeyse son seçenek tedavi edici ilaçlar

olarak kullanılmaktadırlar[18,19]. Bu nedenle, ÇİD izolatlara etkili yeni antibiyotiklere her zamankinden daha fazla gereksinim duyulmaktadır. Seftazidim-avibaktam, geniş spektrumlu bir sefalosporin olan seftazidim ve beta-laktam dışı beta-laktamaz inhibitörü olan avibaktamın kombinasyonundan oluşan yeni bir antibiyotiktir. Seftazidim-avibaktam, sınıf A beta-laktamazlar, bla_{KPC} gibi serin karbapenemazlar, sefalosporinazlar ve bla_{OXA-48} dahil olmak üzere çeşitli sınıf D beta-laktamazları üreteren *Enterobacterales* izolatlarına karşı in vitro etki gösterebilmektedir. Seftazidim-avibaktam, aktif bölgede serin kalıntılarının olmaması nedeniyle sınıf B tipi metalo-beta-laktamazlara etkili değildir[20]. Bu çalışmada seftazidim-avibaktam ve kolistinin karbapenem dirençli *K.pneumoniae* izolatlarına karşı MİK değerleri ve çalışma izolatlarında karbapenem direnç genlerinin dağılımı değerlendirilmiştir.

Seftazidim-avibaktam için çeşitli çalışmalarda izolatların antibiyotiklere olan direnç durumu ve özellikle popülasyonun karbapenem direnç geni dağılımlarının farklılığına dayalı olarak değişen direnç oranları bildirilmektedir. *Enterobacterales* üyeleri için dünya genelinde seftazidim-avibaktamın direnç oranı genellikle %0.6'dan daha az bildirilmektedir. Duyarlılık oranları, ÇİD ve GSBL pozitif *K.pneumoniae* izolatları arasında ise genellikle %94.8 ve üzerinde bildirilmiştir. Ancak karbapenem dirençli *K.pneumoniae* izolatları arasında %21'e varan direnç oranları saptanmıştır[21]. Ayrıca, yapılan çalışmalarda izolat direnç profiline bağlı olarak daha yüksek direnç oranları bildirilmiştir. James A. Karlowsky ve arkadaşları[22], 85 karbapenem dirençli *K.pneumoniae* izolatının %51.8'inin seftazidim-avibaktama dirençli olduğunu bildirmiştir. Öte yandan, Livermore ve arkadaşları[23] sınıf A ve/veya sınıf D karbapenemaza sahip olan 572 *Enterobacterales* izolatının %1.2'sinin seftazidim-avibaktama dirençli olduğunu saptamıştır. Ülkemizde OXA-48 üreten *Enterobacterales* türlerinin antibiyotiklere duyarlılıklarının araştırıldığı yakın zamanda yapılmış bir çalışmada, 42 *K.pneumoniae* izolatında seftazidim-avibaktam ve kolistine direnç oranları sırasıyla %48 ve %43 olarak bildirilmiştir[24]. Çalışmamızda yer alan tüm izolatların test edilen karbapenem direnç genlerinden en az birisine sahip olduğu bulunmuştur. Buna rağmen çalışmamızda, seftazidim-avibaktamın karbapenem dirençli *K.pneumoniae* klinik izolatlarına karşı iyi in vitro etkinlik gösterdiği saptanmıştır. Bu çalışmada toplam 150 karbapenem dirençli *K.pneumoniae* izolatının 11 (%7.3)'i seftazidim-avibaktama dirençli bulunmuştur. Seftazidim-avibaktam dirençli izolatlardan yedisinin sadece bla_{NDM}, birinin bla_{OXA-48} ve bla_{NDM} genlerine ve üçünün bla_{KPC} genine sahip oldukları saptanmıştır. Beklendiği gibi, metalo-beta-laktamaz üreten izolatlarda seftazidim-avibaktam için yüksek MİK seviyeleri (> 128 µg/ml) belirlenmiştir.

