

T.C.
KIRIKKALE ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
MİKROBİYOLOJİ VE KLİNİK MİKROBİYOLOJİ
ANABİLİM DALI

ÇİFT DİSK SİNERJİ TESTİ VE FENOTİPİK
DOĞRULAMA TESTİ İLE GENİŞLEMİŞ SPEKTRUMLU
 β -LAKTAMAZ SALGILADIĞI TESPİT EDİLEN
ECHERİCHİA COLİ VE KLEBSİELLA SPP.
BAKTERİLERİNDE ANTİBİYOTİK DİRENÇ
ORANLARININ TESPİTİ

Dr. Gülay Ülkü ÖZKANTAR

UZMANLIK TEZİ

TEZ DANIŞMANI

Yrd. Doç. Dr. Altan AKSOY

Kırıkkale Üniversitesi Tıp Fakültesi Kütüphanesi
Demirbaş/Kayıt no: 768
Tasnif no: TWT/11/01/068

KIRIKKALE

2007

T.C.
KIRIKKALE ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
MİKROBİYOLOJİ VE KLİNİK MİKROBİYOLOJİ ANABİLİM DALI

Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı uzmanlık programı çerçevesinde yürütülmüş olan bu çalışma, aşağıdaki jüri tarafından **UZMANLIK TEZİ** olarak kabul edilmiştir.

Tez Savunma Tarihi: 07.02.2007

Doç.Dr. J. Sedef GÖÇMEN
Kırıkkale Üniversitesi Tıp Fakültesi
Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı
Jüri Başkanı

Yrd.Doç.Dr. Teoman APAN
Kırıkkale Üniversitesi Tıp Fakültesi
Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji
Anabilim Dalı

Üye



Yrd.Doç.Dr. Altan AKSOY
Kırıkkale Üniversitesi Tıp Fakültesi
Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji
Anabilim Dalı

Üye



TEŞEKKÜR

Bu çalışmanın planlanmasından tamamlanmasına kadar her aşamada değerli katkılarıyla bana destek veren, bilgi ve deneyimlerini paylaşmaktan hiçbir zaman çekinmeyen, asistanı olmaktan her zaman onur duyduğum Anabilim Dalı Başkanım Doç. Dr. J.Sedef GÖÇMEN'e; her zaman sabırla ve özveriyle, yapıcı eleştirileriyle tezime son derece büyük katkılarda bulunan, bilimsel yorumları ve istatistiksel analizdeki yardımlarıyla tez danışmanım Yrd. Doç. Dr. Altan AKSOY'a, değerli katkılarından dolayı değerli hocalarım Yrd. Doç. Dr. Teoman APAN ve Yrd. Doç. Dr. Latife ABUT İŞERİ'ye, asistan arkadaşlarıma, Mikrobiyoloji A.B.D. laboratuvarı personeline, asistanlık süresince desteğini esirgemeyen çok kıymetli eşime ve bu günlere gelmemde büyük katkıları bulunan aileme çok teşekkür ederim.

Dr.Gülay Ülkü ÖZKANTAR

ÖZET

ÖZKANTAR G.Ü. Çift disk sinerji testi ve fenotipik doğrulama testi ile genişlemiş spektrumlu β -laktamaz salgıladığı tespit edilen *Escherichia coli* ve *Klebsiella spp.* bakterilerinde antibiyotiklere direnç oranlarının tespiti. Kırıkkale Üniversitesi Tıp Fakültesi Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı Uzmanlık Tezi, Kırıkkale, 2007.

Bu çalışmada poliklinik ve yatan hastaların idrar ve yara materyallerinden izole edilen 960 *Escherichia coli* ve 300 *Klebsiella spp.* suşunda genişlemiş spektrumlu β -laktamaz (GSBL) varlığını çift disk sinerji testi (ÇDST) ve fenotipik doğrulama testi ile belirlemek ve antibiyotiklere direnç oranlarını tespit etmek amaçlanmıştır. Klasik yöntemlerle izole edilen bakterilerin antibiyotik direnç oranlarının tespitinde disk difüzyon yöntemi ve GSBL varlığının tespitinde ise çift disk sinerji testi (ÇDST) ve fenotipik doğrulama testi kullanılmıştır. Yapılan testlerdeki uygulamalarda ve sonuçların yorumlanmasında National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS) kriterleri dikkate alınmıştır. Antibiyotik direnç oranlarının değerlendirilmesinde Fisher's ki-kare testi kullanılmıştır. 960 *E. coli* suşundan 162'si (%16,8), 300 *Klebsiella spp* suşundan 66 (%22)'si (54'ü *K. pneumoniae* (%18) ve 12'si *K. oxytoca* (%4)) GSBL pozitif bulunmuştur. GSBL pozitif suşlarda amikasin direnci idrar materyalinde %5,9 iken yara materyalinde %14,5 bulunmuş ve bu durumun istatistiksel olarak anlamlı olduğu tespit edilmiştir ($p < 0,031$). Sonuç olarak disk difüzyon testi, ÇDST ve fenotipik doğrulama testinin uyumlu bulunduğu, GSBL pozitif yara örneklerinden izole edilen suşlarda amikasin direncine dikkat edilmesi gerekliliği belirlenmiştir.

Anahtar Kelimeler: Genişlemiş spektrumlu β -laktamaz, antibiyotiklere direnç *Klebsiella spp.*, *E. coli*.

ABSTRACT

OZKANTAR, G.U. Determining the antibiotics resistance of *Escherichia coli* ve *Klebsiella spp.* which were detected producing extended-spectrum β -lactamases, by double disc synergy and phenotypical confirmatory tests. University of Kırıkkale, Faculty of Medicine, Department of Microbiology and Clinical Microbiology, Specialist Thesis, Kırıkkale, 2007.

In this study, it is aimed to investigate the identification of extended spectrum β -lactamases (GSBL) of 960 *Escherichia coli* ve 300 *Klebsiella spp* which were isolated from wound and urine lspecimens of hospitalized patients and outpatients, and their resistance to same anti-biotics, by double disc synergy test and phenotypical confirmatory test. The bacteria were isolated by standart methods. Antibiotic resistance was tested by disc diffusion method, while, double disc synergy test and phenotypical confirmatory tests were used to find the existence of GSBL. All the tests were done according to criteria of the National Committee for Clinical Laboratory Standarts(NCCLS). The Fisher's ki-square test was used to show the antibiotic resistance. 162 of 960 *E. coli* strains (%16,8) and 66 of 300 *Klebsiella spp* strains (%22) (54 of which *K. pneumoniae* (%18) and 12 of which was *K. oxytoca* (%8) were found to be positive. The resistance of amicasin of the GSBL positive strains has been found %5,9 in the urine material, while it was %14,5 in the wound material and it was statistically significant ($p < 0,031$). Consequently, the disc diffusion test, double disc synergy test and the phenotypical confirmative tests were found to be compatible and it is determined that there is a necessity to be careful for the amicasin resistance in the strains isolated from the GSBL positive wound samples.

Keywords: Extended-spectrum β -lactamases, Resistance of antibiotics, *Klebsiella spp.*, *E. coli*.

İÇİNDEKİLER

ONAY SAYFASI	iii
TEŞEKKÜR	iv
ÖZET	v
ABSTRACT	vi
İÇİNDEKİLER	vii
SİMGELER VE KISALTMALAR	xi
TABLolar	xii
GENEL BİLGİLER	1
1.1. Klebsiella Cinsi Bakteriler	1
1.1.1. Üreme ve Biyokimyasal Özellikleri	1
1.1.2. Dirençlilik	3
1.1.3. Antijen Yapıları	3
1.1.4. Virülans Faktörleri	4
1.1.5. Yaptıkları Hastalıklar	4
1.2. Escherichia Coli	6
1.2.1. Görünüm ve Boyanma Özellikleri	7
1.2.2. Üreme ve Biyokimyasal Özellikleri	7
1.2.3. Dirençlilik	8
1.2.4. Antijen Yapıları	9
1.2.5. Hastalandırıcılık Özellikleri	9
1.2.6. Yaptıkları Hastalıklar	10

1.2.6.1. GİS Enfeksiyonları	10
1.2.6.2. Diğer Doku Enfeksiyonları	11
1.3. β - Laktam Antibiyotikler	11
1.3.1. β - Laktam Antibiyotiklerin Etki Mekanizması	12
1.3.2. β -Laktam Antibiyotiklere Direnç Gelişimi	13
1.3.3. β -Laktam Direncinde Porin Permabilitesinin Rolü	13
1.3.4. Dış Membran Permabilitesindeki Değişmelerin β -Laktam Direnci Üzerine Etkisi	14
1.3.5. PBP' lerdeki Değişikliklere Bağlı Olan Direnç	15
1.4. β - Laktamazlar	15
1.4.1. β - Laktamazların Sınıflandırılması	16
1.4.2. β -laktamazların İsimlendirilmesi	21
1.4.3. Plazmidler ve Antibiyotik Direncindeki Rollerini	21
1.4.4. Plazmid Aracılığı İle Sentezlenen β -Laktamazları	22
1.4.5. Plazmid Kaynaklı Enzimlerin Aşırı Üretimi (Hyperproduction) Sonucunda Direnç Gelişimi	23
1.4.6. Plazmid Kaynaklı β -laktamazların Neden Olduğu Direncin Spektrumu	25
1.4.7. Gram negatif Bakterilerde Kromozomal β -Laktamazların Sentezi ve Direnç Oluşturması	25
1.5. Genişletilmiş Spektrumlu β -Laktamazlar (GSBL)	27
1.5.1 TEM ve SHV kökenli GSBL'ler	28
1.5.2 TEM ve SHV Kökenli Olmayan GSBL'ler	29
1.5.3. İnhibitör Dirençli β -Laktamazlar	31

