

Karbapeneme Dirençli *Enterobacteriaceae* Dışkı Kolonizasyonunun Belirlenmesinde Klasik Yöntemler ve Kromojen Agar Testinin Karşılaştırılması

Comparison of Classical Methods and Chromogen Media for Detection of Stool Colonisation by Carbapenem-resistant *Enterobacteriaceae*

Cumhur Özmen¹ , Serap Şimşek-Yavuz¹ , Seniha Başaran¹ , Atahan Çağatay¹ , Halit Özsüt¹ , Haluk Eraksoy¹ 

¹İstanbul Üniversitesi İstanbul Tıp Fakültesi, Enfeksiyon Hastalıkları ve Klinik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, İstanbul, Türkiye

ERKEN YAYIN EARLY RELEASE

ÖZGÜN ARAŞTIRMA ORIGINAL ARTICLE

ÖZET

Amaç: Çalışmada, hastanede yatan hastalarda, dışkıda karbapeneme dirençli *Enterobacteriaceae* (KDE) kolonizasyonunun belirlenmesinde klasik yöntemlerle kromojenik agarlı yöntemlerin karşılaştırılması; kolonizasyon ve kolonize olan hastalarda enfeksiyon gelişimini etkileyen risk faktörlerinin belirlenmesi amaçlandı.

Yöntemler: Ocak - Ağustos 2017 tarihleri arasında bir üniversite hastanesinin Reanimasyon Yoğun Bakım Ünitesi ve Travma Acil Yoğun Bakım Ünitesi'nde yatan 18 yaş üzerindeki 100 ardışık hasta incelendi. Hastalardan, ilki başvuru anında olmak üzere her hafta rektal sürüntü örneği alındı ve bu örnekler ABD Hastalık Kontrol ve Korunma Merkezleri ("Centers for Disease Control and Prevention - CDC") tarafından tanımlanmış klasik yöntem, ChromID CARBA agarı ve direkt MacConkey agarına ekim yöntemleriyle çalışılarak KDE araştırıldı. Örneklerden izole edilmiş KDE suşlarında, modifiye Hodge ve CARBA NP testleri de yapıldı; ayrıca imipenem, meropenem, ertapenem ve kolistin için Etest yöntemiyle minimum inhibitör konsantrasyonu (MİK) değerleri de saptandı.

Bulgular: Çalışmaya dahil edilen 100 hastanın 46 (%46)'sında en az bir yöntemle rektal KDE taşıyıcılığı saptandı. Rektal KDE taşıyıcılığının belirlenmesinde kullanılan klasik CDC, direkt MacConkey ve ChromID CARBA yöntemlerinin 24. saatteki duyarlılık ve özgüllükleri sırasıyla %78-%42, %87-%80 ve %91-%98 olarak bulundu. Yöntemlerin 72. saatteki duyarlılık ve özgüllükleri ise sırasıyla %78-%100, %87-%100 ve %91-%100'dü.

Sonuç: Rektal KDE taşıyıcılığının belirlenmesinde ChromID CARBA yönteminin performansı, klasik CDC ve direkt MacConkey yönteminden daha iyi olmakla birlikte, özellikle kaynak sorunu olan yerlerde direkt MacConkey yönteminin de kullanılabileceği tespit edildi.

Anahtar Kelimeler: karbapenem, karbapenemaz, rektal kolonizasyon

ABSTRACT

Objectives: We aimed to compare classical methods and chromogenic media to detect carbapenem-resistant *Enterobacteriaceae* (CRE) colonization among hospitalized patients and determine the risk factors causing infection in colonized patients.

Methods: Between January and August 2017, 100 patients over the age of 18 who were hospitalized in the Reanimation Intensive Care Unit and the Trauma Emergency Intensive Care Unit of a university hospital were examined. From the first day of intensive care unit (ICU) admission, rectal swabs were collected once every week and were tested for the presence of CRE by using the classical method defined by the Centers for Disease Control and Prevention (CDC), ChromID CARBA chromogenic medium, and direct inoculation into MacConkey agar plates. In addition, MIC values for imipenem, ertapenem, meropenem and colistin were determined by using the Etest.

Results: Rectal BDE carriage was detected by at least one method in 46 (46%) of 100 patients included in the study. Sensitivity and specificity values of the CDC classical method, direct MacConkey inoculation, and ChromID CARBA medium in the first 24 hours were found as 78%-42%, 87%-80%, and 91%-98%, respectively. Sensitivity and specificity values of these methods after 72 hours were determined as 78%-100%, 87%-100%, and 91%-100%, respectively.

Conclusion: We observed that, although the ChromID CARBA method performed better than classical CDC and direct MacConkey inoculation methods, direct MacConkey inoculation can still be employed, especially in areas with limited resources.

Keywords: carbapenem, carbapenemase, rectal colonization

Cite this article as: Özmen C, Şimşek-Yavuz S, Başaran S, Çağatay A, Özsüt H, Eraksoy H. [Comparison of classical methods and chromogen media for detection of stool colonisation by carbapenem-resistant *Enterobacteriaceae*]. Klimik Derg. 2022;35(3). Turkish. **Sorumlu Yazar / Correspondence:** Cumhur Özmen, **E-posta / E-mail:** cumhur_ozmen@hotmail.com, **Geliş / Received:** 26 Aralık / December 2021, **Kabul / Accepted:** 22 Mayıs / May 2022, **Yayın Tarihi / Published Date:** 22 Ağustos / August 2022, **DOI:** 10.36519/kd.2022.4144

GİRİŞ

Son yıllarda ülkemizde gittikçe artan sıklıkta görülmekte olan karbapeneme dirençli *Enterobacteriaceae* (KDE) infeksiyonları, daha çok komorbiditeleri olan ve yoğun sağlık bakımı uygulanan hastalarda ortaya çıkmaktadır. KDE'ler, ciddi infeksiyonlara neden olarak hem yüksek mortalite ve morbiditeye yol açmakta hem de hastanede yatış süresini uzatarak maliyetleri önemli ölçüde artırmaktadır (1). Gram-negatif çomaklarda karbapenem direnci şu mekanizmaların biri veya birkaçının birlikte olmasıyla ortaya çıkar: β -laktamaz (karbapenemaz) üretimi, belli dış membran proteinlerinin (porin) kaybı sonrası gelişen permeabilite azalması veya ilacın dış membrandan pompalanması (eflüks). KDE suşları sadece β -laktamlara değil, diğer birçok antibiyotik sınıfına karşı da direnç gösterir (2).