Bir siklik polipeptit antibiyotik sınıfı olan polimiksinler, ilk olarak 1947'de sporlu bir bakteri olan *Paenibacillus polymyxa*'dan (eski adıyla *Bacillus polymyxa* subsp. *colistinus*) elde edilmiştir. Polimiksinlerin bir üyesi olan kolistin (polimiksin E), ventilatörle ilişkili pnömoni ve bakteriyemi gibi karbapenem dirençli *Enterobacterales* üyelerine ait enfeksiyonlarının tedavisinde sıklıkla kullanılan bir başka değerli terapötik seçenektir[5,6]. Kolistin ile ilgili başlıca olumsuzluklar nefrotoksisiteye neden olması, doz ayarlamasındaki zorluk ve direnç gelişimidir. Kolistinin gittikçe artan klinik kullanımı, özellikle karbapenem dirençli *Ente-*

robacterales ile ilişkili enfeksiyonların yaygın olduğu ülkelerde yüksek direnç oranlarının gelişmesine neden olmaktadır[4,7]. Kolistinin hedefi olduğu lipopolisakkarit yapısındaki değişiklikler, *lpxA*, *lpxC* ve *lpxD*'deki mutasyonların neden olduğu lipid A kaybı, dış membran protein yapısının değişimi, *pmrA* ve *pmrB* genlerindeki mutasyonlar ve *pmrA* ve *phoP*'nin düzenleyici lokuslarındaki değişiklikler bakterilerde kolistin için başlıca direnç mekanizmalarıdır. Ayrıca aktarılabilir plazmit aracılı direnç genleri, bakteriler arasında kolistin direncinin gelişmesi ve yayılmasında da rol oynayabilir[5,25]. Son yıllarda farklı coğrafi bölgelerde yapılmış çeşitli çalışmalarda karbapenem dirençli *Enterobacterales* izolatları için kolistine karşı %13'ten %30.2'ye kadar değişen yüksek direnç oranları bildirilmiştir[6,26-29]. Çalışmamıza benzer bir popülasyonda yapılmış uluslararası bir sürveyans çalışmasında, bla_{OXA-48} için pozitif olan 265 *Enterobacterales* izolatının %21.3'ünün kolistine dirençli olduğu bulunmuştur[30]. Ülkemizden yakın zamanda yürütülmüş iki çalışmada *K.pneumoniae* izolatlarının kolistine direnç oranları sırasıyla %39.5 ve %55.3 olarak bildirilmiştir[31,32]. Çalışmamızda izolatların 78 (%52)'inin kolistine dirençli olduğu bulunmuştur. Kan ve periferik kateterden elde edilen invaziv *K.pneumoniae* izolatları için kolistin direnç oranı ise %38.7 (29/75) olarak saptanmıştır. Transtrakeal ve endotrakeal aspirat örneklerinde %82.5 oranında kolistine yüksek direnç saptanmıştır. Literatürde kolistine duyarlılığın araştırıldığı çok merkezli sürveyans çalışmaları bulunmasına rağmen, kan ve dolaşım sistemi örnekleri dışında ve özellikle alt solunum yollarına ait karbapenemlere dirençli *K.pneumoniae* klinik izolatlarında kolistin direncini bildiren sınırlı sayıda çalışmaya ulaşılmıştır. Asya-Pasifik bölgesinde antimikrobiyal direnç değişikliklerinin takip edildiği sürveyans programına ait bir çalışmada kolistin direnci çalışmamıza göre oldukça düşük oranda bildirilmiştir. Çalışmada, alt solunum yollarından elde edilmiş ve karbapenemlere duyarlı olmayan 111 *K.pneumoniae* izolatında kolistine direnç %8.1 olarak bulunmuştur[33]. Çalışmamızda yer alan karbapenem dirençli *K.pneumoniae* izolatlarında yüksek oranda kolistin direncinin saptanmış olması endişe verici bir duruma işaret etmektedir.

Bakterilerin antibiyotiklere duyarlılıkları bir coğrafi bölgeden diğerine hatta bir merkezden diğer merkeze değişiklik göstermektedir. Her ne kadar önemli laboratuvar verileri elde edilmiş olsa da çalışmamızın başlıca kısıtlılığı tek merkezli bir çalışma olmasıdır. Bu nedenle verilerimizin ülke verilerine genellenmesi doğru olmayacaktır. Antibiyotiklere direnç mekanizmalarının dağılımı, sağlık kuruluşlarında antibiyotiklerin klinik etkinliklerinin bir diğer önemli belirleyicisidir. Antibiyotiklerin etkinliklerinin araştırılacağı gelecekteki çalışmalarda, izolatların antibiyotik direnç mekanizmalarının kapsamlı moleküler analizini içeren çalışmamıza benzer özellikte çalışmalar yürütülmelidir. Sonuç olarak, verilerimiz seftazidim-avibaktamın karbapenem dirençli *K.pneumoniae* klinik izolatları için iyi bir alternatif terapötik seçenek olduğunu göstermektedir. Çalışma izolatlarımızda yüksek oranda kolistin direncinin saptanmış olduğu göz önünde bulundurulmalıdır. Son çare tedavi seçeneği olan antibiyotiklerde yüksek oranda gözlenen direnç gelişimini önlemek için akılcı antibiyotik kullanım ilkelerine uyulmalıdır. Seftazidim-avibaktam ve kolistinin, özellikle karbapenem dirençli izolatların neden olduğu enfeksiyonların tedavisinde kullanımı öncesinde, uluslararası rehberlerde belirtilen esaslara uygun şekilde antimikrobiyal duyarlılık testleri yapılmalıdır.