1.5.4. İnhibitör Dirençli ve Geniş Spektrumlu β -laktamazlar	32
1.5.5. Karbapenamazlar	32
1.5.6. Plazmid Aracılı Sefalosporinazlar (Sefamisinazlar)	34
1.6. GSBL'lerin Genel Özellikleri	36
1.6.1. GSBL Sentezleyen Bakterilerin Klinikte Yol Açtığı Sorunlar	36
1.6.2. GSBL Varlığına İşaret Eden Labaratuvar Bulguları	36
1.6.3. Laboratuvarda GSBL Taşıyan Suşları Saptamada Karşılaşılan Sorunlar	37
1.6.4. GSBL Taşıyan Bakterilerle Kolonizasyon ve Enfeksiyon Gelişimine Yol Açan Risk Faktörleri	37
1.6.5. GSBL Taşıyan Bakterilerin Tedavisinde Kullanılacak Antibiyotikler	38
1.7. β -Laktamaz İnhibitörlü Penisilinler(BLIP)'e Karşı Bakterilerde Direnç Gelişimi	39
GEREÇ VE YÖNTEM	40
2.1. Bakteri İzolasyon Ve İdentifikasyonu	40
2.1.1. İndol Testi	41
2.1.2. Methyl Red – Voges Proskauer (Mr-Vp) Testi	41
2.1.3. Sitrat Testi	41
2.1.4. TSI Besiyerine Ekim	42
2.1.5. Üreaz Testi	42
2.1.6. Hareket Testi	42
2.1.7. Katalaz Testi	43

2.1.8. Oksidaz Testi	43
2.2. Disk Diffüzyon Testi	44
2.2.1. Disk Diffüzyon Testinin Yapılışı	44
2.2.2. Disklerin Yerleştirilmesi	44
2.3. Çift Disk Sinerji Testi	44
2.4. Yöntemlerde Kullanılan Antibiyotikler	46
2.4.1. Disk Diffüzyon Testinde Kullanılan Antibiyotikler	46
2.4.2. Çift Disk Sinerji Testinde Kullanılan Antibiyotikler	47
2.2.3. Fenotipik Doğrulama Testinde Kullanılan Antibiyotikler	47
BULGULAR	49
TARTIŞMA	53
KAYNAKLAR	58

SİMGELER VE KISALTMALAR

µgr/ml	Mikrogram/mililitre
µm	Mikrometre
KCN	Potasyum Siyanat
MR	Mannoz Dirençli
MS	Mannoz Duyarlı
EMB	Eosin Metylen Blue
GİS	Gastrointestinal Sistem
GSBL	Genişlemiş Spektrumlu βLaktamaz
ÇDST	Çift Disk Sinerji Testi
PBL	Penisilin Bağlayan Protein
OMP	Outer Membran Protein
IRT	İnhibitör Rezistan
VP	Voges Proskauer
NCCLS	National Committee For Clinical Laboratory Standart (CLSI Clinical and Laboratory Standards Institute)
MIC	Minimum İnhibitör Konsantrasyon
BLIP	β-Laktamaz İnhibitörlü Penisilinler

TABLolar

- Tablo-1 β -Laktamazların Sınıflandırılması
- Tablo-2 β -Laktamazların Karşılaştırmalı Olarak Sınıflandırması
- Tablo-3 Plazmid Kökenli β -Laktamazların Özellikleri
- Tablo-4 GSBL Pozitif Suşların Kullanılan Parametrelere Göre Dağılımı
- Tablo-5 GSBL Pozitif Suşlarda Antibiyotik Direnç Oranlarının Çeşitli Parametrelere Göre Değerlendirilmesi

ŞEKİLLER

- Şekil-1 Çift Disk Sinerji Testi
- Şekil-2 Çift Disk Sinerji Testi
- Şekil-3 GSBL Pozitif Suşların Kullanılan Parametrelere Göre Dağılım Yüzdesi
- Şekil-4 *E. coli* ve *Klebsiella spp.* Suşlarının Antibiyotik Direnç Oranları

GENEL BİLGİLER

1.1. Klebsiella Cinsi Bakteriler

Klebsiella'lar toprakta, sularda, insan ve hayvanların bağırsakları ile üst solunum yollarının normal florasında bulunurlar. *Enterobacteriaceae* ailesinin özelliklerini gösteren hareketsiz, sporsuz, çoğunlukla kapsüllü 0.7–1.5x2.0–5.0 µm boyutlarında, bazen ikişer ikişer bazen kısa zincir oluşturan çomak şeklinde bakterilerdir. Gram negatif olup bakteriyolojik boyalarla iyi boyanırlar. Kapsül, organizmadan yeni ayrılan ve hastalık materyali içindeki bakterilerde açık seçik ve geniş olarak görülür. Kanlı, serumlu besiyerlerinde kapsüllerini saklı tutarlar. En iyi glikozlu besiyerlerinde kapsüllenirler(1).

1.1.1. Üreme ve Biyokimyasal Özellikleri

Klebsiella'lar fermentatif bakterilerdir. Birçok şekeri fermente etmelerine rağmen bu konuda kökenler arasında birliktelik yoktur. D-glukoz laktoz ve sükrozu fermente etmelerinin yanında, mannitol, adonitol ve trehalozu da fermente ederler. Örneğin *Klebsiella rhinoscleromatis* laktozu fermente edemez(2).

Hareketsiz bakterilerdir. Karbon kaynağı olarak malonat ve sitratı kullanırlar. *Klebsiella rhinoscleromatis* ise sitratı kullanamaz. Diğer tüm *Enterobacteriaceae* ailesi üyelerinde olduğu gibi oksidaz etkinlikleri yoktur. Klebsiella cinsi bakteriler, deoksiribonükleaz enzim aktivitesine sahip değildirler. *Klebsiella oxytoca*, *Klebsiella ornithinolytica* ve *Klebsiella planticola* bir aminoasit olan triptofanı indol, pirüvik asit ve amonyak oluşturarak metabolize ederler. Karbonhidrat metabolizmasının ara ürünü olarak asetil metil karbinol (asetoin) oluştururlar (*Klebsiella ozaenae* ve

Klebsiella rhinoscleromatis hariç). Üreyi yavaş hidroliz ederler ve Christensen'in üre agarında parlak pembe renk oluştururlar(*Klebsiella rhinoscleromatis* ve *Klebsiella terrigena* hariç)(2).

Klebsiella cinsi bakterilerden yalnızca *Klebsiella rhinoscleromatis*'de lizin dekarboksilaz enzimi yoktur ve bu nedenle lizini kadeverine dönüştüremez. Sadece *Klebsiella ozaenae* arjinin dihidrolaz enzimi ile arjinini sitrülline dönüştürebilir. Ornitin dekarboksilaz enzimi ile ornitini putresine dönüştürebilme yeteneği *Klebsiella ornithinolytica*, *Klebsiella ozaenae* ve *Klebsiella terrigena*'da gözlemlenir. *Klebsiella* cinsi bakteriler H₂S üretmezler, fenilalanini deamine etmezler(2).

Klebsiella pneumoniae, *Klebsiella ozaenae* ve *Klebsiella rhinoscleromatis* laktozdan gaz oluştururlar. *Klebsiella* cinsi bakterilerin *Enterobacter*, *Hafnia* ve *Serratia* cinsi bakterilerden ayırımında hareket yetenekleri ve DNAaz enzim aktiviteleri araştırılır. *Klebsiella*'lar hareketsiz diğerleri hareketlidir(1).

Klebsiella cinsi bakteriler tüm bağırsak bakterileri gibi genel kullanım besiyerlerinde ürerler. Optimal 37 °C ve pH 7 de iyi ürerler. Aerop ve fakültatif anaerobtur. Sıvı besiyerlerinde homojen bir bulanıklık ve dipte müköz bir çökelti yaparak üreme gösterirler. Üredikleri ortama bol kapsül maddesi salarlar. Katı besiyerindeki kolonileri, tipik mukoid nitelikte, büyük sarımtırak gri renkte ve akıcı kolonilerdir. Uygunsuz koşullarda S ve R kolonilerine dönüşebilirler Yatık jelozdaki birikme sıvısı gri-beyaz mukoid bir kitle şeklini alır. Buyyonda birkaç günlük kültürlerde bir kıvamaşma oluşarak besiyeri eritilmiş jelatin kıvamında bir görünüm alır(1).

