

GRAM NEGATİF ENTERİK BAKTERİ İNFEKSİYONLARININ YÖNETİMİ

Yeşim TAŞOVA

Çukurova Üniversitesi Tıp Fakültesi, Mikrobiyoloji ve İnfeksiyon Hastalıkları Anabilim Dalı, ADANA
ytasova@gmail.com

ÖZET

Antibiyotik direnci önemli bir halk sağlığı sorunudur. Çok ilaca dirençli Gram negatif enterik bakterilerin oluşması hem nosokomial, hem toplumdaki kazanılan infeksiyonların yönetiminde büyük bir problem oluşturmaktadır. Enterobacteriaceae suşlarının ürettiği beta-laktamazlar, AmpC enzimleri ve kinolon direnci, bu etkenlerle oluşan infeksiyonların tedavisinde karbapenemlerin kullanımını gerektirmektedir. Bu durum ise yavaş yavaş metallo-beta-laktamaz, KPC ve OXA-48 beta-laktamazların yayılımını arttırmaktadır. Direnç nedeni ile GSBL üreten Enterobacteriaceae infeksiyonlarında uygun tedaviye başlanması gecikmektedir. Bu nedenle tedavi öncesi hızlı tanısal testler gereklidir. Karbapenemler, ciddi GSBL üreten Enterobacteriaceae infeksiyonlarında ilk seçilen ajanlardır. Bunun yanında tigesiklin, polimiksinler ve fosfomisin ise, MDR Enterobacteriaceae infeksiyonlarına karşı elde kalan ilaçlardır.

Anahtar sözcükler: çok ilaca dirençli Enterobacteriaceae infeksiyonları, genişlemiş spektrumlu beta-laktamazlar, GSBL, tedavi

SUMMARY

Management of Gram-negative Enteric Bacteria Infections

Antibiotic resistance is a major public health concern. The emergence of multidrug-resistant (MDR) gram-negative enteric bacilli creates a huge problem for the management of both nosocomial infections and community acquired infection.

Against Enterobacteriaceae, the rapid spread of extended-spectrum beta-lactamases, AmpC enzymes and quinolone resistance is forcing increased reliance on carbapenems, with resistance to these slowly accumulating via the spread of metallo-, KPC and OXA-48 beta-lactamases. In this situation, infections due to ESBL-producing Enterobacteriaceae are associated with a delay in initiation of appropriate antibacterial therapy. Failure to initiate appropriate antibacterial therapy from the start appears to be responsible for higher patient mortality. Thus, rapid diagnostic testing are required. The carbapenems are widely regarded as the drugs of choice for the treatment of severe infections due to ESBL-producing Enterobacteriaceae. Tigecycline, polymyxins and fosfomycin have increased the available therapeutic options against MDR Enterobacteriaceae infections.

Keywords: ESBL, extended-spectrum beta-lactamases, multidrug-resistant Enterobacteriaceae infection, treatment

Dirençli mikroorganizmalar global sorun olmaya son hızla devam etmektedir. Dirençli mikroorganizma infeksiyonlarının tedavilerine yönelik ajanların da aynı oranda olmasa da arttığını görüyoruz. Bu mikroorganizmalar doktoru huzursuz ederken, hastaların hayatlarını tehdit etmeye devam etmektedir. Son zamanlarda antibakteriyellerin etkilerinden kaçabilen mikroorganizmaları tanımlamak için ESKAPE (*Enterococcus faecium*, *Staphylococcus aureus*, *Klebsiella pneumoniae*, *Acinetobacter baumannii*, *Pseudomonas aeruginosa* ve *Enterobacter* türleri) olarak adlandırılan dirençli mikroorganizmalar grubu literatüre girmiştir⁽⁷⁾. Bu mikroorganiz-

maların direnç paternlerine göre de bazı tanımlar kullanıma girmiştir^(6,9,15):

1. Çok ilaca dirençli mikroorganizma (Multiple drug resistant, MDR); ≥ 3 grup antibiyotiğe dirençli olan mikroorganizmalar: Sefalosporin (sadece seftazidim veya sefepim), aminoglikozid, florokinolon, karbapenem ve piperasiline dirençli,
2. Ekstrem "drug" rezistan (XDR) mikroorganizma; kolistin ve tigesiklin hariç tüm antibiyotiklere dirençli,
3. Pan "drug" rezistan (PDR) mikroorganizma; kolistin ve tigesiklin dahil tüm antibiyotiklere dirençli patojenler.

Gram negatif mikroorganizmalar önemli nozokomiyal infeksiyonlardan (pnömoni, idrar yolu infeksiyonu, intraabdominal infeksiyonlar, deri-yumuşak doku infeksiyonları vb) sorumludur.

Bu yazıda sadece Gram negatif enterik bakteri infeksiyonlarının tedavi seçenekleri tartışılacaktır.

Direnç mekanizmaları

Antibakteriyel direnç, farklı mekanizmalar ile gelişebilir. Bazı mikroorganizmalar bir kaç mekanizmayı barındırarak çok ilaca dirençli olma potansiyeli taşırlar.

Direnç mekanizmaları^(4,6,9,15,26):

- Enzim üretimi ile antibiyotiklerin yıkılması: Beta-laktamazlar ve aminoglikozidler modifiye eden enzimler gibi.
- Antibiyotiğin bağlanma bölgesinde değişiklik oluşması: Florokinolonlara karşı Gram negatiflerde gelişen direnç.
- Dış membranda veya porinlerde değişiklik sonucu ilaç geçirgenliğinde azalma: OprD dış membran protein kaybı ile *P.aeruginosa*'da imipenem direncinin gelişmesi
- Eflüks pompası: Hücre içinden antibiyotik dışarı atar. *P.aeruginosa* ve *A.baumannii*'de görülür.

Beta-laktamaz üretimi ile gelişen direnç, Gram negatif enterik bakterilerde en önemli direnç mekanizmasıdır. Beta-laktamazlar substrat ve inhibitor profilleri ile sekans homolojilerine göre farklılaşabilirler. Klinik izolatlarda bu güne kadar en az 500 tip beta-laktamaz saptanmıştır⁽⁴⁾.

Beta-laktamazlar genellikle iki genel şemaya göre sınıflandırılırlar: Ambler moleküler sınıflandırma ve Bush-Jacoby-Mederios fonksiyonel sınıflandırma. Ambler sınıflandırması enzimin moleküler homolojisine uygun olarak 4 gruba ayrılır: A, C ve D serin beta-laktamazlar ve sınıf B metallo-beta-laktamazlardır⁽²⁶⁾.