KDE infeksiyonlarının sağlık kuruluşlarında bulunan hastalar arasında bulaşmasında, ana kaynağın KDE ile kolonize hastalar olduğu bilinmektedir. Bu nedenle kolonize hastaların, özellikle rektal sürüntü yoluyla alınan tarama kültürleriyle belirlenerek uygun şekilde izole edilmesi infeksiyonların kontrolündeki en önemli basamaktır. Ancak tarama kültürlerinin ne şekilde yapılacağı konusunda halen bir görüş birliği oluşmamıştır (2). Çalışmanın amacı, hastanede yatan hastaların dışkıında KDE kolonizasyonunun belirlenmesinde klasik yöntemlerle kromojenik agar kullanılan yöntemlerin karşılaştırılmasıdır.

YÖNTEMLER

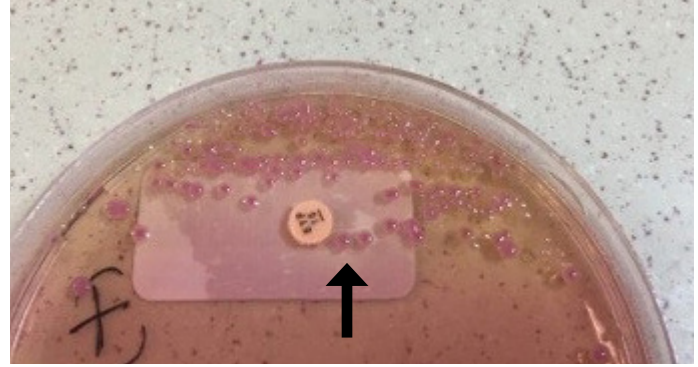
Hastaların Seçimi ve Verilerin Toplanması

Çalışmamız, Ocak ve Ağustos 2017 tarihleri arasında bir üniversite hastanesinde bulunan Reanimasyon Yoğun Bakım Ünitesi (YBÜ) ve Acil Cerrahi YBÜ'de yürütüldü. Reanimasyon YBÜ'de 15 yatak, Acil Cerrahi YBÜ'de ise 10 yatak bulunmaktaydı. Çalışma tarihleri arasında, belirtilmiş YBÜ'lerde yatan ve 18 yaşından büyük olan ardışık 100 hasta çalışmaya dahil edildi. Hastaların demografik, klinik ve laboratuvar bilgileri, kendileriyle konuşarak, dosyalarından ve hastanenin veritabanından elde edildi. Daha önceden geliştirilen bir forma; hastaların yaşı, cinsiyeti, yattığı YBÜ (acil cerrahi ya da reanimasyon), komorbiditeleri ve bundan yola çıkılarak Charlson komorbidite indeksi, YBÜ'ye yatmadan 3 ve 6 ay öncesine kadarki hastane yatışları ve antibiyotik kullanım öyküsü, YBÜ'ye yattığı gün başlanmış olan antibiyotikler ve almakta olduğu immüno-süpresif tedaviler, yatışta başlanmış proton pompa inhibitörleri (PPI) ve non-steroid antiinflatuar ilaç (NSAID) kullanımı, yattığı günkü kan lökosit ve trombosit sayısı, hemogloblin, serum kreatinin, ALT ve albümin değerleri kaydedildi.

Çalışmaya dahil edilen hastaların tümünden, başvuru anında ve başvurudan sonra YBÜ'de yattığı süre boyunca birer hafta arayla rektal sürüntü örneği alındı. KDE taşıyıcılığı belirlenen hastalarda, KDE saptanan ilk rektal sürüntü; KDE taşıyıcısı olmayan hastalarda, YBÜ'den çıkmadan önceki son rektal sürüntü örneği değerlendirildi. Hastaların rektal sürüntüleri ve infeksiyon düşünüldüğü zaman alınmış diğer vücut örneklerinde (balgam, plevral sıvı, periton sıvısı, idrar vb.) KDE varlığı araştırıldı.

Hastaların yattığı iki YBÜ'de de yatan hasta, KDE ile kolonize hasta ve dolu-boş yatak sayıları günlük olarak kaydedildi; bu verilerden YBÜ'lerde kolonizasyon basıncı yüzde olarak hesaplandı. Kolonizasyon basıncının hesaplanmasında aşağıdaki formül kullanıldı:

$KOLONİZASYON\ BASINCI = YBÜ'de\ o\ gün\ yatmakta\ olan\ KDE-po-$
 $zitif\ hastaların\ yattığı\ yatak\ sayısı / YBÜ'de\ hastaların\ yattığı\ toplam$
 $yatak\ sayısı \times 100$



Resim 1. MacConkey agarına direkt olarak ekilip ertapenem (ETP) diski konulmuş örneklerden karbapeneme dirençli *Enterobacteriaceae* (KDE) üremiş olanların ilk 24. saatteki görünümü (ETP diski çevresinde üremiş ve olası karbapeneme dirençli *K. pneumoniae* olarak değerlendirilmiş okla gösterilen koloniler, identifikasyonla karbapeneme dirençli *K. pneumoniae* olarak tanımlanmıştır).

Çalışma prospektif kohort olarak planlandı ve İstanbul Üniversitesi Tıp Fakültesi Klinik Araştırmalar Etik Kurulu'ndan 10 Haziran 2016 tarih ve 778 karar numarasıyla onay alındı.

Rektal Sürüntü Örneklerinin Çalışılması

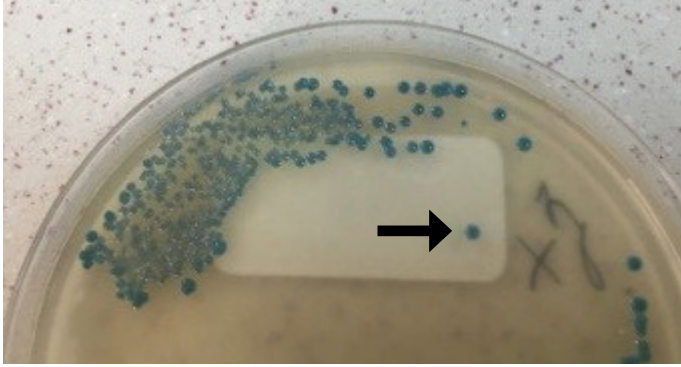
Gelen tüm rektal sürüntü örneklerinin 0.5 ml fizyolojik serum içinde süspansiyonları hazırlandı. Pipetle alınan 50 μ l'lık 3 ayrı süspansiyon örneği, aşağıda belirtilen 3 ayrı yöntemle işleme alındı:

CDC Tarafından Önerilen Klasik Yöntemin Modifikasyonu (Klasik CDC): 5 ml triptik soya buyyonu (TSB) bulunan tüplere ekim yapıldı ve buyyon içine bir adet 10 μ g ertapenem diski konuldu. 18-24 saat arasında 37 °C sıcaklığındaki etüvde inkübe edildi. TSB'de bulanıklık olup olmadığı 24. saatte kaydedildi; bulanıklık olan ve olmayan tüm örneklerin MacConkey agarına pasajları yapıldı. Bu örnekler de 18-24 saatlik bir süre boyunca inkübe edildi. MacConkey agarında üreyen ve laktöz-pozitif olan (pembe-kırmızı renk) koloniler varsa, bu bakterilere ileri identifikasyon ve disk difüzyon yöntemiyle 48. saatte antibiyogram yapıldı (4).