Mc Conkey agarda koloniler tipik olarak büyük mukoid ve kırmızıdır. Agar çevresine diffüze olan kırmızı pigment laktoz fermentasyonunu ve asit üretimini gösterir(2).

1.1.2 Dirençlilik

Klebsiella'lar ısıya dayanıksızdırlar ve nemli ısıda 55 °C de yarım saatte ölürlür. Ancak kuruluğa karşı oldukça dirençli olup özellikle organik maddeler içinde kurutulursa aylarca canlı kalabilirler. Oda ısısında kültürlerde haftalarca +4 °C soğukta aylarca canlı kalırlar(2,3).

Klebsiella'lar antibiyotiklere karşı oldukça dirençlidirler ve bu dirençleri *E. coli*'ninkinden fazladır. Streptomisin, kloramfenikol, kanamisin ve tetrasiklinlere karşı değişik derecelerde, karbenisilin ve ampisiline karşı yüksek oranda direnç gösterirler. Genellikle gentamisin, polimiksinler ve sefalosporinlere daha duyarlıdırlar. Hastane ortamından izole edilen kökenlerde dirençlilik düzeyi çok yüksek, üst solunum yollarından izole edilenlerde nispeten düşüktür(1).

1.1.3 Antijen-Yapıları

Klebsiella'larda lipopolisakkarit yapısında O ve polisakkarit yapısında K antijenleri bulunmakta olup, bu bakterilerin serolojik tiplendirmeleri bu antijenlere göre yapılmıştır. Bu antijenlere karşı elde edilmiş antiserumlarla lam ve tüp aglutinasyonları, kültür süzüntüsü ile presipitasyon ve Neufeld'in kapsül şişme reaksiyonları ile Klebsiella'lar tiplendirilebilirler. Kapsül şişme reaksiyonunda aslında özgül serumlarla karşılaştırılan bakterilerin kapsül polisakkaritlerinde oluşan presipitasyon sonucunda kapsül periferinde opak bir çevre oluşmakta olup kapsül şişmiş gibi görülmektedir. Bu deneylerle Klebsiella'ların 82 K tipi antijeni gösterilmiştir(1).

1.1.4 Virülans Faktörleri

Klebsiella cinsi bakterilerin geniş polisakkarit kapsülü, bakteri hücrelerini fagositozdan koruyan önemli bir virülans faktörüdür. Ayrıca enfekte bölgeye lökosit göçünü geciktirir. Klebsiella'larda kapsül ve lipopolisakkaritlerde bulunan endotoksin dışında moleküler düzeyde herhangi bir virülans faktörü tanımlanmamıştır(2).

Klebsiella'larda konak organizmadan Fe iyonu sağlayabilen sideroforların varlığı gösterilmiştir. Sideroforlar, yayılcı sistemik enfeksiyon oluşturmada esansiyel bir faktör olan Fe sağlayarak mikroorganizmaların işini kolaylaştırmaktadır(2).

Fimbrialar yapışmadan sorumlu en önemli yüzey adezinleri ya da ligantlarıdır. Fimbrialar genellikle gram negatif bakterilerde bulunurlar fakat bazı gram pozitif bakterilerde de bulunabilirler. Çevre şartları fimbriaların oluşumunu etkiler. Oksijen, sıcaklık, pH ve bakterinin içinde bulunduğu ortam bunlar arasındadır. Bakterinin stoplazmik membranından kaynaklanıp dışa doğru uzanan fimbrialar protein yapısında olup pilin adı verilen ve birbirleri ile sarmal şekilde birleşmiş alt ünitelerden meydana gelmektedir(4). Çok kırılğan olan fimbrialar sürekli olarak kaybedilir ve yerlerine yenileri yapılır. Konak bakteri, fimbrialarının uç kısımlarına karşı antikor üretebilir. Bu antikorlar fimbriaların uç kısımlarına bağlanarak onların özgül reseptörlerine bağlanmasını engellerler. İdrar yolu enfeksiyonuna yol açan bazı bakteriler buna rağmen yeni fimbrialar yaparak konağın immün yanıtını aşabilirler(2).

1.1.5 Yaptıkları Hastalıklar

Üst solunum yolu ve bağırsak florasında bulunabilen Klebsiella'ların buldukları yerde uygun koşulların oluşması durumunda veya yerlerini değiştirerek diğer organ ve sistemlere yerleşmeleri halinde, birçok hastalığa neden olurlar(2).

Son zamanlarda özellikle hastane ortamlarında antibiyotiklere karşı direnç kazanmış kökenlerin yaptığı hastane enfeksiyonları yüzünden bu bakterilerin önemi artmıştır. *Klebsiella*'ların neden olduğu pnömoniler bakteriyel pnömonilerin %2'sini oluşturur. Daha çok 2 yaşından küçük ve 40 yaşın üzerindeki kişilerde görülür(3).

Klebsiella pneumoniae (Friedlander's basilli) tipik lobar pnömoni oluşturur. Hem hastane ortamından hemde toplumdan kazanılan bir hastalık olmasına karşın fırsatçı bir enfeksiyon etkeni olarak değerlendirilebilir. Çünkü *Klebsiella pneumoniae* solunum yolları savunma sistemi bozuk olan alkolizm, diabetes mellitus ve kronik tıkaçıcı akciğer hastalığı problemi olan kişilerde daha sık görülür. Çeşitli nedenlerle vücut direncinin düşmesi, virüslara bağlı olanlar başta olmak üzere çeşitli üst solunum yolu enfeksiyonları hazırlayıcı faktör olarak etki yapar. Pnömoni olgularından K1, K3, K4 ve K5 antijenine sahip serotipler sıklıkla sorumludur(2,3).

Klebsiella pneumoniae pnömoniden başka üriner sistem enfeksiyonları, yara enfeksiyonları ve bakteriyemi nedenidir. Yenidoğan ünitelerinde plazmid ile yönetilen çoklu dirençli *Klebsiella*'lara bağlı hastane enfeksiyonları görülür(2).

Klebsiella'lar, hastane enfeksiyonlarının %8'inden sorumlu tutulmaktadır. Bu enfeksiyonlar için en sık rastlanan odak, üriner sistem, alt solunum yolları, safra kesesi ve cerrahi kesiyeri enfeksiyonlarıdır. Son yıllarda yapılan bir araştırmada hastanede yatan kişilerdeki üriner enfeksiyonların %9'undan ve bütün primer bakteriyemilerin %14'ünden *Klebsiella*'lar izole edilmiştir. Bakteriyemilerde *Escherichia coli* ikici. sıradadır. Yatan hastalarda bulunan üriner kateter, endotrakeal tüp, damar içi kateter gibi invaziv araçlar özellikle gram negatif basillerle oluşan hastane enfeksiyonlarına yatkınlığı belirgin biçimde artırmaktadır(3).

Klebsiella pneumoniae hariç diğer *Klebsiella* tipleri daha az oranda hastane enfeksiyonu etkenidir. *Klebsiella oxytoca* mikrobiyolojik olarak indol yapabilmesi ile *Klebsiella pneumoniae*'dan ayrılır. İdrar, burun akıntısı ve beyin apselerinden izole edilmiştir(3).

Klebsiella ozaenae, bir çeşit kronik atrofik rinit olan ve ozena denen duruma yol açar

r. Nazal mukozal membranların pürülan enfeksiyonu ile ilişkilidir. *Klebsiella ozaenae*'nin sebep olduğu korneal apse vakası bildirilmiştir. *Klebsiella ozaenae*'nin kandan, idrardan ve yumuşak dokulardan izolasyonunun rapor edilmesi, bu organizma tarafından oluşturulan hastalığın spektrumunun önceden düşünülenenden çok daha yaygın ve yoğun olduğunu gösterir. Dışkıdan izolasyonu sıktır. Çok nadir olarak pnömonilerle ilişkili bulunmaktadır(3).

Klebsiella rhinoscleromatis üst solunum yolu enfeksiyonları ile ilişkilidir. Rinoskleroma denen burun ve üst solunum yolu (farinks) mukozasının katıldığı kronik granülomatöz bir hastalıktan sorumludur. Burun boşluğunu, yüzü ve boynu tutan bu hastalıkta granülomlar nedeniyle hava yolu tıkanıklığı gelişebilir(2, 3).

1.2. Escherichia Coli

Escherichia cinsi bakteriler genel olarak; hareketli, bazen hareketsiz, şekerleri asit ve gaz yaparak parçalayan, laktozu ve manitolü ayrıştıran bakterilerdir. İndol oluştururlar, Metil kırmızısı testi pozitif, Voges Proskauer testi negatiftir. Sitratlı ve potasyum siyenatlı (KCN) besiyerlerinde üremezler. Çoğu üreyi parçalamaz ve fenil alanini deamine etmezler. H₂S oluşturmazlar. Glukonatları oksitlemez, lizin dekarboksilaz ve glutamik asit dekarboksilaz yaparlar, jelatini eritmezler(1).