Enterobacteriaceae ve *P.aeruginosa*'da yeni beta-laktamazlar olarak adlandırılan plazmid kaynaklı sefamisinazlar, genişlemiş spektrumlu beta-laktamazlar (GSBL'ler) ve karbapenemleri hidrolize eden enzimler (karbapenemazlar) öne çıkmaya başlamıştır. GSBL grup beta-laktamazlar,

oksimino sefalosporinlere (sefotaksim, seftazidim, seftriakson, sefuroksim ve sefepim) ve monobaktamlara (aztreonam) dirence neden olurken, sefamisinler (sefoksitin, sefotetan) veya karbapenemlerde dirence neden olmazlar. Bu enzimler klasik beta-laktamaz inhibitörleri (sulbaktam, klavulanik asit, tazobaktam) ile inhibe edilir. GSBL'lerin çoğu sınıf A Ambler içinde sınıflandırılır. Bunlar TEM ve SHV'den oluşur. GSBL'ler içeren büyük plazmidler, diğer antibiyotiklere (trimetoprim/sulfametoksazol, aminoglikozidler, florokinolonlar gibi) direnç genlerini de taşıyarak çok ilaca dirençli olabilirler^(4,26,28).

GSBL'ler kromozomal olarak kodlanabilir veya plazmid ve transpozonlar üzerinde bulunabilir. Plazmid ve transpozonlar üzerinde bulunan GSBL kolayca yayılabilir. Geniş spektrumlu sefalosporinlerin kullanımının seçicilik özelliği de, bu yayılımı artırır^(4,26,28).

GSBL ilk kez Almanya'da 1983'de tanımlanmıştır. GSBL gelişmesi iki basamakta oluşur. İlk olarak nokta mutasyonu ile plazmid ilişkili TEM ve SHV tipinde beta-laktamazlar gelişir. Bunlar daha sonra çevreden GSBL genlerini yakalayarak gelişirler (örneğin horizontal transfer ile CTX-M enzimlerini kodlayan genlerin yakalanması). Önceleri TEM ve SVH tüm dünyada yaygın iken, şimdilerde CTX-M tipi daha yaygındır^(4,10,26,27,28). GSBL 1980-1990 yılları arasında *K.pneumoniae*'de baskın iken, 2000'li yıllarda *Escherichia coli*'de de giderek artarak saptanmaya, hatta öne geçmeye başlamıştır. GSBL üreten *Klebsiella* türleri genelde nozokomiyal infeksiyonlardan izole edilirken, *Escherichia coli* daha sıklıkla toplum kökenli infeksiyonlarda görülmektedir⁽²⁷⁾.

GSBL en sık *K.pneumoniae* ve *E.coli*'de bulunur. Yanısıra diğer Gram negatif bakterilerde de (*Enterobacter* spp., *P.aeruginosa*, *Citrobacter freundii*, *Morganella morganii* ve *Serratia marcescens*) bulunur⁽⁴⁾.

GSBL içinde en yaygın olan CTX-M'nin farklı varyantları, farklı ülkelerde daha baskın olabilir. CTX-M 15 tüm dünyada en yaygın olan tiptir. Enzim tipleri veya suşa bağlı olmadan *Enterobacteriaceae*'ler dünyanın bazı yerlerinde çok ilaca dirençli olabilirler. Bu da empirik tedavilerin başarısızlık oranlarını artırabilir⁽²⁷⁾. Bu

nedenle GSBL üreten suşlar ile gelişen bakteriyemilerde ölüm, 1.85 kat daha fazla bulunmuştur⁽³⁰⁾. Yine başka bir çalışmada da *E.coli* bakteriyemilerinde GSBL üreten ve üretmeyen suşların ölüm oranları arasında farklılık gösterilmiştir (% 9 ve % 35)⁽²⁹⁾.

GSBL üreten *Enterobacteriaceae*'ler ve direnç eğilimlerini izleyen programlardan biri olan SMART programı, intraabdominal infeksiyonlardan izole edilen Gram negatif bakterilerin birkaç antibiyotige direnç aktivitelerini 2002 yılından bu yana izlemektedir. Bu programın 2007 verilerine göre GSBL üreten *E.coli* ve *Klebsiella* türlerinin seviyesi Asya'da önemli oranda artmıştır. *E.coli*, Çin'de %55, Hindistan'da % 79 GSBL pozitif olarak gösterilmiştir^(12,13). Ülkemizde HİTİT-2 çalışmasında *E.coli* ve *K.pneumoniae*'de GSBL oranı sırası ile % 42 ve % 41 olarak bulunmuştur⁽⁸⁾. Ülkemizden bir merkezin örneklerinin bulunduğu bir diğer çalışmanın sonuçları tablo 1'de gösterilmiştir⁽⁹⁾.

Tablo 1. Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi üç yoğun bakımdan alınan izolatlarda direnç [n (%)](4).

Escherichia coli	
3. kuşak sefalosporin	42.0 (50)
Şiprofloksasin	34.4 (61)
İmipenem	0.0 (57)
Aminoglikozid	34.5 (55)
Enterobacter cloacae	
3. kuşak sefalosporin	29.4 (17)
Şiprofloksasin	5.9 (17)
İmipenem	6.3 (16)
Aminoglikozid	17.6 (17)
Klebsiella pneumoniae	
3. kuşak sefalosporin	52.6 (38)
Şiprofloksasin	21.4 (42)
İmipenem	13.6 (44)
Aminoglikozid	45.0 (40)

Öte yandan, coğrafik değişiklikler olmakla birlikte Avrupa'da GSBL üretimi *Enterobacteriaceae*'ler arasında % 3.9, *Klebsiella* türlerinde % 7.2 ve *E.coli*'de % 4.9 olarak bildirilmiştir. Avrupa'da yoğun bakımlarda bu oranlar ülkeye göre değişir: Türkiye yoğun bakımlarında *K.pneumoniae* GSBL oranı % 73 iken Portekiz ve Fransa'da % 34, Belçika, Almanya, İspanya ve İsviçre'de % 1-4 olarak bulunmuştur⁽¹⁰⁾.

GSBL üreten mikroorganizmaların neden olduğu ciddi infeksiyonlarda karbapenemler

Enterobacteriaceae infeksiyonlarında ilk seçilen ajanlardır. Bu ajanların kullanımı direnç sorununu da getirmektedir. Ülkemizde karbapenem direnci HİTİT-2 çalışmasında *E.coli* suşlarında gösterilmez iken, *Klebsiella* türlerinde % 3.1 bulunmuştur⁽⁸⁾. Öte yandan *K.pneumoniae* suşlarında Yunanistan, İsrail ve Amerika'da yayılımı endişe ile izlenen KPC karbapenemazlar dikkat çekicidir. MBL'ler *Enterobacteriaceae*'lerde daha az sıklıkta olmak ile birlikte Yunanistan'da *K.pneumoniae*'de VIM-1 MBL plazmid ve integronlar arasında yayılmaktadır. Kan izolatlarının % 42'sinde bu enzim ve KPC'ler gösterilmiştir⁽³³⁾.

Tablo 2'de GSBL üreten *E.coli* ve *K.pneumoniae* suşlarının bazı özellikleri karşılaştırılmıştır⁽²⁶⁾.

AmpC sefalosporinazlar, türe özgü, kromozomal olarak kodlanan enzimlerdir. Ayrıca transfer edilebilen plazmidler üzerinde de taşınabilir ve transfer edilebilirler. Bu enzimler *Enterobacter*, *Serratia* ve *Morganella* türlerinde geniş spektrumlu sefalosporinlere dirençten sorumludur. Bu enzimler beta-laktamaz inhibitörleri ile inhibe edilemez. AmpC üreten mikroorganizmalarda dış membran porin kaybı/ eflüks pompasının aşırı ekspresyonu da olursa karbapenem direnci gelişebilir^(4,7).