ETİK KURUL ONAYI

Bu çalışma, Sağlık Bilimleri Üniversitesi Girişimsel Olmayan Araştırmalar Etik Kurulu onayı ile gerçekleştirildi (Tarih: 22.10.2019 ve Karar No: 19/320).

ÇIKAR ÇATIŞMASI

Yazarlar bu makale ile ilgili herhangi bir çıkar çatışması bildirmemişlerdir.

KAYNAKLAR

1. Karlowsky JA, Biedenbach DJ, Kazmierczak KM, Stone GG, Sahm DF. Activity of ceftazidime-avibactam against extended-spectrum- and AmpC β-lactamase-producing Enterobacteriaceae collected in the INFORM Global Surveillance Study from 2012 to 2014. Antimicrob Agents Chemother 2016; 60: 2849-57. https://doi.org/10.1128/AAC.02286-15
2. Liao CH, Lee NY, Tang HJ, Lee SSJ, Lin CF, Lu PL, et al. Antimicrobial activities of ceftazidime–avibactam,ceftolozane–tazobactam, and other agents against Escherichia coli, Klebsiella pneumoniae, and Pseudomonas aeruginosa isolated from intensive care units in Taiwan: results from the Surveillance of Multicenter Antimicrobial Resistance in Taiwan in 2016. Infect Drug Resist 2019; 12: 545-52. https://doi.org/10.2147/IDR.S193638
3. Alraddadi BM, Saeedi M, Qutub M, Alshukairi A, Hassanien A, Wali G. Efficacy of ceftazidime-avibactam in the treatment of infections due to Carbapenem-resistant Enterobacteriaceae. BMC Infect Dis 2019; 19(1): 772. https://doi.org/10.1186/s12879-019-4409-1
4. Duin van D, Lok JJ, Earley M, Cober E, Richter SS, Perez F, et al. Colistin versus ceftazidime-avibactam in the treatment of infections due to carbapenem-resistant Enterobacteriaceae. Clin Infect Dis 2018; 66(2): 163-71. https://doi.org/10.1093/cid/cix783
5. Biswas S, Brunel JM, Dubus JC, Gaubert MR, Rolain JM. Colistin: An update on the antibiotic of the 21st century. Expert Rev Anti Infect Ther 2012; 10(8): 917-34. https://doi.org/10.1586/eri.12.78
6. Bialvaei AZ, Kafil HS. Colistin, mechanisms and prevalence of resistance. Curr Med Res Opin 2015; 31(4): 707-21. https://doi.org/10.1185/03007995.2015.1018989
7. Hakeam HA, Alsahli H, Albabtain L, Alassaf S, Duhailib ZA, Althawadi S. Effectiveness of ceftazidime–avibactam versus colistin in treating carbapenem-resistant Enterobacteriaceae bacteremia. Int J Infect Dis 2021; 109: 1-7. https://doi.org/10.1016/j.ijid.2021.05.079
8. Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). M07-A9 Methods for dilution antimicrobial susceptibility tests for bacteria that grow aerobically. 2015, Tenth Edition, Wayne, PA.
9. European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing (EUCAST). Breakpoint tables for interpretation of MICs and zone diameters. Version 12.0.2022. Available from: https://www.eucast.org/fileadmin/src/media/PDFs/EUCAST_files/Breakpoint_tables/v_12.0_Breakpoint_Tables.pdf.
10. Çakar A, Akyön Y, Gür D, Karatuna O, Öğünç D, Baysan BÖ, et al. Türkiye'de 2014 yılı içinde izole edilen karbapeneme dirençli Escherichia coli ve Klebsiella pneumoniae izolatlarında karbapenemaz varlığının araştırılması. Mikrobiyol Bul 2016; 50(1): 21-33. https://doi.org/10.5578/mb.10695
11. Doyle D, Peirano G, Lascols C, Lloyd T, Church DL, Pitout JDD. Laboratory detection of Enterobacteriaceae that produce carbapenemases. J Clin Microbiol 2012; 50(12): 3877-80. https://doi.org/10.1128/JCM.02117-12
12. Ellington MJ, Kistler J, Livermore DM, Woodford N. Multiplex PCR for rapid detection of genes encoding acquired metallo-β-lactamases. J Antimicrob Chemother 2007; 59: 321-2. https://doi.org/10.1093/jac/dkl481
13. Yiğit H, Queenan AM, Anderson GJ, Domenech-Sanchez A, Bıddle JW, Steward CD, et al. Novel carbapenem-hydrolyzing β-lactamase, KPC-1, from a carbapenem-resistant strain of Klebsiella pneumoniae. Antimicrob Agents Chemother 2001; 45: 1151-61. https://doi.org/10.1128/AAC.45.4.1151-1161.2001