1.2.1 Görünüm ve Boyanma Özellikleri

E. coli yaklaşık olarak 2-6 µm boyunda ve 1.0-1.5 µm eninde, düz, uçları yuvarlak çomak şeklinde bakterilerdir.

Bazı kültürlerde koka benzer küçük ve kısa şekilde olabileceği gibi, bazı kültürlerde de normalden uzun ve hatta Y harfi şeklinde dallanan filamanlı şekiller halinde de bulunabilirler. Genellikle etraflarında bulunan kirpikler aracılığı ile hareketli olmakla beraber yavaş hareketlidirler. Hatta bu yüzden hareketsiz gibi görünebilirler. Çoğunlukla hemaglutinasyon yapan ve bunun mannoz tarafından önlendiği mannoz duyarlı (MS) Tip I, az bir kısmında hemaglutinasyonu mannoza dirençli (MR) Tip II fimbriaları bulunur.

Bakteriyolojik boyalarla kolay boyanırlar ve gram negatiftirler. Etraflarında kapsül maddeleri bulunmakla beraber organizmada bağırsak dışındaki yerlerden soyutlanan kökenlerin çoğunda kapsül veya mikrokapsül bulunur(1).

1.2.2. Üreme ve Biyokimyasal Özellikleri

E. coli fakültatif anaerop olup buyyon ve jelöz gibi genel besiyerlerinde ortalama pH 7,2'de kolayca ürerler. Optimal üreme ısısı 37 °C olmakla beraber 15-45 °C'ler arasında da üreyebilirler. Özellikle 44 °C'de üreyebilmeleri benzer bazı bakterilerden (*Enterobacter spp.* ve *Serratia spp.*) ayırt edicidir(1).

.Buyyonda homojen bulanıklık yaparlar. Jelözde hafif kabarık yuvarlak düzgün 1-2 mm çapında parlak S tipi koloniler yaparlar. Bazı kökenlerin kolonileri hafif mukoid (M) koloniler şeklindedir. R tipi koloniler de oluşabilir. Jelatinde kolonileri küçük saydam sonradan beyaz kesiftir. Jelatini ve koagüle serumu eritmezler. Bazı kökenler kanlı jelözde hemoliz yapabilirler(1).

1.2.1 Görünüm ve Boyanma Özellikleri

E. coli yaklaşık olarak 2-6 µm boyunda ve 1.0-1.5 µm eninde, düz, uçları yuvarlak çomak şeklinde bakterilerdir.

Bazı kültürlerde koka benzer küçük ve kısa şekilde olabileceği gibi, bazı kültürlerde de normalden uzun ve hatta Y harfi şeklinde dallanan filamanlı şekiller halinde de bulunabilirler. Genellikle etraflarında bulunan kirpikler aracılığı ile hareketli olmakla beraber yavaş hareketlidirler. Hatta bu yüzden hareketsiz gibi görünebilirler. Çoğunlukla hemaglutinasyon yapan ve bunun mannoz tarafından önlediği mannoz duyarlı (MS) Tip I, az bir kısmında hemaglutinasyonu mannoza dirençli (MR) Tip II fimbriaları bulunur.

Bakteriyolojik boyalarla kolay boyanırlar ve gram negatiftirler. Etraflarında kapsül maddeleri bulunmakla beraber organizmada bağırsak dışındaki yerlerden soyutlanan kökenlerin çoğunda kapsül veya mikrokapsül bulunur(1).

1.2.2. Üreme ve Biyokimyasal Özellikleri

E. coli fakültatif anaerop olup buyyon ve jelöz gibi genel besiyerlerinde ortalama pH 7,2'de kolayca ürerler. Optimal üreme ısısı 37 °C olmakla beraber 15–45 °C'ler arasında da üreyebilirler. Özellikle 44 °C'de üreyebilmeleri benzer bazı bakterilerden (*Enterobacter spp.* ve *Serratia spp.*) ayırt edicidir(1).

.Buyyonda homojen bulanıklık yaparlar. Jelözde hafif kabarık yuvarlak düzgün 1–2 mm çapında parlak S tipi koloniler yaparlar. Bazı kökenlerin kolonileri hafif mukoid (M) koloniler şeklindedir. R tipi koloniler de oluşabilir. Jelatinde kolonileri küçük saydam sonradan beyaz kesiftir. Jelatini ve koagüle serumu eritmezler. Bazı kökenler kanlı jelözde hemoliz yapabilirler(1).

E. coli birçok şekeri asit ve gaz meydana getirerek parçalar. Laktoza olan etkileri bu şekere etki etmeyen diğer enterik bakterilerden, özellikle Salmonella ve Shigella türlerinden ayırt edici bir özelliktir. Bu nedenle pratikte *E. coli*'nin dışkıda birlikte bulunduğu laktoz negatif bakterilerden ayırt edilmesinde içinde laktoz ve bir ayıraç bulunan çeşitli besiyerleri kullanılır. (Endo, Eosin Metylen Blue (EMB), Mc Conkey). *E. coli* bakterileri bu besiyerlerinde laktozu parçalayıp asit oluşturduklarından, Endo besiyerinde kırmızı madeni parlaklık veren, EMB besiyerinde mavi siyah ve yeşilimsi parlaklık veren, Mc Conkey besiyerinde de kırmızı renkte koloniler yaparlar. Bazı kolonileri laktozu geç (48 saatten sonra) parçalar. Fakat çok az köken laktoza hiç etki etmez(1).

E. coli bakterileri glikoz, maltoz, mannitol, ksiloz, ramnoz, arabinoz, sorbitol, trehaloz ve gliserolü asit ve gaz yaparak parçalarlar. Sukroz, salisin, dülsitol ve rafinoz üzerine etkileri değişken olup adonitol, inozitolü nadiren fermente ederler, nişastadan asla gaz oluşturmazlar(1).

E. coli bakterileri triptofandan indol yaparlar. Metil kırmızısı testi pozitif, Voges-Proskauer testi negatiftir. Simon'un sitratlı besiyerinde üremezler. Bazı kökenleri dışında üreyi parçalamazlar. Genellikle H₂S için ayıraçlı besiyerlerini siyahlandırarak kadar H₂S yapmazlarsa da sisteinli besiyerlerinde az miktarda H₂S yaptıkları saptanmıştır. Hemen tümünde KCN testi negatiftir(1).

1.2.3. Dirençlilik

E. coli oldukça dirençli bir bakteridir. 60 °C ısıda 30 dakika, oda ısısında uygun ortamda olmak koşulu ile uzun süre canlı kalabilir. Soğuğa dirençlidir. Dezenfektanlara karşı dirençsizdir. Aslında *E. coli* benzil penisilin, fenoksimetil penisilin, metisilin, oksasilin ve eritromisin dışında birçok antibiyotiğe duyarlı olmakla beraber koli kökenlerinin çoğu bakteriden bakteriye kolayca geçebilen direnç plazmidleri taşıdıklarından, bugün dışkıdan izole edilen *E. coli*'lerin bir kısmı ve özellikle hastane ortamından

izole edilen kökenlerin önemli bir bölümü ampisilin, sefalotin, streptomisin, tetrasiklinler, sülfonamid, bir bölümünde kloramfenikol, kanamisin, trimetoprime direnç kazanmışlardır(1).

1.2.4. Antijen Yapıları

Bütün enterik bakterilerde olduğu gibi *E. coli*'nin de karmaşık ancak iyi bir antijen yapısı ve değişik antijen tipleri vardır. Genel olarak bu çeşit bakterilerde bulunan O somatik ve H kirpik antijenlerinden başka bir kapsül antijeni kompleksinde bulunur. Şimdiye kadar birbirinden ayrı 171 O ve 56 adet H antijeni bulunmuşsa da bunlardan en çok rastlanılan O antijenlerinin sayısı 25 kadardır. İdentifikasyonda kullanılan H antijeni sayısı ise 20 kadardır. *E. coli*'nin O antijenleri ile Salmonella, Shigella, Citrobacter ve Providencia cinsi bakterilerin O antijenleri arasında karışıklıklara yol açabilen sayısız çapraz reaksiyon vardır. *E. coli*'nin H antijenleri ise ne birbirleri ile nede diğer bakterilerin H antijenleri ile çapraz reaksiyon vermezler. K antijenleri ise kapsül antijenleri niteliğindeki antijenlerdir. Bu antijenleri bulunduran *E. coli* bakterileri O antiserumları ile aglutine olmazlar. Bilinen yaklaşık 80 çeşit K antijeni mevcuttur. Ayrıca MR fimbriaları bulunduran *E. coli* bakterilerinde özel fimbria antijenleri de bulunur(1).