Karbapenemlere direnç mekanizmaları bir kaç tanedir: Dış membran permeabilitesinde değişiklik, eflüks sisteminin aşırı çalışması -AmpC veya GSBL aşırı üretimi ile birlikte- veya spesifik karbapenemleri hidrolize eden enzimler (karbapenemazlar) ve *Enterobacteriaceae*'lerde karbapenemleri hidrolize eden beta-laktamazlardır^(20,21,27).

Enterobacteriaceae'lerde karbapenemleri hidrolize eden beta-laktamazlar, daha önce de sözü edilen metallo-beta-laktamazlar (MBL), oksasilinazlar (OXA) ve serin karbapenemazlardır. MBL'ler kromozomal genler veya transfer edilebilen genler (belli *bla* genleri) tarafından kodlanır. MBL'ler Ambler B sınıfı beta-laktamazlardandır. Kromozomal veya transfer edilebilir genler üzerinde bulunurlar. Kromozomal olanlar, beta-laktamazlar ile karşılığınca zaman içinde seçicilik ile öne çıkarlar. Öte yandan transfer edilebilir *bla* genleri ile birlikte diğer antibiyotiklere direnç genlerini ve GSBL genleri-

Tablo 2. GSBL üreten suşların özellikleri (Kaynak 26'dan değiştirilmiştir).

Özellikler	E.coli	K.pneumoniae
Orjin	Toplum başlangıçlı	Nozokomiyal
GSBL tipi	Ambler sınıf A CTX-M (özellikle CTX-M 15)	Ambler class A SHV (özellikle SHV-2, -5, -12) TEM (özellikle TEM-3, -26, -51)
İnfeksiyonun tipi	İdrar yolu İntraabdominal Primer bakteriyemi	Primer bakteriyemi Solunum sistemi İntraabdominal infeksiyon Deri ve yumuşak doku infeksiyonu İdrar yolu infeksiyonları
Duyarlılık	Tüm penisilin ve sefalosporinlere dirençli, sefamisin, karbapenem ve beta-laktamaz inhibitörlü beta-laktamlara duyarlı. Ayrıca diğer sınıf antibiyotiklere de dirençli olabilir (özellikle florokinolonlar ve kotrimoksazol)	Tüm penisilin ve sefalosporinlere dirençli, sefamisin, karbapenem ve beta-laktamaz inhibitörlü beta-laktamlara duyarlı. Ayrıca diğer sınıf antibiyotiklere de dirençli olabilir (özellikle aminoglikozid ve kotrimoksazol)
Moleküler epidemiyoloji	Dünyaya ST131 klonu ile yayılmıştır. Özellikle CTX-M 15 üreten bu klon plazmid ile yayılır.	Daha sıklıkla klinik veya hastanede klonal olarak yayılır. Plazmid aracılı yayımda gösterilmiştir.
Risk faktörleri	Tekrar eden idrar yolu infeksiyonları ve altta yatan renal patoloji. Önceden antibiyotik kullanımı (sefalosporinler ve florokinolon). Hastaneye yatış öyküsü. Bakım evinde kalmak. İleri yaş. Diyabet. Altta yatan karaciğer patolojisi. Uluslararası yolculuk.	Hastaneden uzun süre kalma. Hastalığın şiddeti (daha ciddi ve daha yüksek riskli). Yoğun bakımda uzun süre kalma. Entübasyon ve mekanik ventilasyon. Üriner veya arteriyel kateterizasyon. Önceden antibakteriyellere maruz kalma (özellikle sefalosporinler).

ni de taşıyabilir ve çok ilaca dirence yol açabilir. Hatta dış membran permeabilitesini değiştiren, tekrar düzenleyen direnç genleri bile taşınarak karbapenem direnci gelişebilir. Bu tür suşlar nozokomiyal infeksiyonlarda tedavi karmaşasını daha da arttırmaktadırlar. *P.aeruginosa* ve *A.baumannii*'de de bulunan MBL'ler aztreonam hariç tüm beta-laktamları hidrolize edebilir. Beş tip MBL vardır; IMP, VIM, SPM-1, SIM-1. VIM-2 tip MBL'ler özellikle *P.aeruginosa*'da olmak üzere en fazla olanlardır. En baskın olanlar IMP ve VIM'dir. VIM-1 ise *Enterobacteriaceae*'de en fazla bulunur ve özellikle Akdeniz ülkelerinde saptanır. Yeni MBL'ler bulunabilir ve bunların düzenli aralıklar ile izlenmesi gerekir. En tipik örneği Hindistan'da çıkan NDM-1'dir^(15,21,24,26).

NDM-1 yeni tanımlanan bir MBL'dir. İlk kez 2008'de *K.pneumoniae* ve *E.coli* tek izolatında izole edildi⁽³⁴⁾. Yeni Delhi'de hastanede yatarken İşveç'e transfer edilen bir hastadan izole edilen NDM-1, diğer MBL'ler gibi aztreonam hariç tüm beta-laktamları hidrolize eder. Diğer direnç mekanizmalarının birlikteliği ile blaNDM-1,

çoğu *Enterobacteriaceae*'yi, antibiyotiklerin çoğuna dirençli, sadece kolistin ve daha az olarak tigesikline duyarlı hale getirir⁽³⁴⁾.

MBL üreten suşlar genelde idrar, kan ve bronşiyal sıvılardan izole edilir. Çeşitli nozokomiyal infeksiyonlara yol açabilirler. Mortalite oranları % 25-75 arasında değişir. Karbapenem dirençli *Enterobacteriaceae*'lerle olan infeksiyonlar, Avrupa'nın önemli bir kısmında nadirdir. Ama bazı bölgeler (Yunanistan, Kıbrıs gibi) için aynı şey söylenemez. European Antimicrobial Resistance Surveillance Network (EARS) 2009 verilerine göre invazif *K.pneumoniae* suşlarında karbapenem direnci Yunanistan'da % 43.5, Kıbrıs'da % 17 iken, İtalya'da % 1.3, Belçika'da % 1.2 ve diğer ülkelerde < % 1 olarak belirlenmiştir (NDM-1 dahil)^(21,24).

Ambler sınıf D'de bulunan OXA beta-laktamazlardan OXA-48 karbapenemaz, en fazla ülkemizden *K.pneumoniae* ve daha az olarak *E.coli*'de rapor edilmiştir⁽²⁾. Serin karbapenemazlar diğer karbapenem direncine yol açan enzimlerdir. İlk kez *K.pneumoniae*'de bulunan

karbapenem direnci, serin karbapenemaz (KPC) iledir. A sınıfı beta-laktamazlardır. Sıklıkla plazmid üzerinde bulunurlar. *Klebsiella* türlerinin yanında *E.coli*, *Enterobacter* türleri, daha az olarak *Proteus mirabilis*, bazı *Salmonella* türleri, *P. aeruginosa* ve *Serratia* türlerinde izole edilmiştir. GSBL üreten *K.pneumoniae*'de dış membran porinlerinde azalma da, direnç gelişimine katkı sağlar⁽²⁴⁾.