14. Zhong LL, Zhou Q, Tan CY, Roberts AP, Ahmed MAES, Chen G, et al. Multiplex loop-mediated isothermal amplification (multi-LAMP) assay for rapid detection of mcr-1 to mcr-5 in colistin-resistant bacteria. Infect Drug Resist 2019; 12: 1877-87. https://doi.org/10.2147/IDR.S210226
15. Klinik Mikrobiyoloji Uzmanlık Derneği (KLİMUD). Tıbbi Mikrobiyoloji Uzmanları İçin Klinik Örnekten Sonuç Raporuna Uygulama Rehberi, Solunum Sistemi Örnekleri. Klinik Mikrobiyoloji Uzmanlık Derneği Yayınları, 2015, Ankara. Available from: https://www.klimud.org/public/uploads/files/solunum-sistemi-ornekleri.pdf. (Accessed date: 01.01.2022).
16. Klinik Mikrobiyoloji Uzmanlık Derneği (KLİMUD). Tıbbi Mikrobiyoloji Uzmanları İçin Klinik Örnekten Sonuç Raporuna Uygulama Rehberi, Deri, Deri Ekleri, Yumuşak Doku Örnekleri-Göz Örnekleri. Klinik Mikrobiyoloji Uzmanlık Derneği Yayınları, 2015, Ankara. Available from: https://www.klimud.org/public/uploads/files/deri-deri-ekleri-yumusak-doku-ornekleri-goz-ornekleri.pdf. (Accessed date: 01.01.2022).
17. Yu F, Lv J, Niu S, Du H, Tang YW, Bonomo RA, et al. In vitro activity of ceftazidime-avibactam against carbapenem-resistant and hypervirulent Klebsiella pneumoniae Isolates. Antimicrob Agents Chemother 2018; 62(8): e01031-18. https://doi.org/10.1128/AAC.01031-18
18. Chen D, Xiao L, Hong D, Zhao Y, Hu X, Shi S, et al. Epidemiology of resistance of carbapenemase-producing Klebsiella pneumoniae to ceftazidime-avibactam in a Chinese hospital. J Appl Microbiol 2021; 00: 1-7. https://doi.org/10.1111/jam.15166
19. Li Y, Sun Q, Shen Y, Zhang Y, Yang J, Shu L, et al. Rapid increase in prevalence of carbapenem-resistant Enterobacteriaceae (CRE) and emergence of colistin resistance gene mcr-1 in CRE in a hospital in Henan, China. J Clin Microbiol 2018; 56(4): e01932-17. https://doi.org/10.1128/JCM.01932-17
20. Zhou J, Yang J, Hu F, Gao K, Sun J, Yang J. Clinical and molecular epidemiologic characteristics of ceftazidime/avibactam-resistant carbapenem-resistant Klebsiella pneumoniae in a neonatal intensive care unit in China. Infect Drug Resist 2020; 13: 2571-78. https://doi.org/10.2147/IDR.S256922
21. Wang Y, Wang J, Wang R, Cai Y. Resistance to ceftazidime–avibactam and underlying mechanisms. J Glob Antimicrob Resist 2020; 22: 18-27. https://doi.org/10.1016/j.jgar.2019.12.009
22. Karlowsky JA, Kazmierczak KM, Bouchillon SK, Jonge BLM, Stone GG. In vitro activity of ceftazidime-avibactam against clinical ısolates of Enterobacteriaceae and Pseudomonas aeruginosa collected in Asia-Pacific countries: Results from the INFORM global surveillance program, 2012 to 2015. Antimicrob Agents Chemother 2018; 62(7): e02569-17. https://doi.org/10.1128/AAC.02569-17
23. Livermore DM, Meunier D, Hopkins KL, Doumith M, Hill R, Pike R, et al. Activity of ceftazidime/avibactam against problem Enterobacteriaceae and Pseudomonas aeruginosa in the UK, 2015-16. J Antimicrob Chemother 2018; 73: 648-57. https://doi.org/10.1093/jac/dkx438
24. Mataracı Kara E, Yılmaz M, İstanbullu Tosun A, Özbek B. Evaluation of the synergy of ceftazidime/avibactam in combination with colistin, doripenem, levofloxacin, tigecycline, and tobramycin against OXA-48 producing Enterobacterales. J Chemother 2020; 32(4): 171-8. https://doi.org/10.1080/1120009X.2020.1761172
25. Zafer MM, El-Mahallawy HA, Abdulhak A, Amin MA, Al-Agamy MH, Radwan HH. Emergence of colistin resistance in multidrug-resistant Klebsiella pneumoniae and Escherichia coli strains isolated from cancer patients. Ann Clin Microbiol 2019; 18(40): 1-8. https://doi.org/10.1186/s12941-019-0339-4
26. Madueño A, García JG, Fernández-Romero S, Oteo J, Lecuona M. Dissemination and clinical implications of multidrug-resistant Klebsiella pneumoniae isolates producing OXA-48 in a Spanish hospital. J Hosp Infect 2017; 96(2): 116-22. https://doi.org/10.1016/j.jhin.2017.02.024
27. Huang TD, Bogaerts P, Berhin C, Hoebeke M, Bauraing C, Glupczynski Y, et al. Increasing proportion of carbapenemase-producing Enterobacteriaceae and emergence of a MCR-1 producer through a multicentric study among hospital-based and private laboratories in Belgium from September to November 2015. Euro Surveill 2017; 22(19): 30530. https://doi.org/10.2807/1560-7917.ES.2017.22.19.30530
28. Rojas LR, Salim M, Cober E, Richter SS, Perez F, Salata RA, et al. Colistin resistance in carbapenem-resistant Klebsiella pneumoniae: Laboratory detection and impact on mortality. Clin Infect Dis 2017; 64: 711-18.
29. Rossolini GM, Stone GG. Assessment of the in vitro activity of ceftazidime/avibactam against a global collection of multidrug-resistant Klebsiella spp. from the INFORM surveillance programme (2015-2017). Int J Antimicrob Agents 2020; 56: 56-60. https://doi.org/10.1016/j.ijantimicag.2020.106111