MacConkey Agarına Direkt Ekim Yöntemi (Direkt McConkey): MacConkey agarına direkt ekim yapıldı, besiyerinde ekim yapılan bölgeye 10 μ g ertapenem diski yerleştirildi. 18-24 saat arasında 37 °C sıcaklığındaki etüvde inkübe edildi. Ertapenem diski içinde üreyen laktöz-pozitif koloniler varsa, bu bakterilere ileri identifikasyon ve disk difüzyon yöntemiyle 24. saatte antibiyogram yapıldı (6, 7) (Resim 1).

Kromojenik Agara Direkt İnokülasyon Yöntemi (ChromID CARBA): ChromID CARBA® (bioMérieux, Marcy l'Etoile, Fransa) agarına direkt ekim yapıldı. Ekilen örnekler 18-24 saat arası 37 °C sıcaklığındaki etüvde inkübe edildi. Besiyerindeki üremeler 24. saatte kontrol edildi. Yeşil-mavi renkli koloniler, olası karbapeneme dirençli *Klebsiella pneumoniae*; mor-kırmızı renkli koloniler olası karbapeneme dirençli *Escherichia coli*; renksiz koloniler ise olası karbapeneme dirençli Gram-negatif nonfermentatif çomak (*Pseudomonas aeruginosa* veya *Acinetobacter baumannii*) olarak değerlendirildi. Bu bakterilere ileri identifikasyon ve disk difüzyon yöntemiyle antibiyogram yapıldı (Resim 2).

Rektal sürüntü örneklerinden yukarıda anlatılmış yöntemlerle izole edilen *Enterobacteriaceae* suşlarının tümüne modifiye Hodge testi (MHT) ve Kirby-Bauer yöntemiyle disk difüzyon duyarlılık testi yapıldı; sonuçlar



Resim 2. ChromID CARBA agarına direkt olarak ekilmiş örneklerden karbapeneme dirençli *Enterobacteriaceae* (KDE) üremiş olanların ilk 24. saatteki görünümü (Olası karbapeneme dirençli *K. pneumoniae* olarak değerlendirilmiş okla gösterilen yeşil-mavi renkli koloniler, identifikasyonla karbapeneme dirençli *K. pneumoniae* olarak tanımlanmıştır).



Resim 3A VE 3B. Modifiye Hodge testinin uygulandığı karbapeneme dirençli *Enterobacteriaceae* (KDE) suşlarının 24 saatlik inkübasyondan sonraki görünümü (Resim 3A'daki kırmızı halka bir suştaki pozitif sonucu göstermektedir. Resim 3B'de ise negatif sonuç vermiş üç suş görülmektedir).

EUCAST'in önerdiği sınır değerler kullanılarak değerlendirildi (5, 8). MHT, ertapeneme duyarlı olduğu bilinen *E. coli* ATCC 25922 referans suşu kullanılarak yapıldı. Referans suş 0.5 McFarland standardı bulanıklığında hazırlanıp Mueller-Hinton agarına inoküle edildi; sonrasında agara

10 µg ertapenem diski konularak test edilecek suşlar, diskin kenarından agarın bulunduğu Petri kabının kenarına doğru çizgi şeklinde ekildi. En az 16 saatlik inkübasyondan sonra suşlar kontrol edildi. Referans ATCC 25922 suşunun, ertapenem diskinin merkezine doğru, yonca yaprağı şeklinde girinti yapmasına neden olan suşlar karbapenemaz-pozitif olarak kabul edildi (Resim 3A ve 3B). Bu test yapılırken CDC'nin önerilerinden yararlanıldı (8).

Antibiyoqramda amoksisilin/klavulanat, sefepim, seftriakson, piperasilin/tazobaktam, sefoksitin, seftazidim, meropenem, sefoperazon/sulbaktam, imipenem, fosfomisin, kolistin, nitrofurantoin, ofloksasin, norfloksasin, ertapenem, trimetoprim/sülfametoksazol, siprofloksasin, ampisilin/sulbaktam, sefuroksim, gentamisin, netilmisin, amikasin ve aztreonam diskleri kullanıldı.

Rektal sürüntülerden izole edilmiş ve disk difüzyon testleriyle KDE olduğu belirlenmiş suşlarda, Etest® (bioMérieux, Marcy l'Etoile, Fransa) yöntemiyle imipenem, ertapenem, meropenem ve kolistin için minimum inhibitör konsantrasyonu (MİK) değerleri belirlendi.

Bakterilerdeki metallo-β-laktamaz (MBL) varlığını göstermek için imipenem-EDTA Etest® (bioMérieux, Marcy l'Etoile, Fransa) de kullanıldı. Üretici firmanın önerisi doğrultusunda imipenem / imipenem -EDTA MİK değerleri analiz edilerek, EDTA'lı kısımda MİK değerinin 8 veya daha fazla kat azalması MBL üreten bakteri izolatu olarak değerlendirildi (9).

Bakterilerdeki OXA-48 varlığına işaret ettiği için, izole edilmiş KDE suşlarında temosilin direnci olup olmadığı da araştırıldı. Bu amaçla temosilin Etest® (bioMérieux, Marcy l'Etoile, Fransa) kullanıldı; MİK değeri >32 µg/ml olarak belirlenen suşlarda, OXA-48 pozitifliği olabileceği düşünüldü.

Bakterilerin identifikasyonunda klasik yöntemler ["Tripple Sugar Iron" (TSI) agarı, "Motility Indole Ornithine" (MIO) besiyeri, sitrat ve üre besiyerlerinin kullanımı gibi] ve API 20E® (bioMérieux, Marcy l'Etoile, Fransa) kiti kullanıldı.

KDE olduğu belirlenen örneklerle, üreticinin önerileri doğrultusunda CARBA-NP® (bioMérieux, Marcy l'Etoile, Fransa) testi de yapılarak karbapenemaz varlığı araştırıldı.