KPC üreten enterobakteriyel hastalıklar, hemen her organ ve sistem infeksiyonlarında görülebilir. Genellikle sistemik infeksiyonlara yol açarlar. İdrar yolu infeksiyonları sık infeksiyon tipidir. Bu infeksiyonlar genelde idrar kateteri olmayan immünsüprese hastalarda görülür. KPC üreten bakterilerin kazanılması için öne çıkan risk faktörleri uzun süreli hastanede yatma, yoğun bakımda yatma, invazif aletler (özellikle çoklu), immünosüpresyon ve çoklu antibiyotik kullanımınıdır (karbapenem, beta-laktam ve florokinolon). KPC üreten *Enterobacteriaceae* infeksiyonlarında mortalite de artar⁽²⁴⁾.

Florokinolonlara karşı direnç, bakteri DNA replikasyonunda önemli olan DNA giraz ve topoizomerazdaki mutasyonların ardışık gelişmesi sonunda oluşur. Mutasyonların birikmesi ile birlikte, zaman içinde MİK değerleri artar. Plazmidler ile taşınan diğer direnç genlerine eşlik eden florokinolon direncinden yukarıda bahsedilmiş idi⁽⁴⁾.

Laboratuvar

Gram negatif enterik bakterilerde direncin saptanması, her laboratuvarında rutin yapılan bir işlemdir. Bu amaçla önerilen standart yöntemlerin yanında, bazı merkezlerde ileri tetkiklerin yapılması ve bunların herkes için kolay ulaşılır olması en arzu edilenidir. Bunların içinde GSBL tayini özel öneme sahiptir^(4,26).

GSBL tayini hem fenotipik, hem genotipik olarak yapılır. Fenotipik testler rutinde klinik mikrobiyoloji laboratuvarlarında yapılır iken, genotipik testler temel olarak referans veya araştırma laboratuvarlarında yapılır. Fenotipik testler tarama ve konfirmasyon adımlarını içerir. Tarama basamağında sefpodoksim (bu antibiyotik tüm TEM, SHV ve CTX-M enzimleri tarafından hidrolize edilir), seftazidim, sefotaksim, seftriakson veya aztreonam direncine bakılır.

Konfirmasyon basamağı için taramada kullanılan yukarıdaki antibiyotikler ile klavulanik asit arasındaki sinerjinin gösterilmesine dayanır. Bu amaçla kullanılan bir kaç test vardır: Çift disk sinerji testi, kombinasyon disk metodu, spesifik GSBL E testi. Eğer izolat ek olarak klavulanik asit ile inhibe edilmeyen bir beta-laktamaz (örneğin AmpC veya MBL) salgılsa, o zaman bu testlerin sensitivitesi azalır. Bu durum çoğu AmpC beta-laktamaz tarafından zayıf bir substrat olan sefepim kullanılması, kromojenik agar, kloksasin içeren agar veya MBL inaktive etmek için EDTA eklenmesi gibi yöntemler ile aşılmaya çalışılmıştır. Bu yöntemlerin çoğu yarı otomatik ticari sistemler ve antibiyotik duyarlılık sistemlerinin içine yerleştirilmiştir. Ancak performansları değişkendir ve konvansiyonel yöntemler, daha çok sayıda karşılaştırmalı çalışma sonuçları gelene kadar, bir laboratuvarın olmaz ise olmazı olarak kabul edilmelidir^(4,11).

KPC'nin sadece duyarlılık testleri saptanması, kolay değildir. Özellikle heterojen ekspresyon gösteren beta-laktamazlar bunu zorlaştırır. KPC'ye sahip bazı bakteriler, karbapenemlere duyarlı görülebilirler. Tam karbapenem direnci, dış membran permeabilite defekti gibi ikinci bir adımdan sonra ortaya çıkabilir. KPC üreten bakterilerin duyarlılık seviyesini saptamak, hangi yöntem kullanılırsa kullanılsın zor olabilir. Otomatik sistemler ile karbapenem direncinin saptanması problemlidir. Çünkü bu sistemler KPC üreten *K.pneumoniae*'leri imipenem ve meropenem % 7-87 gibi geniş bir spektrumda duyarlı olarak rapor edebilir. Genel olarak imipenem ve meropenem duyarlılığının kullanılmasının KPC saptanmasında duyarlılığı düşüktür. Bu amaç ile ertapenem duyarlılığına bakılması daha uygundur⁽²⁴⁾. Buna göre ertapenem duyarlılığı % 0-6 iken, imipenem % 26-29 ve meropenem duyarlılığı % 16-52'dir. Nitekim İsrail'de ertapenem duyarlılığını kullanarak tüm KPC üreten *Enterobacter* türleri saptanabilirken, meropenem ile bu izolatların % 24'ü kaçırılmış ve duyarlı olarak bildirilmiştir⁽²³⁾.

Ertapenem direnci tek başına KPC üretimini gösteren tek gösterge değildir. Çoğu ertapenem direnci GSBL/AmpC üretimi + dış membran defekti nedeni ile gelişir. Bu nedenle konfirmasyon testlerine gerek vardır. Çünkü

eğer KPC üretimi varsa, karbapenem kullanımı yasak iken, diğer durumda kullanımları konusunda halen tartışmalar vardır. KPC üreten *P. aeruginosa*'yı saptamak için ise karbapenemler kullanılamaz. KPC üreten bakterileri saptamak için E testi yorumlamak zordur. İç kısımda dağılık yerleşmiş koloniler, yorumlamayı özellikle *K.pneumoniae*'de zorlaştırır⁽²⁴⁾. Klinik örnekler ve gastrointestinal kolonizasyonu saptamak için tarama testleri (yayma ve imipenem içeren diskler ile tarama ve konfirmasyon testleri) kullanılmalıdır. Yeni kromojenik besiyerleri "Chromagar KPC" ile karbapenemli disk içeren MacConkey agar ile karşılaştırıldığında, karbapenem direnci daha hızlı saptanır. Polimeraz zincir reaksiyonu (PZR) eklenince duyarlılık ve özgüllük (> % 92) her iki testle artar. Geliştirilen başka yöntemler de vardır ("chromID ESBL" besiyeri gibi). Konfirmasyon için de öne çıkan bir kaç test vardır. Modifiye "Hodge" testi, en çok önerilen testtir. Ama bu testin de eksikleri vardır. En son olarak moleküler testler vardır. Ancak bunların her yerde yaygın olmaması ve maliyeti nedeni ile kullanımı sınırlıdır⁽²⁴⁾.