1.2.5. Hastalandırıcılık Özellikleri

E. coli memelilerin ve kuşların normal bağırsak florasında bulunur. Burada diğer flora bakterileri ve organizma ile bir denge altında kaldığı sürece hastalık yapmaz. Normal koşullarda kokuşma (putrefaksiyon) ve mayalaşma (fermentasyon) dengesinin düzenlenmesinde ve besinlerin sindirilmesi ile ilgili bazı hususlarda yardımcı olur. Ancak *E. coli* suşları insanlar ve hayvanlar için patojen olup bağırsak hastalıklarına neden olurlar.

Bağırsak kanalı dışına çıkıp diğer dokulara yerleşmeleri ve çeşitli klinik tablolara yol açmaları sık görülen durumlardır. Özellikle idrar yolları, safra kesesi, periton ve meninkslere ulaşan *E. coli* bakterileri önemli hastalıklara yol açarlar. Organizmanın normal savunma gücünün azaldığı immünosupresyon durumlarında, vena ve üretra kataterizasyonlarından sonra koliform bakterilerin doku ve kana yayılması için gerekli koşullar ortaya çıkar(1).

1.2.6. Yaptıkları Hastalıklar

E. coli'nin yapmış olduğu hastalıkları gastrointestinal sistem (GİS) enfeksiyonları ve diğer doku enfeksiyonları olarak iki gruba ayırabiliriz(2)

1.2.6.1. GİS Enfeksiyonları

Daha çok diyare sendromu şeklinde ortaya çıkan bu hastalıklar *E. coli*'nin özel O serovarları tarafından meydana getirilirler. Küçük çocuklarda ortaya çıkan ishaller daha çok hastane ve kreşlerde salgınlar şeklinde görülür. Büyükler çoğu kez hasta çocuklardan enfekte olurlar. Bununla beraber turist ishali adı verilen bir ishale sorumlu etkenlerin enteropatojenik *E. coli* suşları olduğu bilinmektedir. Ağır ishal olgularında bu suşlar çocukların ince bağırsaklarında hatta duodenumda bol sayıda bulunmaktadır(1).

Değişik mekanizmalarla ishale neden olan *E. coli*'lerin 6 tipi tanımlanmıştır(5, 6).

1. *Enterotoksijenik E. coli*

2. *Enterohemorajik E. coli*

3. *Enteroinvaziv E. coli*

4. *Enteropatojenik E. coli*

5. *Enteroagregatif E. coli*

6. *Diffüz adeziv E. coli*

1.2.6.2. Diğer Doku Enfeksiyonları

Normal bağırsak florasında bulunan *E. coli* suşları herhangi bir nedenle buldukları yerin dışına başka dokulara geçme olanağını buldukları takdirde önemli enfeksiyonların oluşmasına neden olabilirler. En çok üriner sistem, safra yolları ve safra kesesi, meninksler, akciğer ve peritona ulaşan *E. coli* suşları bu organlarda süpüratif enfeksiyonlar meydana getirir. Bunların dışında prostatitler, çeşitli perianal apseler, daha az oranda tonsillit, farenjit, sinüzit, otit ve yara enfeksiyonları gibi lokalize iltihaplanmalara yol açarlar(1).

Klebsiella'lar kadar olmasada *E. coli*'nin neden olduğu enfeksiyonlarda genişlemiş spektrumlu β -laktamaz üretiminin tespit edilmiş olması tedavide antibiyotiklere olan direnci arttırmakta ve bu direnç farklı türlere aktarılabilmektedir(2)

1.3. β -Laktam Antibiyotikler

β -laktam antibiyotikler başlıca 5 grupta toplanırlar.

1. Penisilinler
2. Sefalosporinler
3. Monobaktamlar
4. Karbapenemler
5. β -laktamaz inhibitörleri (klavulanik asit, sulbaktam, tazobaktam)

Ortak özellikleri yapılarında β -laktam adı verilen 4 atomlu halka taşımaıdır. Her grup β -laktam antibiyotiğin özelliği bu halkaya bağlanan başka halkalar ve yan zincirlerle belirlenir. Monobaktamlarda β -laktam halkasına bağlanan başka halka yoktur(7).

β -laktamaz inhibitörleri aslında birer β -laktam antibiyotik olmakla birlikte tek başlarına antibakteriyel özellikleri pratik olarak yoktur. β -laktam antibiyotikler yaygın kullanım alanı bulan bakterisid etkili ve toksisitesi düşük ilaçlardır. Bakteriler bu antibiyotik grubuna genellikle β -laktamaz yaparak direnç geliştirirler(7).

1.3.1. β - Laktam Antibiyotiklerin Etki Mekanizması

Tüm β -laktam antibiyotikler bakterilerin stoplazmik membranları üzerindeki penisilin bağlayıcı protein (PBP) adı verilen hedef proteinlere bağlanarak etkilerini gösterirler. PBP'ler bakteri hücre duvarında peptidoglikanın sentezinden sorumludurlar. β -laktam antibiyotik tarafından PBP'leri inhibe edilen bakteride peptidoglikan sentezlenemez ve hücre duvar yapısı bozulur. Sonuçta ozmotik direnci kaybolan bakteri hücresi ölür. β -laktam antibiyotiklerin hedeflerine bağlanabilmeleri için gram negatif bakterilerin porin (Outer Membran Protein, OMP) adı verilen içi su dolu protein kanalcıklarından geçmeleri, stoplazmik membranla dış membran arasındaki periplazmik boşlukta yer alan β -aktamazlardan etkilenmemeleri gereklidir(8). Gram pozitif bakterilerde dış membran olmayıp, stoplazmik membranın üzerinde kalın bir peptidoglikan tabakası bulunur. β -laktamazlar bu tabakaya yapışık veya bakteri hücresi etrafında serbest olarak yer alırlar (9).

1.3.2. β -Laktam Antibiyotiklere Direnç Gelişimi

Gram negatif bakteriler β -laktam antibiyotiklere karşı başlıca üç yolla direnç geliştirirler.

1. Dış membrandan geçmek için gereken kanalların (porinlerin) daralması veya bazı kanalların sayılarının azalması,

2. β -laktam antibiyotikleri parçalayan β -laktamaz enzimlerinin sentezlemesi,

3. β -laktam antibiyotiklerin bağlanarak etkilerini gösterdikleri PBP yapısında değişiklik yaparak antibiyotiğin bağlanmasının engellenmesi.

Gram pozitif bakterilerde dış membran olmadığından ilk mekanizma ile direnç gelişmesi söz konusu değildir. Buna karşın gram negatif bakterilerde her üç mekanizma ile de direnç gelişebilir(10).

Direnç gelişiminde çoğu zaman bir bakteri, birden fazla mekanizma kullanabilir. Örneğin, azalmış dış membran permabilitesi ile periplazmik boşluğa girişi azalan β -laktam antibiyotik bu boşluktaki β -laktamaz enzimlerinin etkisiyle kolayca parçalanabilir(11).

1.3.3. β -Laktam Direncinde Porin Permabilitesinin Rolü

Genellikle gram pozitif bakterilerde β -laktam antibiyotiklere karşı bir permabilite engeli yoktur. Buna karşın gram negatif bakterilerde bulunan dış membran, β -laktam antibiyotiklere karşı doğal bir engel oluşturmaktadır. β -laktam molekülleri bakteri hücreindeki hedeflerine ulaşabilmek için dış membranda bulunan porinlerden geçmek zorundadır. Kromozomal mutasyonlar sonucu porin proteinlerinde oluşan değişiklikler geçirgenlikte bir azalmaya, bunun sonucunda da penisilinler, sefalosporinler ve hatta karbapenemlere karşı dirence yol açmaktadır. Bu tipte direnç özellikle

enzimatik direnç ile birlikte ise yüksek düzeyde bir direnç ortaya çıkmaktadır(12, 13).

β -laktam antibiyotiğın porinlerden geçiş hızı aşağıdaki faktörlere;

- a) Molekül ağırlığına,
- b) Elektrik yükünün nötral olmasına,
- c) Suda erirliğinin (hidrofilite) yüksek olmasına bağlıdır.

Çoğu sefalosporin ve geniş spektrumlu penisilinler, moleküler yapılarındaki uzun yan zincirler nedeniyle porinlerden nispeten yavaş geçerler(14).

İmipenem diğer β -laktam antibiyotiklere kıyasla daha düşük molekül ağırlığında olduğundan porinlerden geçiş hızı daha yüksektir. Bu nedenle periplazmik boşlukta kısa sürede yüksek konsantrasyonda toplanan antibiyotiğın duyarlı bakterileri daha kısa sürede öldürebileceği düşünülmektedir(14).