İstatistiksel Analiz

Verilerin istatistiksel analizi, SPSS ("Statistical Package for the Social Sciences") versiyon 23.0 programı (IBM Corp., Armonk, NY, ABD) kullanılarak yapıldı. Grupların karşılaştırılmasında kategorik değişkenler için χ^2 ve Fisher kesin testi; sürekli değişkenler için dağılım normalse Student t testi, normal değilse Mann-Whitney U testi kullanıldı. Bağımsız risk faktörlerinin araştırılması için lojistik regresyon analizi yapıldı. $P < 0.05$ değeri istatistiksel olarak anlamlı olarak kabul edildi.

Yöntemlerin performansları değerlendirilirken, her üç yöntemden birinde pozitiflik belirlenen örneklerin kümülatif sonucu, "altın standart" olarak alındı. Çalışılan yöntemlerin duyarlılık ve özgüllük değerleri aşağıdaki formüllerle hesaplandı:

$$\text{DUYARLILIK} = \frac{\text{Söz Konusu Yöntemle Belirlenmiş Gerçek KDE Taşıyıcılarının Sayısı}}{\text{Tüm Yöntemlerle Belirlenmiş KDE Taşıyıcısı Olanların Sayısı}} \times 100$$

$$\text{ÖZGÜLLÜK} = \frac{\text{Söz Konusu Yöntemle Belirlenmiş Gerçek KDE Taşıyıcısı Olmayanların Sayısı}}{\text{Tüm Yöntemlerle Belirlenmiş KDE Taşıyıcısı Olmayanların Sayısı}} \times 100$$

Tablo 1. Rektal Karbapeneme Dirençli *Enterobacteriaceae* Saptama Yöntemlerinin 24. Saatteki Duyarlılık ve Özgüllüklerinin Değerlendirilmesi

Yöntemler	KDE Taşıyıcılığı Var (n=46)			KDE Taşıyıcılığı Yok (n=54)			Toplam (n=100)		
	ChromID CARBA	Direkt MacConkey	Klasik CDC	ChromID CARBA	Direkt MacConkey	Klasik CDC	ChromID CARBA	Direkt MacConkey	Klasik CDC
Test (+)	42	40	36	1	11	31	43	51	67
Test (-)	4	6	16	53	43	23	57	49	33
Toplam	46	46	46	54	54	54	100	100	100
Duyarlılık (%)							91	87	78
Özgüllük (%)							98	80	42

DUYARLILIK = Söz Konusu Yöntemle Belirlenmiş Gerçek KDE Taşıyıcıları / KDE Taşıyıcısı Olanların Toplamı x 100

ÖZGÜLLÜK = Söz Konusu Yöntemle Belirlenmiş Gerçek KDE Taşıyıcılığı Olmayanlar / KDE Taşıyıcısı Olmayanların Toplamı x 100

BULGULAR

Rektal KDE Kolonizasyonu Olan ve Olmayan Hastaların Değerlendirilmesi

Çalışmamıza her iki YBÜ'de yatmış olan toplam 100 hasta alındı. Hastaların 63 (%63)'ü Reanimasyon YBÜ'de, 37 (%37)'si ise Acil Cerrahi YBÜ'de yatmaktaydı. Hastaların 39 (%39)'u kadın, 61 (%61)'i erkek olup, yaş ortalaması 58'di. Hastaların YBÜ'de ortalama yatış süresi 17 gündü. Çalışmaya katılan hastaların 46 (%46)'sının rektal sürüntü örneğinde, kullanılan üç yöntemden en az biriyle KDE kolonizasyonu saptandı. Rektal KDE taşıyıcılığı olan 46 hastanın 4 (%8.7)'ü YBÜ'ye yattığı günden itibaren kolonize olarak saptandı. Bu dört hastanın 3'ü dış merkezden YBÜ'lerimize transfer edilmişken, kalan biri hastanemizin bir servisinde YBÜ'ye transfer edilmişti. Geri kalan 42 hastanın ortalama rektal KDE kolonizasyonu gelişme süresi 9.6 gün olup sınırları 2-55 gündü. Çalışma süresince, YBÜ'lerde KDE kolonizasyon basıncı ortalaması %40 olup en düşük %11 ve en yüksek %72 olarak tespit edildi.

Rektal Karbapeneme Dirençli *Enterobacteriaceae* Saptama Yöntemlerinin Sonuçları

Klasik CDC yöntemiyle, ilk 24 saat sonra TSB buyyondaki bulanıklığın rektal KDE pozitifliği olarak değerlendirilmesi halinde; 46 rektal KDE-pozitif hastanın 36 (%78)'si pozitif, 54 rektal KDE-negatif hastanın ise 23 (%42)'ü negatif olarak saptandı. Bu testin ilk 24 saatteki duyarlılığı %78, özgüllüğü ise %42 olarak hesaplandı. Testin tüm aşamalarının sonuçlandırıldığı 72. saatte ise duyarlılık %78, özgüllük ise %100'dü (Tablo 1-2-3).

Direkt MacConkey yöntemiyle, ilk 24 saatte 46 KDE-pozitif hastanın 40 (%87)'i pozitif, 54 KDE-negatif hastanın 43 (%80)'ü negatif olarak saptandı; testin duyarlılığı %87, özgüllüğü %80'di. Testin tüm aşamalarının sonuçlandırıldığı 48. saatte ise duyarlılık %87, özgüllük %100 olarak hesaplandı (Tablo 1-2-3).

ChromID CARBA yönteminde, ilk 24 saatte 46 KDE-pozitif hastanın 42 (%91)'si, 54 KDE-negatif hastanın ise 53 (%98)'ü negatif olarak saptandı; testin duyarlılığı %91, özgüllüğü ise %98'di. Testin tamamlandığı 48. saatte duyarlılık %91, özgüllük %100 olarak hesaplandı (Tablo 1-2-3).

Rektal Sürüntü Örneklerinden İzole Edilen Karbapeneme Dirençli Bakteri Suşları

Çalışılan rektal örneklerde en sık izole edilen karbapeneme dirençli bakteriler, 46 hastadan izole edilen *Enterobacteriaceae* üyeleri ve 39 hastada

saptanan *K. pneumoniae* idi. Beş hastada *E. coli*, iki hastada *Enterobacter aerogenes*, bir hastada ise *Citrobacter freundii* izole edildi. Dokuz hastanın dışkıсында karbapeneme dirençli Gram-negatif nonfermentatif çomaklar saptandı; bunların altısı *P. aeruginosa*, üçü ise *A. baumannii* idi (Tablo 4).

Üreyen *Enterobacteriaceae* Suşlarının Karbapenem MİK Değerleri, CARBA NP Testi ve MHT Sonuçları

İzole edilen suşlarda; temosilin, ertapenem, imipenem ve meropenem Etest ile MİK değerleri belirlendi. Ayrıca imipenem/EDTA Etest ile MBL varlığı araştırıldı. Tablo 5'te bakterilerin MİK değerlerinin dağılımı verilmiştir.