Dirençli Gram negatif bakterilerin klinik önemi

Dirençli Gram negatif enterik bakterilerin ekonomik boyutu önemlidir. GSBL üreten *E.coli*, *Klebsiella* ve *Proteus* türleri ile gelişen bakteriyemik 99 hasta, GSBL negatif bakterilerin yol açtığı 99 bakteriyemik kontrol grubu ile karşılaştırılmıştır. Buna göre GSBL üreten suşlar ile gelişen infeksiyonların hastane masrafı daha fazla (46,970 dolar ve 16,877 dolar), daha uzun süre yatış süresi (bakteriyeminin başlamasından sonra 11 gün ve 5 gün) ve hastane mortalitesi daha fazla (% 35 ve % 18) olarak saptanmıştır. Karıştırıcı durumlar düzeltilerek yapılan çoklu analiz yöntemi ile de GSBL üretimi bağımsız olarak, hastane masrafının artışı (p=0.003), daha uzun yatış günü (p=0.001) ve daha fazla hastane mortalitesi (p=0.008) ile ilişkili bulunmuştur. Yine bu hastalara uygun tedavi başlanması en az 48 saat gecikmektedir (% 66 ve % 7)⁽³¹⁾.

Enterobacteriaceae'lerin neden olduğu bakteriyemide GSBL'nin mortaliteye etkisi bir meta-analiz ile de gösterilmiştir. Bu metaanalize göre mortalite önemli oranda artmaktadır (RR 1.85,

% 95 GA 1.39-2.47). Ayrıca etkili tedaviye başlanmanın da geciktiği gösterilmiştir (RR 5.36, % 95 GA 2.73-10.53)⁽³⁰⁾.

Dirençli Gram negatif enterik bakteriler sadece hastanelerin değil toplumun da sorunudur. Özellikle CTX-M beta-laktamazlar ile gelişen başta idrar yolu infeksiyonları olmak üzere, idrar ve biliyer sistem kaynaklı bakteriyemiler gibi çeşitli infeksiyonlar, toplumda gelişen infeksiyonlarda zamanında uygun antibiyotik tedavisine başlamayı geciktirmektedir⁽²⁶⁾. Bu nedenle risk faktörlerine göre toplum kökenli GSBL olabileceğini öngörmek için risk faktörlerini dikkatle irdelemek gerekmektedir. Örneğin GSBL üreten *E.coli* için öne çıkan risk faktörleri ileri yaş, kadın cinsiyet, diyabet, tekrar eden idrar yolu infeksiyonları, önceden idrar yolları için enstrümantasyon kullanımı, poliklinikten takip edilen hasta, önceden aminopenisilin, sefalosporin ve florokinolon kullanma olarak özetlenebilir^(4,17,18,26). Bu risk faktörlerine bakılınca hastane kökenli olmasa da bu infeksiyonların, sağlık bakımı ile ilişkili olduğu düşünülmektedir. Ancak hangi durum olursa olsun dirençli suşların toplumda yayılması gerçeğini değiştirmez. Nitekim aynı aileden farklı bireylerde de görülmesi bunu göstermektedir. Yine sağlıklı bireylerde fekal GSBL üreten Gram negatif enterik bakterilerin taşınması da bunu desteklemektedir. Hayvanlardan insanlara geçen dirençli mikroorganizmalar da, toplumdaki bu döngüye katkı sağlamaktadır^(4,7,15,26).

Tedavi

Dirençli bakterilerin tedavisi eskisi kadar kolay olmayan, mikroorganizmalar ile klinisyen arasında geçen bir satranç maçına dönüşmüştür. Bu Gram negatif enterik bakteriler için de geçerlidir. Yukarıda belirtilen direnç mekanizmalarının her bir hasta için gözönüne alınması gereklidir. GSBL varlığı özellikle ciddi infeksiyonlarda empirik tedavi için seçilecek antibiyotik/-lerin daha karmaşıklaşmasına yol açmaktadır. Daha önce de belirtildiği gibi, GSBL üreten bir mikroorganizma, kullanılma potansiyeli olan pek çok antibiyotiğe de direnci beraberinde getirmektedir. Artık GSBL üreten Gram negatif enterik bakteri infeksiyonlarının zamanında tedavisi için kültür sonuçları gelene kadar empirik teda-

visinde kullanılacak ajana karar vermek daha da zorlaşmıştır. Öncelikli olarak ulusal, hastane ve toplumun direnç paternini bilmek ve bunu hastanın özellikleri ile birleştirmek gereklidir. Böylece risk faktörlerine göre dirençli bakteriler öngörülebilir.

Öte yandan bir ajanın in-vitro aktivitesi klinikte her zaman in-vivo aktivitesinin garantisi olmayabilir. Özellikle inokulum etkisi, bu tarz uyumsuzluğun önemli bir nedeni olabilir. Bu sefalosporinler, beta-laktamaz inhibitörlü beta-laktamlar (örn piperasilin-tazobaktam ve daha az olarak amoksisilin-klavulanat) ve daha az olarak florokinolonlar ile görülür. Bu nedenle ciddi GSBL üreten *Enterobacteriaceae* infeksiyonlarında karbapenemler, ilk seçilecek ajanlar olarak öne çıkar. Bu ajanlar, vücutta yayılımları, yüksek konsantrasyona ulaşmaları ve inokulum etkisinin olmaması nedeni ile ideal ajanlar olarak durmaktadır. En önemli sakıncaları olarak maliyet, sadece parenteral verilmesi ve geniş spektrumu nedeni ile mantar gibi diğer fırsatçı infeksiyonlar ve karbapenem dirençli bakterilerin seçilmesi öne çıkmaktadır^(7,26).

The Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI), GSBL üreten *E.coli*, *K.pneumoniae*, *Klebsiella oxytoca* ve *Proteus mirabilis*'i in-vitro duyarlılık verilerine bakılmaksızın penisilinler, sefalosporinler ve monobaktamlara dirençli olarak rapor edilmesini önermektedir. Bu kılavuz ayrıca sıklıkla duyarlı görülen dördüncü kuşak sefalosporinlerin de (sefepim) kapsanmasını önermektedir. CLSI 2010 yılında yeni sefalosporin kırılma noktalarını yayınlamıştır⁽²⁶⁾.

GSBL üreten *Enterobacteriaceae*'lerin beta-laktam olmayan antibiyotiklere (florokinolon, aminoglikozid, tetrasiklin, kotrimoksazol vb) direnç durumu her ülke, her şehir, hatta hastane için de izlenmelidir⁽¹⁵⁾.

Tablo 3. *Enterobacteriaceae*'lerde tedavi seçenekleri.

Mikroorganizma ve antibiyotik direnci	Sık direnç mekanizması	Kullanılabilecek antibiyotikler
<i>E.coli</i> , <i>Klebsiella</i> ve <i>Enterobacter</i> türleri - Oksiamino-sefalosporinler (seftriakson, sefotaksim, seftazidim ve sefepim)	GSBL (AmpC'nin aşırı üretimi dahil)	Karbapenem, tigesiklin*
- Karbapenemler	Karbapenemaz, permeabilite azalması	Polimiksinler, tigesiklin*

*Tigesiklin düşük serum düzeyi nedeni ile Gram negatif bakteriyemilerde kullanımı sınırlıdır. Ayrıca tedavi sırasında direnç gelişebilir.