1.3.4. Dış Membran Permabilitesindeki Değişmelerin β -Laktam Direnci Üzerine Etkisi

β -laktam antibiyotikler dış membrandan porin F ve porin C adı verilen başlıca iki kanal aracılığı ile geçerler. İmipenem dış membrandan ayrıca D2 proteini adı verilen özel bir porini kullanarak da geçer. Dolayısıyla bir gram negatif bakteri porin F ve porin C proteinlerini mutasyona uğratarak tüm β -laktam antibiyotiklere direnç geliştirebilirken, imipeneme duyarlı kalır. Öte yandan, özellikle *Pseudomonas aeruginosa* ve *Enterobacter spp.* suşlarında dış membrandan D2 proteininin kaybolması bakteriyi imipeneme dirençli hale getirebilir. Ancak bu tipte direnç geliştiren bakteri, diğer β -laktam antibiyotiklere karşı çapraz direnç göstermez(15).

1.3.5. PBP'lerdeki Değişikliklere Bağlı Olan Direnç

Bu mekanizma ile oluşan direnç bazı gram pozitif koklarda ve Pseudomonaslar'da gözlenmiştir. Kromozomal mutasyonlar sonucunda PBP'lerin β -laktam antibiyotiklere karşı ilgilerinde (affinity) azalma olabilir. Buda β -laktam antibiyotiklere karşı göreceli ya da tam bir dirence yol açabilir. PBP'lere bağlı direnç penisiline dirençli *Streptococcus pneumoniae*'da, metisiline dirençli *Staphylococcus aureus* ve *Staphylococcus epidermidis*'de, penisiline dirençli *Neiseria gonorrhoeae* ve *Neiseria meningitidis*'de, ampisiline dirençli *Haemophilus influenzae*'da ve penisilin ve sefalosporinlere dirençli *Enterococcus spp.* larde kesin olarak gösterilmiştir(12, 16).

1.4. β - Laktamazlar

β -laktamazlar, β -laktam antibiyotiklerdeki β -laktam halkasının amid bağlarını parçalayarak bu antibiyotikleri etkisiz hale getiren enzimlerdir. β -laktamazlar bakteriler tarafından ya kromozomlar veya plazmidler yada transpozonlar adı verilen transfer edilebilir genetik elemanlar aracılığı ile sentez edilirler. Gram negatif bakterilerde bugün için bilinen 200'e yakın β -laktamaz enzimi mevcuttur(15).

β -laktam antibiyotiklere karşı bakteri direnci penisilin G'nin bulunmasından önce bilinmiyordu. Fleming penisilin G'nin Streptokoklar ve Stafilokoklar dışında *H. influenza* enfeksiyonlarında da kullanılabileceğini bildirmiştir. β -laktamaz enzimide ilk kez 1929 yılında Fleming tarafından fark edilmiştir. Bu araştırmacı bazı bakterilerin penisilinler tarafından inhibe olmadığını gözlemlemiş, 1940 yılında Abraham ve Chain ise *E. coli*'den izole ettikleri ekstrenin penisilin'in etkisini ortadan kaldırdığını göstermişlerdir. Bu araştırmacılar elde ettikleri enzime penisilinaz adını vermişlerdir(17). Yine 1940'larda Kirby disk duyarlılık testlerini geliştirdikten sonra 1944 yılında

Stafilokok'ların penisiline duyarlı ve dirençli suşlarını karşılaştırdığında penisiline dirençli olanlarda bu enzimin bulunduğunu saptamış ve Stafilokok'ların penisilini parçalayabildiğini göstermiştir(17)

1947'lere gelindiğinde hastaneden izole edilen Stafilokok suşlarının büyük çoğunluğu penisiline dirençli hale gelmiştir. Eritromisin, tetrasiklin ve kloramfenikol gibi diğer ajanların geliştirilmesine rağmen, bu ajanlara karşı da Stafilokok direnci çok çabuk olarak gelişmiştir. 1959'da Beecham tarafından 6 amino penisiloid asitten semisentetik penisilinlerin sentez edilmesi büyük bir avantaj sağlamıştır. Semisentetik penisilinler, metisilin ve ampisilin sefalosporinlerden de sefaloridin ve sefalotinin geliştirilmesiyle dikkatler gram negatif bakterilerin β -laktamazları üzerine çevrilmiştir(17).

Bunun nedeni tamamen antibiyotik kullanımı ile ilişkilidir. Çünkü bu yeni antibiyotikler sadece Stafilokok'lara karşı değil aynı zamanda *E. coli*, *H. influenzae* ve diğer birçok enterik patojene karşıda başarı ile kullanılmıştır (18).

1960'lara gelindiğinde hastane enfeksiyonlarından izole edilen bakteriler, *S. pneumoniae*, *S. pyogenes* ve *S. aureus* gibi gram pozitif bakterilerden, *E. coli*, *K. pneumoniae* ve *Proteus mirabilis* gibi enterik patojenlere kaymıştır. Bu bakteriler başlangıçta ampisilin ile inhibe edilebilmelerine rağmen çok geçmeden cerrahi servislerinde ampisiline dirençli Klebsiella suşları bildirilmiştir. 1960'ların sonlarında ampisilin ve diğer aminopenisilinlere karşı *E.coli*'nin direnç geliştirmesi hastane enfeksiyonlarında büyük bir problem olmaya başlamıştır(15, 18).

1.4.1. β - Laktamazların Sınıflandırılması

1940 yılında Abraham ve Chain'in bildirdikleri penisilnaz ile birlikte β -laktamazların ilk sınıflandırması yapılmıştır. Bundan sonra yapılan ve kabul gören sınıflandırma Sawai ve ark.yaptığı sınıflandırma olmuştur. Sawai 1968 yılında enzimleri penisilnaz ve sefalosporinaz olarak ayırmış, ayrıca

antiserum ile reaksiyonuda buna eklemiştir. Richmond ve Sykes ise 1973 yılında yaptıkları sınıflandırmada o güne değin bilinen tüm gram negatif bakteri β -laktamazlarını substrat profillerine göre 5 grupta toplamıştır. Daha sonra Mathew özgül β -laktamazların izoelektrik noktalarına göre tanımlanacağını gösterdikten sonra 1976' da bu şema Sykes ve Mathew tarafından düzenlenmiştir. 1989'da Bush tarafından önerilen gruplamada tüm bakterilerin β -laktamazları yer almış ve ilk kez substrat ve inhibitör özellikleri moleküler yapı ile ilişkilendirilmiştir(19).

Moleküler yapı ile ilgili sınıflandırma ilk kez 1980 yılında Ambler tarafından yapılmış, Grup C sefalosporinazlar 1981 yılında Jaurin ve Grundstrom tarafından tanımlanmıştır(20). Oksasilini hidrolize eden Grup D enzimler ise 1980'lerin sonunda diğer serin enzimlerinden ayrılmıştır(21). Bu güne değin, daha çok biyokimyasal ve genetik temele dayanan çeşitli parametreler β -laktamazların tiplendirilmesi için kullanılmıştır. Bunlar içinde en önemli kriterlerden biri substrat profilleri olmuştur. Bundan başka inhibisyon profilleri ve fiziksel özellikleri de sınıflama için kullanılmaktadır. Substrat profili, β -laktamazların sınıflandırılması ve tanımlanması için kullanılan birinci parametredir ve enzimin çeşitli β -laktam antibiyotikleri hidroliz etme aktivitesini göstermektedir(22, 23).

Ambler, β -laktamazları aminoasit ve nükleotid dizilerine göre (Moleküler yapısı), Richmond-Sykes izoelektrik noktalarına göre, Bush ise biyokimyasal özelliklerine (substrat profilleri) göre sınıflandırmıştır. Yukarıda değinildiği gibi ilk kez 1980 yılında Ambler tarafından yapılan moleküler yapıya göre sınıflandırmada Grup A ve Grup B olarak ayrılmıştır. Daha sonra 4 moleküler sınıfa ayrılmıştır(24).

Grup A: Aktif bölgesinde serin aminoasidi olan ve molekül ağırlığı yaklaşık olarak 29.000 Dalton civarındaki β -laktamazlardır. Öncelikli olarak penisilinleri hidrolize ederler. Gram negatif bakterilerde en sık bulunan TEM-1 enzimi bu gruba iyi bir örnek teşkil eder.

GRUP B: Aktivite gösterebilmeleri için çinkoya bağlı tiyol grupları gerektiren metalloenzimlerdir.

GRUP C: Esas olarak sefalosporinaz aktivitesi gösteren ve yaklaşık olarak molekül ağırlığı 39.000 Dalton olan büyük protein molekülleridir. Aktif bölgelerinde serin mevcuttur.

GRUP D: Oksasilini hidrolize eden enzimlerdir. β -laktamazların en yeni sınıflandırma şeması 1995 yılında yapılan Bush-Medeiros-Jacoby sınıflandırmasıdır(24). Bu sınıflandırma 1989 yılında Karen Bushun yaptığı sınıflandırmanın bir uyarlamasıdır ve aynen Bush'un sınıflandırmasında olduğu gibi enzimler 4 ana grupta toplanmıştır. β -laktamazların sınıflandırılması ve özellikleri tablo-1 ve tablo-2'de yer almaktadır.