KDE taşıyıcılığı saptanmış hastalardan izole edilmiş KDE'lerin 36 (%77)'sında MHT pozitif, 10 (%23)'ünde ise negatif sonuç verdi. Söz konusu 46 hastanın 42 (%91.3)'sinin suşlarına ise CARBA NP testi yapıldı; 31 (%74) suşta pozitif, 11 (%26) suşta ise negatif sonuç elde edildi.

Temosilin MİK değeri sadece bir (%2) suşta <32 g/ml olup 10 suşta imipenem/EDTA ile imipenem MİK değerinde 8 kattan fazla azalma olduğu görüldü.

Rektal Sürüntüde Üreyen KDE Suşlarının Antibiyogramları

Rektal sürüntü örneklerinden izole edilmiş 46 KDE suşunun 42'sine disk difüzyon yöntemiyle antimikrobiyal duyarlılık testi yapıldı (Tablo 6).

Üreyen suşların tümü; ampisiline, amoksisilin/klavulanata, sefuroksime, sefoksitine, seftriaksona, sefepime, piperasilin/tazobaktam ve sefoperazon/sulbaktam dirençliydi. Suşların %2'si ampisilin-sulbaktam, seftazidim, meropenem, imipenem ve siprofloksasine; %5'i aztreonama; %7'si nitrofurantoin, kotrimaksazol, ofloksasin ve norfloksasine; %30'u gentamisine; %36'sı netilmisine; %40'ı amikasinine; %69'u fosfomisine ve %90'ı kolistine duyarlıydı.

İRDELEME

Çalışmamızda rektal KDE kolonizasyonunun belirlenmesi amacıyla kullanılan üç yöntemden, en kısa sürede sonuçlanan ve performansı en yüksek olan ChromID CARBA idi. Bu yöntemle, örnek alındıktan itibaren ilk 24. saatte rektal KDE varlığı %91 duyarlılık ve %98'lik özgüllükle saptanabildi. Performans ve süre açısından direkt MacConkey yöntemi ikinci sırada yer aldı. Bu yöntemle ilk 24. saatte rektal KDE varlığı %87

Tablo 2. Rektal Karbapeneme Dirençli *Enterobacteriaceae* Saptama Yöntemlerinin 48. ve 72. Saatteki Duyarlılık ve Özgüllüklerinin Değerlendirilmesi

Yöntemler	KDE Taşıyıcılığı Var (n=46)			KDE Taşıyıcılığı Yok (n=54)			Toplam (n=100)		
	ChromID CARBA	Direkt MacConkey	Klasik CDC	ChromID CARBA	Direkt MacConkey	Klasik CDC	ChromID CARBA	Direkt MacConkey	Klasik CDC
Test (+)	42	40	36	1	11	31	43	51	67
Test (-)	4	6	10	53	54	54	57	49	33
Toplam	46	46	46	54	54	54	100	100	100
Duyarlılık (%)							91	87	78
Özgüllük (%)							100	100	100

Tablo 3. Rektal Karbapeneme Dirençli *Enterobacteriaceae* Saptama Yöntemlerinin 24., 48. ve 72. Saatteki Sonuçları

Yöntemler	KDE Pozitifliği Sayısı		
	24. Saat	48. Saat	72. Saat
ChromID CARBA			
<i>Enterobacteriaceae</i> ile Uyumlu Üreme	43	N/A	N/A
KDE Saptanması	N/A	42	N/A
MacConkey Agara Direkt Ekim			
Ertapenem Diskine Dirençli Üreme	51	N/A	N/A
KDE Saptanması	N/A	40	N/A
TSB+ertapenem diski (klasik yöntem)			
Bulanıklık Saptanması	67	N/A	N/A
MacConkey Agarda Üreme			
KDE Saptanması	N/A	N/A	36

N/A: Uygulanamaz

Tablo 4. Rektal Sürüntü Örneklerinden İzole Edilmiş Karbapeneme Dirençli Bakterilerin Dağılımı

Üreyen Suşlar (n=65)	n (%)
<i>Enterobacteriaceae</i>	
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	39 (60)
<i>Escherichia coli</i>	5 (8)
<i>Enterobacter aerogenes</i>	2 (3)
<i>Citrobacter freundii</i>	1 (2)
Gram-negatif Nonfermentatif Çomaklar	
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	6 (9)
<i>Acinetobacter spp.</i>	3 (5)
Gram-pozitif Koklar*	
	9 (14)

* İleri identifikasyon yapılmamıştır.

Tablo 5. İzole Edilmiş Karbapeneme Dirençli *Enterobacteriaceae* Suşlarının MİK Değerleri

Antimikrobik	Hasta Sayısı	MİK Değerleri (mcg/ml)	MİK Değerlerine Göre Hastaların Dağılımları n (%)			
		Ortalama±SS	2-8 mcg/ml	16-32 mcg/ml	64-256 mcg/ml	>256 (mcg/ml)
Temosilin	53	1669.55±669.35	1 (2)	0 (0)	3 (6)	49 (92)
İmipenem/EDTA	41	52.96±135.8	22 (54)	0 (0)	4 (1)	3 (1)
İmipenem	40	73.35±133.98	18 (45)	1 (3)	4 (10)	3 (8)
Meropenem	36	54.89±17.88	1 (3)	6 (17)	28 (78)	0 (0)
Ertapenem	52	51.42±22.8	4 (8)	5 (9)	39 (72)	0 (0)

MİK: Minimum inhibitör konsantrasyonu, SS: Standart sapma

Tablo 6. Rektal sürüntü örneklerinde Üreyen Karbapeneme Dirençli Enterobacteriaceae Suşlarının Antibiyogram Sonuçları