Tablo 3'de dirençli *Enterobacteriaceae* infeksiyonlarında kullanılabilecek antibiyotikler gösterilmektedir. Buna göre karbapenemler, polimiksin ve tigesiklin, empirik tedavide seçilmesi gereken antibiyotikler olarak öne çıkmaktadır.

Karbapenemler

Karbapenemler, ciddi Gram negatif enterik bakteri infeksiyonlarında seçilecek ajanların başında gelmektedir. Bir kaç çalışmada üstünlükleri gösterilen bu ajanların klinik kullanımda olanları imipenem, meropenem, doripenem ve ertapenemdir. Ciddi infeksiyonlarda kullanılan karbapenemlere karşı tedavi sırasında direnç gelişebileceği unutulmamalı ve izlenmelidir: Örneğin *K.pneumoniae*'de CTX-M + OmpK36 porin kaybı ile ertapenem direnci, CYM-2 ve OmpF porin ve OmpC porin (*E.coli*) imipeneme direnç gelişmesi. Ertapeneme direnç, *Klebsiella* ve *Enterobacter* türlerinde çeşitli GSBL'lerin üretimi ve AmpC beta-laktamaz ile birlikte porin kaybı da eşlik ederse görülmüştür^(6,11,26).

FDA tarafından en son onay alan doripenem, Gram negatif etki spektrumu ile meropeneme, Gram pozitif etki spektrumu ile de imipeneme benzer. Bu karbapenemin potansiyel avantajı in-vitro olarak direnç seçimine etkisinin daha az olmasıdır⁽²¹⁾.

Sefalosporinler

İkinci ve üçüncü kuşak sefalosporinlerin özellikle ciddi infeksiyonlarda kullanımı, artık bu mikroorganizmalar ile gelişen infeksiyonlarda seçenekler arasında değildir. Bazı durumlarda (örneğin CTX-M üreten *E.coli* bakteriyemisinde in-vitro seftazidim duyarlı ise kullanılması gibi) kullanılabilecekleri yönünde yayınlar varsa da daha kapsamlı, geniş çalışmalara ihtiyaç vardır.

Sefepimin GSBL üreten bakterilere karşı

aktivitesi daha iyi görülmektedir. İn-vitro çalışmalarında GSBL üreten Gram negatif enterik bakteriler de duyarlı görülmektedir. Bu da bazı infeksiyonlarda özellikle üçüncü kuşak sefalosporinlere dirençli olan mikroorganizmalar ile gelişenlerde kullanılabilir gibi görünmektedir. Sefepiminin farmakokinetik ve farmakodinamik özellikleri de bakterisidal etkiye katkı sağlamaktadır^(4,26).

Beta-laktamaz inhibitörlü / Beta-laktamlar

Bazı infeksiyonlarda piperasilin-tazobaktam ile başarı gösterilmek ile birlikte özellikle çeşitli direnç genlerinin dolaştığı hastane ortamında ciddi infeksiyonlarda kullanımı konusu yeterince güvenli değildir^(4,26).

Aminoglikozidler ve florokinolonlar

Özellikle tüm dünyada toplumda en yaygın olarak bulunan CTX-M-15 genellikle aminoglikozid modifiye eden enzimleri de beraberinde taşıyan plazmid üzerinde bulunur⁽⁴⁾.

Aynı durum florokinolonlar için de geçerlidir. CTX-M taşıyan *Enterobacteriaceae*'lerde kinolon direnci değişik bölgelerde % 55-100 arasındadır. Bu da özellikle empirik tedavide florokinolon kullanımını kısıtlamaktadır⁽²⁶⁾.

Fosfomisin

Bakterisidal bir ajan olan fosfomisin peptidoglikan sentezinin ilk basamağını engelleyerek hücre duvar sentezini bozar. Geniş bir aktivite spektrumu (Gram negatif ve pozitif bakteriler) vardır ve direnç nadirdir (*E.coli* % 2, *K.pneumoniae*'de % 7.3). Uzun süredir kullanımdadır ve çoğu üropatojene etkilidir. Diğer ajanlar ile çapraz direnç de oldukça nadirdir. Ayrıca farklı tipteki GSBL'lere etkinliği de aynıdır^(5,7). Asemptomatik sistitte tercih edilir. İspanya'dan fosfomisin direnci *E.coli* de tanımlanmıştır⁽²⁵⁾.

Fosfomisin trometamin, komplikasyonsuz sistitte tek doz olarak onay almıştır. Fosfomisin disodyum intravenöz ve intramusküler formu vardır. Yan etki oranları oldukça düşüktür. En sık yan etkiler gastrointestinal yakınmalar (bulantı, kusma, diyare), karaciğer enzimlerinde artış, intravenöz injeksiyon yerinde lokal iritasyon olarak görülür⁽²⁷⁾. Fosfomisinin ciddi infeksiyonlarda kullanımı ile ilgili bilgiler oldukça

kısıtlıdır. Ancak gelecekte umut vaat eden bir ajan olabileceği de gözönünde tutulmalıdır⁽⁵⁾.

Polimiksinler

Polimiksinler (kolistin ve polimiksin B) 1940'lerde bulunmuş, nefrotoksitesi nedeni ile kullanımı yaygınlaşmamıştır. Ancak son dönemlerde karbapenemlere dirençli Gram negatif bakteri infeksiyonları ile birlikte kullanımı tekrar yaygınlaşmıştır. Kolistin, *Enterobacteriaceae* (karbapenemaz üretenler dahil), *Haemophilus influenzae*, *Legionella pneumophila*, çok ilaca dirençli *P.aeruginosa* ve *Acinetobacter* türleri ve *Stenotrophomonas maltophilia*'ya karşı etkilidir. *Serratia*, *Proteus* türleri, *Burkholderia cepacia* ve *Flavobacterium* türleri doğal dirençlidir^(6,7,19,21).

Kolistinin iki formu vardır: Kolistin sülfat (tablet ve şurup formları) ve kolistin metansulfonat (kolistemat sodium; CMS, parenteral kullanılan formları). Ayrıca ABD ve Brezilya'da polimiksin B sülfat da parenteral kullanılır. Potenslerine göre en güçlüden sıralanırsa polimiksin B sülfat > kolistin sülfat > CMS^(19,20,26).

Kolistin bakteri hücre duvar sentezine etki ederek konsantrasyona bağlı sidal etki gösterir. Farmakokinetik ve farmakodinamik bilgiler oldukça kısıtlı olduğu için optimal dozun ne olduğu belli değildir⁽¹⁹⁾.

Kolistin dirençli *K.pneumoniae* Yunistan'da yoğun bakımlarında % 37 ile dikkat çekmiştir. Sadece direnç değil, ayrıca *Proteus* ve *Serratia* türleri ile gelişen 'breakthrough'lar da dikkat çekicidir⁽¹⁾.