30. Kazmierczak KM, Bradford PA, Stone GG, de Jonge BLM, Sahma DF. In vitro activity of ceftazidime-avibactam and aztreonam-avibactam against OXA-48-carrying Enterobacteriaceae isolated as part of the International Network for Optimal Resistance Monitoring (INFORM) global surveillance program from 2012 to 2015. Antimicrob Agents Chemother 2018; 62(12): 1-17. https://doi.org/10.1128/AAC.00592-18
31. Özkul Koçak C, Hazırolan G. Karbapeneme dirençli Klebsiella pneumoniae klinik izolatlarında kolistin direnci. Türk Mikrobiyoloji Cem Derg 2019; 49(1): 17-23.
32. Koyuncu Özyurt Ö, Özhak B, Öğünç D, Yıldız E, Çolak D, Günseren F, et al. Evaluation of the BD Phoenix100 system and colistin broth disk elution method for antimicrobial susceptibility testing of colistin against gram-negative bacteria. Mikrobiyol Bul 2019; 53(3): 254-61. https://doi.org/10.5578/mb.68066
33. Kuo SC, Liu CE, Lu PL, Chen YS, Lu MC, Ko WC, et al. Activity of ceftolozane-tazobactam against gram-negative pathogens isolated from lower respiratory tract infections in the Asia-Pacific region: SMART 2015-2016. Int J Antimicrob Agents 2020; 55(3): 105883. https://doi.org/10.1016/j.ijantimicag.2020.105883