Tablo 1: β -Laktamazların Sınıflandırılması(24)

AMBLERİN GENETİK SINIFLAMASI	GRUP	ENZİM TİPLERİ	HİDROLİZ SPEKTRUM	ORGANİZMA	LOKALİZASYON
A	2b	Dar spektrumlu β-laktamazlar: TEM-1, TEM-2, SHV-1	Aminopenisilinler ve Karboksipenisilinler. Klavulanikaside duyarlı	<i>Enterobacteriaceae</i> <i>P.aeruginosa</i> (+)	Plazmid ve kromozom aracılı (<i>K. pneumoniae</i> , SHV-1)
A	2be	Geniş spektrumlu β-laktamazlar: TEM-3...TEM-29, 42, 43, 47, 48, 49, 50, 52, 60, 61	Geniş spektrumlu β -laktamazlar Klavulanikaside duyarlı	<i>Enterobacteriaceae</i> <i>K. pneumoniae</i> (++) <i>P.aeruginosa</i> (+)	Plazmid aracılı
A	2br	İnhibitör Dirençli β-laktamazlar TEM-30...TEM-41, 44, 45, 51, 59	Aminopenisilinler ve Karboksipenisilinler Klavulanikaside dirençli	<i>Enterobacteriaceae</i> <i>E. coli</i> (++)	Plazmid aracılı
A		İnhibitör Dirençli ve Geniş spektrumlu β-laktamazlar SHV-10, İsimled-ndirilmemiş TEM serisi(TEM-33ve TEM-15)	Geniş spektrumlu β -laktamazlar (düşük basamak) Klavulanikaside dirençli	<i>E. coli</i>	Plazmid aracılı
A		Karbapenemazlar: NmcA, Sme-1, IMI-1	Karbapenemler,aztreonam Klavulanikaside duyarlı	<i>Enterobacter cloacae</i> <i>Serratia marcescens</i>	Kromozomal aracılı
B	3	Karbapenemaz: IMP-1	Geniş spektrumlu β -laktamazlar, Karbapenemler Klavulanikaside dirençli	<i>Enterobacteriaceae</i> <i>P.aeruginosae</i>	Plazmid ve Kromozomal aracılı
D	2d	OXA-11.....21	Penisilinler,kloksasilin. Klavulanikaside dirençli	<i>Enterobacteriaceae</i> <i>P.aeruginosae</i>	Plazmid aracılı
C	1	Plazmid Aracılı Sefalosporinazlar: MIR-1, MOX-1, CMY-1...CMY-5, LAT-1, BIL-1, FOX-1, ACT-1	Sefamisinler,Oksiiminosefalo- sporinler ve Aztreonam. Klavulanikaside dirençli	<i>Enterobacteriaceae</i> <i>K. pneumoniae</i> (++)	Plazmid aracılı

Tablo-2 : β -Laktamazların Karşılaştırmalı Olarak Sınıflandırması(24)

Bush Jacob Medeiros	Richmod ve Sykes	Mol. Sınıf.	Tercih edilen substrat	İnhibisyon		Temsilci enzimler
				Klav	EDTA	
1	la, lb, ld	C	Sefalosporinler	-	-	Gram negatif bakterilerin Kromozomal ve plazmid kökenli AmpC enzimleri (MIR-1, BIL-1, MOX-1, CMY-1..5, LAT-1..2, FOX-1..3, ACT-1)
2a		A	Penisilinler	+	-	Gram pozitif bakterilerin Penisilinazları; NPS-(P), <i>S.aureus</i> (P) <i>B.cereus</i> 569(K)
2b	III	A	Penisilinler, Sefalosporinler	+	-	TEM-1(P), TEM-2(P), SHV-1(HI)
2be	IV (SadeceKI)	A	Penisilinler, Sefalosporinler, Monobaktamlar	+	-	TEM-3...29(P) TEM-42, 43, 47, 48, 49, 50, 52, 60, 61(P), SHV-2...12(P), K-1(K)
2br		A	Penisilinler	+	-	TEM-30...41, 44, 45, 51, 59
2c	II, V	A	Penisilinler Karbapenemler	+	-	PSE-1, PSE-3, PSE-4, HMS-1, ROB-1, OHIO-1, LXA-1, SAR-1, TLE-1, BRO-1
2d	V	D	Penisilinler Kloksasilin	+	-	OXA-1-21(P), PSE-2(P)
2e	lc	A	Sefalosporinler	+	-	<i>P.vulgaris</i> 'in indüklenebilir sefalosporinazları
2f		A	Penisilinler, Sefalosporinler Karbapenemler	+	-	<i>Enterobacter cloacae</i> 'nin NMC-Ave <i>Serratia</i> 'nin Sme-1 enzimi
3		B	Karbapenemlerde dahil birçok β -laktam	-	+	<i>Xanthomonas maltophilia</i> 'nin L1(K) Ve <i>B.fragilis</i> 'in CerA enzimi(K)
4		?	Penisilinler	-	?	<i>Pseudomonas cepecia</i> 'nin Penisilinazları

1.4.2. β -Laktamazların İsimlendirilmesi

β -laktamazların isimlendirilmesindeki farklı yaklaşımlar, bu enzimleri gördüklerinden daha karmaşık bir hale getirmiştir. Bu enzimler tercih ettikleri substratlara (CARB, FUR, IMP, OXA), biyokimyasal özelliklerine göre (SHV, NBC) genlerine (Amp, CepA), izole edildikleri bakterilere (AER, PSE), suşlara (P99), hasta isimlerine (TEM, ROB), hastaneye (MIR, RHH), eyaletlere (OHIO), ve bulan kişiye göre (HMS) isim almışlardır(25). Bunlardan bazıları geçerliliklerini yitirmiştir. Örneğin; SVH, sülfidril variabldan (değişken) kısaltılmıştır, buna karşın artık SHV-1 enziminin aktif bölgesinin sülfidril değil serin hidroksil olduğu anlaşılmıştır. Benzer şekilde, ilk kez Pseudomonas'tan izole edilmiş olan PSE enziminin artık Enterobacteri'lerde de bulunabildiği bilinmektedir(26). Son yıllarda büyük bir hızla artmakta olan TEM enziminden türeyen enzimlere ise CAZ (seftazimidaz), CTX (sefotaksimaz) veya IRT (inhibitör rezistan) gibi tanımlayıcı isimler verilmiş ve bu da bir karmaşaya yol açmıştır. Bu konuda önerilen ise, TEM den köken alan tüm enzimlerin TEM-26, TEM-43 gibi numara ile belirlenmesidir(25).

1.4.3. Plazmidler ve Antibiyotik Direncindeki Roller

Plazmidler bakteri hücresinin kromozomu dışında stoplazmada yer alan halka şeklinde DNA parçalarıdır. Plazmidlerin taşıdığı genetik şifre, bakterinin yaşaması için mutlak gerekli değildir. Ancak plazmidler, antibiyotik direnci gibi bakteriye çevre koşullarına dayanmada üstünlük sağlayabilecek bazı özellikler kazandırabilir. Bir plazmid üzerinde birden fazla antibiyotik grubuna karşı direnç sağlayacak genetik şifre taşınabilir. Örneğin bir bakteri, plazmidleri üzerinde değişik β -laktamazları kodlayan genlerle birlikte aminoglikozidleri parçalayan enzim sentezini sağlayan genetik şifreyi taşıyabilir(27).

Plazmidler bir bakteriden diğesine transfer edilebilirler. Bu sayede plazmid aracılığı ile sağlanan direnç kolayca bakteriler arasında yayılabilir (27).

1.4.4. Plazmid Aracılığı İle Sentezlenen β -Laktamazları

Plazmid aracılığı ile sentezlenen çok sayıda β -laktamaz mevcuttur. Bunlar arasında başta *E. coli* olmak üzere bütün gram negatif bakterilerde sık olarak bulunan TEM-1 ve TEM-2 ve esas olarak *Klebsiella* suşları tarafından sentezlenen SVH-1 en yaygın β -laktamazlardır. Bu enzimler ampisilin, mezlosilin, piperasilin gibi geniş spektrumlu olanları dahil tüm penisilinlere ve 1. kuşak sefalosporinlere karşı direnç gelişimine neden olur. Ancak 3.kuşak sefalosporinler, aztreonam ve β -laktamaz inhibitörleri tarafından kolayca inhibe edilirler. OXA grubu β -laktamazlar oksasilin ve benzeri penisilinleri, PSE grubu ise karbenisilini inaktive eder. Bu enzimler özellikle *P. aeruginosa*'da ve başta *E. coli* olmak üzere enterik gram negatif bakterilerde bulunurlar. β -laktamaz inhibitörleri bu enzimleride kolayca inaktive ederler (28, 29, 30).

TEM ve SHV tipi enzimlerin yapısında bir veya birkaç aminoasit değişikliği ile bu enzimlerin etki spektrumu çok genişleyip 3.kuşak sefalosporinleri ve aztreonamı da içine alabilir. Bu özelliğe sahip enzimlere genişletilmiş spektrumlu β -laktamazlar(GSBL) adı verilmiştir. Halen 90'a yakın GSBL tanımlanmış olup, yeni enzimlerle bu sayı sürekli artmaktadır(31).