En önemli yan etkileri nefrotoksitite ve nörotoksititedir. CMS ile ilk kullanım zamanlarında özellikle akut tübüler nekroz olmak üzere nefrotoksitite % 20 oranında bulunmuştur. Bugünlerde yoğun bakım hastalarında bu oran CMS için % 0-36 arasında değişmektedir. Polimiksin B için ise son veriler % 0-14 arasında değişmektedir. Diğer nefrotoksik ajanlar ile birlikte verilmemesine dikkat edilmelidir^(6,26). Nörotoksite insidansı ilk kullanım sırasında % 7 civarındadır. Fasiyal parestezi, baş dönmesi, vertigo, görme bozukluğu, konfüzyon, ataksi ve nöromusküler blokaj (solunum yetmezliğine yol açabilir) ve apne en sık rapor edilen yan etkilerdir. İntraventriküler verilmesini takiben konvülsiyon ve inhaler verilmeyi takiben bronko-

spazm gelişebilir. Bu durum, inhaler verilmeden önce beta adrenoseptör agonistinin inhalasyonu ile önlenabilir. Nefrotoksisite ve nörotoksisite doza bağlı ve geri dönüşümlüdür⁽¹⁹⁾.

Ülkemizde de bulunan formu ile kolistimetat sodium için önerilen doz 2-4 doza bölünerek 2.5-5 mg/kg/gündür. İntratekal olarak ise 12-24 saatte bir 3.5-10 mg iken, intraventriküler olarak 5-20 mg/gün olarak önerilir.

Tigesiklin

Minosiklinden türetilen glisilsiklin grubu bir antibiyotik olan tigesiklin European Medicines Agency (EMA) tarafından komplike deri ve yumuşak doku infeksiyonu ile intraabdominal infeksiyonlar için onay almıştır. Ayrıca FDA tarafından 2009 yılında toplum kökenli pnömonilerde kullanım onayı almıştır^(6,7,15).

Tigesiklin in-vitro olarak aerobik ve anaerobik dirençli Gram negatif ve pozitif bakterilere etkilidir. Buna göre Gram pozitiflerden MRSA, MRSE, penisilin dirençli *Streptococcus pneumoniae*, VRE, anaeroblara (*Bacteroides fragilis*) etkilidir. Gram negatif spektrum içinde ise çok ilaca dirençli *A.baumannii*, GSBL üreten *Enterobacteriaceae*, KPC ve VIM üreten *K.pneumoniae* ve *S.maltophilia*'ya etkilidir. Bununla birlikte 2001-2006 yılları arasında *Enterobacter* ve *Klebsiella* türleri arasında giderek artan direnç önemlidir^(6,26). TEST çalışmalarının 2000-2005 tarihleri arasındaki kısmında karbapenemaz üreten (serin laktamaz ve MBL) *Enterobacteriaceae*'lerin tigesiklin duyarlılığı % 100 olarak verilmiştir⁽³⁾.

Tigesikline *Proteus*, *Providencia* ve *Paeruginosa* doğal olarak dirençlidir^(4,26). Bu nedenle tedavi sırasında bu bakteriler ile gelişen süperinfeksiyon görülebilir. Çok ilaca direncin yaygın olduğu kurumlarda (özellikle KPC baskın ise) tigesiklinin kolistin veya aminoglikozidler ile kombine kullanımı önerilir⁽²⁴⁾.

Tigesiklin bakteriyostatiktir. 30S ribosomal alt birimine bağlanıp protein sentezini inhibe ederek etki gösterir. Eski tetrasiklinleri inaktive eden aktif eflüks ve ribozomal korunma gibi mekanizmalardan etkilenmez. Dolayısı ile tetrasiklin dirençli suşlara da etkilidir^(6,7,15).

Tigesiklin, IV formunda bulunmaktadır. 100 mg yükleme dozunu takiben 2x50 mg/gün verilir. Yarı ömrü 37±12 saattir. Doku dağılımı

safrada, safrada kesesi ve kolonda ümit verici iken, akciğer konsantrasyonu düşüktür. Serum konsantrasyonu düşük olduğu için intravasküler infeksiyonlar veya eşlik eden bakteriyemi olduğunda MİK değerleri Cmax'a yakın seyrederek. Bu da tedavi sırasında direnç gelişimini kolaylaştırır. Ayrıca klinik başarısızlığa yol açabilir. Safra yolu ile atılır ve sitokrom P450 sisteminden etkilenmez. Karaciğer yetmezliğinde (Child Plugh C) doz ayarlanır. 100 mg yükleme dozunu takiben idame dozu yarıya düşer. Böbrek yetmezliğinde doz ayarlamaya gerek yoktur. Tigesiklin yan etkileri bulantı, kusma, anoreksi ve diyare olarak öne çıkmıştır^(4,6,7,15,26).

Yunanistan'da KPC üreten *K.pneumoniae* nozokomiyal salgını sırasında ilaç duyarlılığı test edilmiştir. Şuşlar tigesiklin ve kolistin duyarlı idi. Kolistin ve/veya tigesiklin ve/veya gentamisin ile % 87.5 klinik başarı başarı sağlanmış, ama bazı hastalarda kültür pozitifliği devam etmiştir⁽²²⁾.

Son bir derlemede karbapenem dirençli veya GSBL üreten veya çok ilaca dirençli *Enterobacteriaceae*'lerde tigesiklin ile başarı % 69.7 olarak rapor edilmiştir⁽¹⁶⁾.

Kombinasyon tedavisi

Çok ilaca dirençli Gram negatif enterik bakterilerin tedavisinde kombinasyon kullanımına dair kanıt azdır. Polimiksin ve karbapenem (karbapenem direncinin olduğu durumlarda bile) kombinasyonu tek başına karbapenem kullanımına göre daha düşük mortaliteye neden olmuştur. Yine aminoglikozidler veya polimiksin ve tigesiklin kombinasyonu, KPC üreten mikroorganizmalar ile gelişen infeksiyonların tedavisinde polimiksinin tek başına kullanımına göre daha başarılı sonuçlar vermiştir. Polimiksin tek başına kullanımında MİK değerlerindeki artış da dikkat çekicidir^(14,32).

Sonuç olarak dirençli Gram negatif enterik bakterilerin tedavisi giderek zorlaşmaktadır. Mikrobiyoloji ve klinik birlikteliği her zamankinden daha önemlidir. O nedenle klinisyen, mikrobiyoloji uzmanına gerekli bilgileri vererek konsültasyon yapmalı, mikrobiyolog da sadece suş bazında değil hasta bazında verileri değerlendirmelidir.