Toplam Suş Sayısı (N=46)	<i>K. pneumoniae</i> (n=36)			<i>E. coli</i> (n=3)			<i>E. aerogenes</i> (n=2)			<i>C. freundii</i> (n=1)			Duyarlılık* (%)
	Dirençli	Orta Duyarlı	Duyarlı	Dirençli	Orta Duyarlı	Duyarlı	Dirençli	Orta Duyarlı	Duyarlı	Dirençli	Orta Duyarlı	Duyarlı	
Ampisilin	36	0	0	3	0	0	2	0	0	1	0	0	0
Ampisilin/sulbaktam	35	0	1	3	0	0	2	0	0	1	0	0	2.3
Amoksisilin/klavulanat	36	0	0	3	0	0	2	0	0	1	0	0	0
Piperasilin/tazobaktam	36	0	0	3	0	0	2	0	0	1	0	0	0
Sefuroksim	36	0	0	3	0	0	2	0	0	1	0	0	0
Sefriakson	36	0	0	3	0	0	2	0	0	1	0	0	0
Sefoksitin	36	0	0	3	0	0	2	0	0	1	0	0	0
Seftazidim	34	1	1	3	0	0	2	0	0	1	0	0	2.3
Sefoperazon/sulbaktam	36	0	0	3	0	0	2	0	0	1	0	0	0
Sefepim	36	0	0	3	0	0	2	0	0	1	0	0	0
Aztreonam	34	0	2	3	0	0	2	0	0	1	0	0	4.7
Ertapenem	36	0	0	3	0	0	2	0	0	1	0	0	0
İmipenem	33	2	1	3	0	0	2	0	0	1	0	0	2.3
Meropenem	36	0	0	2	0	1	2	0	0	1	0	0	2.3
Ofloksasin	35	0	1	1	0	2	2	0	0	1	0	0	7.1
Norfloksasin	35	0	1	1	0	2	2	0	0	1	0	0	7.1
Siprofloksasin	35	0	1	3	0	0	2	0	0	1	0	0	2.3
Gentamisin	23	0	10	1	1	1	1	0	1	1	0	0	30.7
Netilmisin	24	0	12	0	1	2	1	0	1	1	0	0	35.7
Amikasin	24	0	12	0	0	3	1	0	1	1	0	0	40.4
Ko-trimoksazol	35	0	1	2	0	1	1	0	1	1	0	0	7.1
Nitrofurantoin	35	0	1	1	0	2	2	0	0	1	0	0	7.1
Fosfomisin	8	2	26	2	0	1	0	1	1	0	0	1	69
Kolistin	2	0	34	1	0	2	1	0	1	0	0	1	90.4

*DUYARLILIK YÜZDESİ: Antibiyotige Duyarlı Suş Sayısı / Toplam Suş Sayısı x100

duyarlılık, %80 özgüllük ile saptandı. Klasik CDC yönteminin ise ilk 24. saatte, buyyondaki bulanıklığın KDE varlığını gösterdiği düşünülerek yapılan değerlendirmesinde duyarlılığı %78, özgüllüğü ise %42 olarak belirlendi. İlerleyen saatlerde (48-72 saat) KDE'lerin tanımlanmasında ek yöntemlerin kullanılmasıyla testlerin duyarlılıkları aynı kalmış, ancak özgüllükleri artmıştır.

Çalışmamızda klasik CDC yönteminin duyarlılığının ve özgüllüğünün düşük olmasının nedeni, hastalarımızda, KDE'ye ek olarak, karbapenemlere, özellikle ertapeneme dirençli diğer bakterilerin [*P. aeruginosa*, *A. baumannii*, vankomisin dirençli enterokok (VDR) veya metisilin dirençli *Staphylococcus aureus* (MRSA) gibi] de kolonizan olarak bulunması olabilir. Gerçekten de çalışmamızdaki hastaların %18'inin rektal sürüntü örneklerinde bu bakteriler saptandı. Söz konusu bakterilerin ertapenem içeren buyyonda aşırı çoğalması, KDE'lerin üremesinin inhibe olmasına yol açmış olabilir. Rektal sürüntü örneklerinde KDE araştıran bir diğer çalışmada da klasik CDC yönteminin karbapenemaz üreten mikroorganizmaların saptanmasındaki duyarlılığı %40, özgüllüğü ise %88 olarak saptanmış olup yalancı negatif sonuçlanan örneklerin tümünde meropeneme duyarlı *P. aeruginosa* izole edilmiştir. Aynı çalışmada, bizim de kullandığımız diğer 2 yöntem için belirlenmiş duyarlılık ve özgüllük değerleri direkt McConkey yöntemi için %80 ve %85, ChromID CARBA yöntemi için ise %100 ve %90'dır; bu sonuçlar bizim çalışmamızla uyumludur (10). ChromID CARBA yönteminin rektal örneklerde KDE saptanmasında yüksek performans gösterebildiğini bildiren başka çalışmalar da vardır (11, 21, 23). Bu yöntemin duyarlı ve özgül olması yanında, ilk 24. saatte KDE türünü de tanımlayabilmesi bir diğer avantajıdır (11). Ayrıca, kromojenik agarın maliyeti, kullanılan diğer yöntemlerdeki besiyerlerinin maliyetinden yüksek olmakla birlikte, bakterilerin tanımlanması için yapılan ek testlerin maliyetiyle birlikte değerlendirildiğinde ortaya çıkan maliyetlerin birbirine yakın olduğu görülmüştür. Oldukça kolay uygulanabilen bir yöntem olan direkt MacConkey yöntemi, duyarlılığının klasik CDC'den daha iyi olması ve 24. saatte güvenilir sonuç verebilmesi nedeniyle özellikle kaynakların az, iş yükünün fazla olduğu merkezlerde rutin olarak kullanılabilir.

Çalışmamızda KDE taşıyıcılığı belirlenmiş hastalardan izole edilmiş suşlarda karbapenemaz varlığını göstermek amacıyla MHT ve CARBA NP testleri de yapılmıştır. Suşların MHT'de %77'si, CARBA NP testinde ise %74'ü pozitif olarak belirlenmiş, her iki testin de performansının yetersiz olduğu düşünülmüştür. Daha önce yapılmış çalışmalarda hem MHT'nin, hem de CARBA NP testinin karbapenemaz varlığını saptamada oldukça duyarlı olduğu bildirilmekle birlikte, MHT'nin özellikle New Delhi metallo-β-laktamaz (NDM) üreten suşlarda, CARBA NP testinin ise OXA-48 üreten suşlarda performanslarının düşük olduğu bilinmektedir (16). Çalışmamızda moleküler yöntemler kullanılmadığı için KDE'lerde hangi tür karbapenemazların bulunduğu bilinmemekle birlikte yine merkezimizde ve aynı YBÜ'lerde bir yıl önce yapılmış bir tez çalışmasında hastalardan izole edilmiş KDE suşlarının çoğunda OXA-48, yaklaşık %10'unda da *bla*_{NDM} saptanmıştır (13). Bu veriler, çalışmamızda MHT ve CARBA NP testlerinin pozitiflik oranlarının %70'lerde olmasını açıklayabilir. Ancak eldeki suşların moleküler incelemesini yapmadan kesin bir sonuca varmak mümkün değildir. CARBA NP testiyle ilgili bir diğer konu ise bu testin sonucunun, çalışılacak örneğin üretildiği kültür ortamından etkilenmesidir; CARBA NP testinden en doğru sonuçların alınabilmesi için, kanlı agarda üretilmiş kolonilerin kullanılması önerilmektedir (6). Çalışmamızda, MacConkey agarda üretilmiş suşlarla çalışılması da sonuçların etkilemesi olabilir. Ancak suşların kanlı agarda tekrar üretilmesi de ek maliyet ve zaman kaybına yol açacağı için bu testin rutinde kullanımı bakımından sorun yaratabilir.