KAYNAKLAR

1. Antoniadou A, Kontopidou FV, Poulakou G et al. Colistin-resistant isolates of *Klebsiella pneumoniae* emerging in intensive care unit patients: first report of a multiclonal cluster, *J Antimicrob Chemother* 2007;59(6):789-90.
2. Carrër A, Poirel L, Eraksoy H, Cagatay AA, Badur S, Nordmann P. Spread of OXA-48-positive carbapenem-resistant *Klebsiella pneumoniae* isolates in Istanbul, Turkey, *Antimicrob Agents Chemother* 2008;52(8):2950-4.
3. Castanheira M, Sader HS, Deshpande LM et al. Antimicrobial activities of tigecycline and other broad-spectrum antimicrobials tested against serine carbapenemase - and metallo-beta-lactamase-producing Enterobacteriaceae: report from the SENTRY Antimicrobial Surveillance Program, *Antimicrob Agents Chemother* 2008;52(2):570-3.
4. Falagas ME, Karageorgopoulos DE. Extended-spectrum beta-lactamase-producing organisms, *J Hosp Infect* 2009;73(4):345-54.
5. Falagas ME, Kastoris AC, Kapaskelis AM, Karageorgopoulos DE. Fosfomycin for the treatment of multidrug-resistant, including extended-spectrum beta-lactamase producing Enterobacteriaceae infections: a systematic review, *Lancet Infect Dis* 2010;10(1):43-50.
6. Giamarellou H. Multidrug-resistant Gram-negative bacteria: how to treat and for how long, *Int J Antimicrob Agents* 2010;36(Suppl 2):S50-4.
7. Giamarellou H, Poulakou G. Multidrug-resistant Gram negative infections: what are the treatment options? *Drugs* 2009;69(14):1879-901.
8. Gür D, Haşçelik G, Aydın N et al. Antimicrobial resistance in Gram-negative hospital isolates: results of the Turkish HITIT-2 Surveillance Study of 2007, *J Chemother* 2009;21(4):383-9.
9. Hanberger H, Arman D, Gill H et al. Surveillance of microbial resistance in European Intensive Care Units: a first report from the Care-ICU programme for improved infection control, *Intensive Care Med* 2009;35(1):91-100.
10. Hanberger H, Diekema D, Fluit A et al. Surveillance of antibiotic resistance in European ICUs, *J Hosp Infect* 2001;48(3):161-76.
11. Harada S, Ishii Y, Yamaguchi K. Extended-spectrum beta-lactamases: implications for the clinical laboratory and therapy, *Korean J Lab Med* 2008;28(6):401-12.
12. Hawser SP, Bouchillon SK, Hoban DJ et al. In vitro susceptibilities of aerobic and facultative anaerobic Gram negative bacilli from patients with intra-abdominal infections worldwide from 2005-2007: results from the SMART study, *Int J Antimicrob Agents* 2009;34(6):585-8.
13. Hawser SP, Bouchillon SK, Hoban DJ et al. Emergence of high levels of extended-spectrum-beta-lactamase-producing Gram-negative bacilli in the Asia-Pacific region: data from the Study for Monitoring Antimicrobial Resistance Trends (SMART) program, 2007, *Antimicrob Agents Chemother* 2009;53(8):3280-4.
14. Hirsch EB, Tam VH. Detection and treatment options for *Klebsiella pneumoniae* carbapenemases (KPCs): an emerging cause of multiresistant infection, *J Antimicrob Chemother* 2010;65(6):1119-25.
15. Ho J, Tambyah PA, Paterson DL. Multiresistant Gram-negative infections: a global perspective, *Curr Opin Infect Dis* 2010;23(6):546-53.
16. Kelesidis T, Karageorgopoulos DE, Kelesidis I et al. Tigecycline for the treatment of multidrug-resistant Enterobacteriaceae: a systematic review of the evidence from microbiological and clinical studies, *J Antimicrob Chemother* 2008;62(5):895-904.
17. Kurtaran B, Candevir A, Taşova Y et al. Antibiotic resistance in community-acquired urinary tract infections: prevalence and risk factors, *Med Sci Monit* 2010;16(5):CR246-251.
18. Kurtaran B, Tasova Y, Kibar F et al. Colonization and resistance patterns of Gram positive and Gram negative bacteria in patients had no recent history of hospitalization, *Infect Dis Clin Practice* 2011;19(2):105-10.
19. Li J, Nation R, Turnidge JD et al. Colistin: the re-emerging antibiotic for multidrug-resistant Gram negative bacterial infections, *Lancet Infect Dis* 2006;6(9):589-601.
20. Livermore DM. Has the era of untreatable infections arrived? *J Antimicrob Chemother* 2009;64(Suppl 1):i29-36.
21. Maltezou HC. Metallo-beta-lactamases in Gram-negative bacteria: introducing the era of pan-resistance? *Int J Antimicrob Agents* 2009;33(5):405.e1-7.
22. Maltezou HC, Giakkoupi P, Maragos A et al. Outbreak of infections due to KPC-2-producing *Klebsiella pneumoniae* in a hospital in Crete (Greece), *J Infect* 2009;58(3):213-9.
23. Marchaim D, Navon-Venezia S, Schwaber MJ, Carmeli Y. Isolation of imipenem-resistant Enterobacter species: emergence of KPC-carbapenemase, molecular characterization, epidemiology and outcomes, *Antimicrob Agents Chemother* 2008;52(4):1413-8.

24. Nordmann P, Cuzon G, Naas T. The real threat of *Klebsiella pneumoniae* carbapenemase-producing bacteria, *Lancet Infect Dis* 2009;9(4):228-36.
25. Oteo J, Orden B, Bautista V et al. CTX-M-15-producing urinary *Escherichia coli* O25b-ST131-phylogroup B2 has acquired resistance to fosfomicin, *J Antimicrob Chemother* 2009;64(4):712-7.
26. Pitout JD. Infections with extended-spectrum beta-lactamase-producing *Enterobacteriaceae*: changing epidemiology and drug treatment choices, *Drugs* 2010;70(3):313-33.
27. Pitout JD, Nordmann P, Laupland KB et al. Emergence of *Enterobacteriaceae* producing extended-spectrum-beta-lactamases (ESBLs) in the community, *J Antimicrob Chemother* 2005;56(1):52-9.
28. Rice LB. The clinical consequences of antimicrobial resistance, *Curr Opin Microbiol* 2009;12(5):476-81.
29. Rodriguez-Baño J, Navarro MD, Romero L et al. Bacteremia due to extended-spectrum beta-lactamase-producing *Escherichia coli* in the CTX-M era: a new clinical challenge, *Clin Infect Dis* 2006;43(11):1407-14.
30. Schwaber MJ, Carmeli Y. Mortality and delay in effective therapy associated with extended-spectrum beta-lactamase production in *Enterobacteriaceae* bacteraemia: a systematic review and meta-analysis, *J Antimicrob Chemother* 2007;60(5):913-20.
31. Schwaber MJ, Navon-Venezia S, Kaye KS et al. Clinical and economic impact of bacteremia with extended spectrum beta-lactamase-producing *Enterobacteriaceae*, *Antimicrob Agents Chemother* 2006;50(4):1257-62.
32. Souli M, Rekatsina PD, Chryssouli Z et al. Does the activity of the combination of imipenem and colistin in vitro exceed the problem of resistance in metallo-beta-lactamase-producing *Klebsiella pneumoniae* isolates, *Antimicrob Agents Chemother* 2009;53(5):2133-5.
33. Vatopoulos A. High rates of metallo-beta-lactamase-producing *Klebsiella pneumoniae* in Greece-a review of the current evidence, *Euro Surveill* 2008;13(4):pii8023.
34. Yong D, Toleman MA, Giske CG et al. Characterization of a new metallo-β-lactamase gene, blaNDM-1, and a novel erythromycin esterase gene carried on a unique genetic structure in *Klebsiella pneumoniae* sequence type 14 from India, *Antimicrob Agents Chemother* 2009;53(12):5046-54.