Çalışmamızda, KDE olan suşlarda karbapenemaz türünü tahmin etmede kullanılabilecek fenotipik yöntemlerden, MBL için olan aztreonam duyarlılığı, EDTA ile inhibisyon testi ve OXA-48'ler için olan temosilin direnci

testi de yapılmıştır. Aztreonam MBL'lere dirençli, KPC β-laktamazlara ise duyarlı olup (3) bu özelliğiyle MBL varlığını tahmin etmede kullanılabılır. Çalışmamızda izole edilen KDE suşlarının ikisi (%4.7) aztreonama duyarlıydı. Karbapenemaz türünü tahmin etmede kullanılabilen bir diğer yöntem olan imipenem-EDTA inhibisyon testiyle, toplam 10 (%20) suşta, imipenem MİK değerlerinde 8 kattan fazla düşme olduğu görülerek, bu suşların MBL ürettiği olabileceği düşünüldü. Hastanemizde daha önceki moleküler çalışmalarda *bla*_{NDM} varlığı gösterilmiş olduğu için, aztreonam duyarlılığı veya EDTA ile MİK azalması olan suşlarda bu enzimin var olması muhtemeldir (13). Ülkemizdeki diğer hastanelerde de son yıllarda gittikçe artan oranlarda NDM bildirilmesi nedeniyle de bu konu ayrıca önemlidir (16, 17, 13). Çalışmamızdan izole edilen suşlardan biri hariç tümünde temosilin MİK'in >32 µg/ml olması hem ülkemizde hem de hastanemizde endemik olduğu bilinen OXA-48 türü karbapenemazların varlığıyla uyumludur (18, 16, 17, 13). Moleküler yöntemlerin hem maliyet hem de uygulama zorluğu nedeniyle rutinde kullanılamadığı durumlarda, bu tür basit fenotipik yöntemlerle karbapenemaz türlerinin takip edilebileceği ve gereğinde moleküler yöntemlerin kullanılabileceği düşünüldü.

Rektal KDE suşlarının duyarlılık özellikleri incelendiğinde, kolistin halen en duyarlı ajan olduğu ancak suşların %9.6'sının kolistine dirençli olduğu görüldü. Karaçi'de yapılan bir çalışmada kolistine direnç oranı %15.9 olarak (14); Yunanistan'da yapılan bir çalışmada ise kolistine direnç oranları %10.5-20 arasında bildirilmiştir (19, 20). Yunanistan, dünyada en yüksek kolistin direnç oranları bildiren ülkededir (15). KDE'lerdeki kolistin direncinin bu seviyelere çıkması, bu bakterilerle infekte hastaların zaten oldukça sınırlı olan tedavi seçeneklerinin daha da azalması bakımından çok önemlidir ve yakından izlenmelidir.

Çalışmamız, prospektif kohort olarak planlanmış bir çalışma olmasının yanı sıra özellikle kaynakların ve insan gücünün sınırlı olduğu yerler için bir çözüm üretmek amacıyla tasarlanmış olması güçlü yönüdür. İzole edilen KDE suşlarında moleküler yöntemlerle karbapenemaz türlerinin araştırılmamış olması ise çalışmamızın en önemli eksiksidir.

Sonuç olarak, rektal KDE taşıyıcılığının belirlenmesinde ChromID CARBA yönteminin performansı, klasik CDC ve direkt MacConkey yönteminden daha iyi olmakla birlikte, özellikle kaynak sorunu olan yerlerde direkt MacConkey yönteminin de kullanılabileceği görüldü. Suşlardaki karbapenemaz varlığını göstermek bakımından, CARBA NP testinin, MHT'ye üstünlüğü olmadığı görüldü. KDE olarak tanımlanmış bakterilerin yaklaşık %20'sinde, aztreonam duyarlılığı veya EDTA inhibisyonu yöntemiyle MBL'lerin olabileceği tahmin edildi. Ülkemizde MBL'lerin gittikçe artan oranlarda bildirilmesi nedeniyle, moleküler yöntemlere ulaşmanın her zaman mümkün olmadığı merkezlerde KDE'lerde aztreonam duyarlılığı ve EDTA inhibisyon yönteminin birlikte kullanımıyla bu tür karbapenemazların varlığının tahmin edilebileceği ve gereğinde moleküler yöntemlerin kullanılabileceği düşünülmüştür.

Hasta Onamı

Hastalardan bilgilendirilmiş onam formu alınmıştır.

Etik Kurul Kararı

İstanbul Üniversitesi Tıp Fakültesi Klinik Araştırmalar Etik Kurulu'ndan 10 Haziran 2016 tarih ve 778 karar numarasıyla onay alındı.

Danışman Değerlendirmesi

Bağımsız dış danışman.

Yazar Katkıları

Fikir/Kavram – S.Ş.Y.; Tasarım – S.Ş.Y., C.Ö.; Denetleme – S.Ş.Y., H.E., C.Ö., H.Ö., A.T.; Malzemeler/Hastalar – S.Ş.Y., C.Ö.; Veri Toplama ve/veya İşleme – S.Ş.Y., C.Ö.; Analiz ve/veya Yorum – S.Ş.Y., H.E., H.Ö., A.T.; Literatür Taraması

– S.Ş.Y., C.Ö., S.B.; Makale Yazımı – S.Ş.Y., C.Ö., S.B.; Eleştirel İnceleme – S.Ş.Y., C.Ö., S.B., H.Ö., A.T., H.E.; Diğer – S.Ş.Y., S.B., A.T., H.Ö., H.E.

Çıkar Çatışması

Yazarlar herhangi bir çıkar çatışması bildirmemiştir.

Finansal Destek

Yazarlar finansal destek beyan etmemiştir.

Sunulan Bilimsel Etkinlik

28-31 Mart 2018 tarihinde gerçekleştirilen XIX. Türk Klinik Mikrobiyoloji ve Enfeksiyon Hastalıkları Kongresi'nde bildiri olarak sunulmuştur.

Tez

Bu çalışma, İstanbul Üniversitesi İstanbul Tıp Fakültesi, Enfeksiyon Hastalıkları ve Klinik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı tarafından 2017 yılında uzmanlık tezi olarak kabul edilmiştir.

KAYNAKLAR

- Köseoğlu-Eser O, Altun-Uludağ H, Ergin A, Boral B, Sener B, Haşcelik G. [Carbapenem resistance in ESBL positive *Enterobacteriaceae* isolates causing invasive infections]. Mikrobiyol Bul. 2014;48(1):59-69. Turkish.
- Panagea T, Galani I, Souli M, Adamou P, Antoniadou A, Giamarellou H. Evaluation of CHROMagar™ KPC for the detection of carbapenemase-producing *Enterobacteriaceae* in rectal surveillance cultures. Int J Antimicrob Agents. 2011;37(2):124-8. [CrossRef]
- Donnenberg MS. *Enterobacteriaceae*. In: Mandell GL, Bennett JE, Dolin R, eds. Mandell, Douglas, and Bennett's Principles and Practice of Infectious Diseases. 8th ed. Philadelphia: Churchill Livingstone, 2015: 2503-17.
- Facility guidance for control of carbapenem resistant *Enterobacteriaceae* (CRE) November 2015 update-CRE toolkit [Internet]. Atlanta: Centers for Disease Control and Prevention [erişim 31 Ekim 2017]. <https://www.cdc.gov/hai/pdfs/cre/cre-guidance-508.pdf>
- EUCAST guidelines for detection of resistance mechanisms and specific resistances of clinical and/or epidemiological importance [Internet]. Denmark: European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing (EUCAST). [erişim 31 Ekim 2017]. http://www.eucast.org/fileadmin/src/media/PDFs/EUCAST_files/Resistance_mechanisms/EUCAST_detection_of_resistance_mechanisms_170711.pdf
- Blackburn J, Tsimiklis C, Lavergne V, et al. Carbapenem disks on MacConkey agar in screening methods for detection of carbapenem-resistant Gram-negative rods in stools. J Clin Microbiol. 2013;51(1):331-3. [CrossRef]
- Lolans K, Calvert K, Won S, Clark J, Hayden MK. Direct ertapenem disk screening method for identification of KPC-producing *Klebsiella pneumoniae* and *Escherichia coli* in surveillance swab specimens. J Clin Microbiol. 2010;48(3):836-41. [CrossRef]
- Laboratory protocol for detection of carbapenem-resistant or carbapenemase-producing, *Klebsiella* spp. and *E. coli* from rectal swabs [Internet]. Atlanta: Centers for Disease Control and Prevention [erişim 31 Ekim 2017]. https://www.aab.org/images/aab/pdf/2013/Klebsiella_or_Ecoli_Lab_protocol.pdf https://www.cdc.gov/hai/pdfs/labsettings/klebsiella_or_ecoli.pdf
- Yamamoto N, Asada R, Kawahara R, et al. Prevalence of, and risk factors for, carriage of carbapenem-resistant *Enterobacteriaceae* among hospitalized patients in Japan. J Hosp Infect. 2017;97(3):212-7. [CrossRef]
- Simner PJ, Martin I, Opene B, Tamma PD, Carroll KC, Milstone AM. Evaluation of multiple methods for detection of gastrointestinal colonization of Carbapenem-resistant organisms from rectal swabs. J Clin Microbiol. 2016;54(6):1664-7. [CrossRef]
- Papadimitriou-Oliveris M, Bartzavali C, Christofidou M, et al. Performance of chromID® CARBA medium for carbapenemase-producing *Enterobacteriaceae* detection during rectal screening. Eur J Clin Microbiol Infect Dis. 2014;33(1):35-40. [CrossRef]
- Lutgring JD, Limbago BM. The Problem of Carbapenemase-Producing-Carbapenem-Resistant-*Enterobacteriaceae* Detection. J Clin Microbiol. 2016;54(3):529-34. [CrossRef]
- Yir, A. İstanbul Tıp Fakültesi Hastanesi'nde izole edilen karbapenemlere dirençli Gram-negatif enterik çomaklarda antibiyotik direnç oranları, mekanizmaları ve antibiyotik direnç gelişimine neden olan risk faktörlerinin araştırılması [Uzmanlık Tezi]. İstanbul Üniversitesi İstanbul Tıp Fakültesi Enfeksiyon Hastalıkları ve Klinik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı; 2016.
- Qamar S, Shaheen N, Shakoor S, Farooqi J, Jabeen K, Hasan R. Frequency of colistin and fosfomycin resistance in carbapenem-resistant *Enterobacteriaceae* from a tertiary care hospital in Karachi. Infect Drug Resist. 2017;10:231-6. [CrossRef]
- Ah YM, Kim AJ, Lee JY. Colistin resistance in *Klebsiella pneumoniae*. Int J Antimicrob Agents. 2014;44(1):8-15. [CrossRef]
- Rapid risk assessment: Carbapenem-resistant *Enterobacteriaceae* [Internet]. Stockholm: European Centers for Disease Prevention and Control (ECDC). [erişim 31 Ekim 2017]. <https://ecdc.europa.eu/sites/portal/files/media/en/publications/Publications/carbapenem-resistant-enterobacteriaceae-risk-assessment-april-2016.pdf>
- Haciseyitoglu D, Dokutan A, Abulaila A, et al. The first *Enterobacter cloacae* co-producing NDM and OXA-48 carbapenemases and interhospital spread of OXA-48 and NDM-producing *Klebsiella pneumoniae* in Turkey. Clin Lab. 2017;63(7):1213-22. [CrossRef]
- Carrër A, Poirel L, Eraksoy H, Gagatay 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. [CrossRef]
- Neonakis IK, Samonis G, Messaritakis H, et al. Resistance status and evolution trends of *Klebsiella pneumoniae* isolates in a university hospital in Greece: ineffectiveness of carbapenems and increasing resistance to colistin. Chemotherapy. 2010;56(6):448-52. [CrossRef]
- Kontopidou F, Plachouras D, Papadomichelakis E, et al. Colonization and infection by colistin-resistant Gram-negative bacteria in a cohort of critically ill patients. Clin Microbiol Infect. 2011;17(11):E9-E11. [CrossRef]
- Perez LR, Rodrigues D, Dias CG. Evaluation of phenotypic tests to detect carbapenem-resistant *Enterobacteriaceae* in colonized patients hospitalized in intensive care units. Braz J Infect Dis. 2015;19(4):436-8. [CrossRef]
- Ergönül Ö, Aydın M, Azap A, et al; Turkish Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases, Healthcare-Related Infections Study Group. Healthcare-associated Gram-negative bloodstream infections: antibiotic resistance and predictors of mortality. J Hosp Infect. 2016;94(4):381-5. [CrossRef]
- Josa DF, Bustos G, Torres IC, Esparza S G. [Evaluation of three screening methods for detection of carbapenemase-producing *Enterobacteriaceae* in rectal swabs]. Rev Chilena Infectol. 2018;35(3):253-61. Spanish. [CrossRef]