Plazmid kaynaklı β -laktamazlar 6 gruba ayrılırlar.(Tablo-3)(9).

1-Geniş Spektrumlu enzimler: Bu grupta yer alan β -laktamazlar penisilinleri ve sefaloridini benzer oranlarda hidrolize ederler. (TEM-1, TEM-2 ve SHV-1 gibi)

2-Oksasilinazlar: Bunlar oksasilin ve bununla ilgili penisilinleri hidrolize ederler.(OXA-1....21 gibi)

3-Karbenisilinazlar: Bu enzimler karbenisilini kolayca hidroliz ederler.(CARB-1...6)

4-GSBL: Bu enzimler oksiiimino sefalosporinleri (sefotaksim, seftriakson, seftazidim) ve aztreonamı parçalarlar. TEM ve SHV enzimlerinden nokta mutasyon sonucu oluşurlar. TEM den oluşan 42, SHV enziminden ise 11 çeşit GSBL tanımlanmıştır. (TEM-3....61, SHV-2.....12 gibi)

5-Sefalosporinazlar: Bu enzimler oksiiimino sefalosporinleri parçalarlar. Bu enzimleri kodlayan genler, nükleotid dizilişi bakımından *Enterobacter spp.*, *Citrobacter spp.* ve *K. oxytoca*'nın kromozomal β -laktamaz genlerine benzerler ve biyokimyasal özellikleride aynıdır.

6-Karbapenemazlar: Bu sık karşılaşılmayan β -laktamazlar imipenemi hidrolize ederler ve *P.aeruginasa*'da bulunurlar(14)

1.4.5. Plazmid Kaynaklı Enzimlerin Aşırı Üretimi (Hyperproduction) Sonucunda Direnç Gelişimi

TEM ve SHV tipi enzim taşıyan bazı bakteriler, bu enzimlerini sentezleyen plazmidlerini çoğaltarak, enzim miktarını arttırabilirler. Fazla miktarda salgılanan enzim bu durumda sadece penisilin türevlerine değil daha önceden bakterinin duyarlı olduğu β -laktam+ β -laktamaz inhibitör kombinasyonları (ampisilin-sulbaktam, amoksisilin-klavulanik asit gibi) ve 1. ve 2. kuşak sefalosporinlere karşıda direnç gelişimine neden olur. Karbapenem türevleri bu türden direnç taşıyan bakterilere karşı etkilidirler (14, 15).

Tablo 3: Plazmid Kökenli β -Laktamazların Özellikleri(9)

β -LAKTAMAZLAR	SIKLIĞI	KONAK BAKTERİ	SPESİFİK ÖZELLİKLER
GENİŞ SPEKTRUMLULAR TEM-1	Çok Sık	<i>Enterobacteriaceae</i> <i>P.aeruginosae</i> <i>H. influenzae</i> <i>N.gonorrhoeae</i> <i>Vibrio cholerae</i>	Hemen hemen bütün bakterilerde bulunur.
TEM-2	Sık	<i>Enterobacteriaceae</i>	TEM-1 den bir aminoasit değişikliği vardır.
SHV-1	Sık	<i>Enterobacteriaceae</i>	Sıklıkla <i>K.pneumoniae</i> dakromozomal genlerle kodlanır.
OKSASİLİNAZLAR OXA-1	Sık	<i>Enterobacteriaceae</i>	<i>E. coli</i> de 2. sıklıkta bulunur.
OXA-2	Sık	<i>Enterobacteriaceae</i>	Salmonellada 2. sıklıkta bulunur.
OXA-3.....10		<i>Enterobacteriaceae</i>	OXA-1 e göre daha geniş bir aktiviteye sahiptirler.
OXA-11... 21		<i>P.aeruginosae</i> <i>Enterobacteriaceae</i>	β -laktamaz inhibitörlerine dirençli (Tazobaktam hariç) ve plazmid kontrolündedirler
KARBENİSİLİNAZLAR CARB-1	Sık Değil	<i>Enterobacteriaceae</i> <i>P.aeruginosae</i>	
CARB-2	Sık	<i>P.aeruginosae</i> <i>Enterobacteriaceae</i>	<i>P.aeruginosae</i> 'da sık bulunur.
CARB-3.....6	Nadir	<i>P.aeruginosae</i>	
GSBL TEM-3.....29 TEM-42, 43, 47, 48, 49, 60, 61	Nosocomial Salgınlarda Sık	<i>K.pneumoniae</i> , daha az sıklıkta diğer enterobakterilerde	TEM-1 ve TEM-2 'den 1 ila 5 aminoasit değişikliği sonucu oluşurlar.
SHV-2...12	Nosocomial Salgınlarda Sık	<i>K.pneumoniae</i> , daha az sıklıkta diğer enterobakterilerde	SHV-1 'den 1 ila 3 aminoasit değişikliği sonucu oluşurlar.
SEFALOSPORİNAZLAR CEP-1	Nadir	<i>P.mirabilis</i>	
CEP-2	Nadir	<i>Achromobacter</i>	
CMY-2.....5	Nadir	<i>K. pneumoniae</i>	Citrobacter'in kromozomal β -laktamazına benzer
KARBAPENEMAZLAR IMP-1	Nadir	<i>P.aeruginosae</i>	İmipenemi parçalayan metalloenzimlerdir.

1.4.6. Plazmid Kaynaklı β -Laktamazların Neden Olduğu Direncin Spektrumu

TEM-1, TEM-2 veya SHV-1 gibi β -laktamazları taşıyan bakteriler geniş spektrumlu olanları dahil (mezlosilin ve piperasilin gibi) penisilin türevleri ve 1. kuşak sefalosporinlere karşı direnç gösterirler. Bu enzimleri fazla miktarda sentezleyen mutantlar ise ek olarak 2. kuşak sefalosporinlere ve β -laktamaz inhibitörlü β -laktam antibiyotiklere de dirençli hale geçerler. GSBL taşıyan bakteriler genellikle β -laktamaz inhibitörlerine karşı duyarlı olmakla birlikte geniş spektrumlu penisilinler, 3.kuşak sefalosporinler ve aztreonama karşı direnç gösterirler. Yukarıda sayılan enzimlerin hangisini taşırsa taşısin, bu bakteriler üniform olarak karbapenem (imipenem ve meropenem) türevlerine karşı duyarlıdır(29, 30).

1.4.7. Gram negatif Bakterilerde Kromozomal β -Laktamazların Sentezi ve Direnç Oluşturması

Hemen hemen bütün gram negatif bakteriler kromozomal kaynaklı β -laktamaz üretebilirler. β -laktamaz genellikle spesifiktir ve aktivitesi çok düşüktür. Fakat kromozomdaki pek çok β -laktamaz geninde değişiklik veya indüksiyon sonucu β -laktamaz aktivitesi artar(32). Keza indüksiyonu düzenleyen genlerdeki mutasyon, indüklenebilen β -laktamazların yapısal olarak aşırı üretilmesine yol açar. Plazmid kaynaklı β -laktamazlardan biyokimyasal olarak tamamen farklı olan bu enzimler Bush sınıflamasında birinci grupta yer alırlar. Sefalosporinleri parçalarlar ve klavulanik aside dirençlidirler. Ayrıca plazmid kaynaklı β -laktamazlara dirençli olan 3. kuşak sefalosporinlerin çoğunu parçalarlar(32, 33).

Klinikte ciddi sorun oluşturan Enterobacter, Pseudomonas, Serratia ve Citrobacter gibi gram negatif bakterilerin kromozomal β -laktamazları indüklenebilir özelliktedir. Bu bakteriler bazı β -laktam antibiyotiklerle (ampisilin, 1. kuşak sefalosporinler gibi) karşılaştıklarında, kromozomal β -

laktamaz sentezi hızla artar (indüksiyon). Ancak indüksiyon geçici bir olay olup, ortamda sentezi artan β -laktamazın, antibiyotiği inaktive etmesi sonucu durur. Böylece bakteri başlangıçtaki düşük düzeyde enzim sentezleyen haline döner. Indüksiyon mekanizması klinikte çoğu zaman direnç gelişimi açısından sorun oluşturmaz(33).

3. kuşak sefalosporinler, kromozomal β -laktamazları zayıf bir biçimde indüklerler. Dolayısıyla indüklenebilir β -laktamaz taşıyan gram negatif bakteriler bu antibiyotiklerle karşılaştıklarında enzim sentezlerini arttıramayacaklarından, kolayca bu antibiyotikler tarafından öldürülürler. Ancak aynı bakteri topluluğu içindeki fazla miktarda β -laktamaz sentezleyen konstitüf mutantlar bu antibiyotikler tarafından yok edilemezler. Normalde bu tip mutantlara seyrek olarak rastlanır (10^{-6} - 10^{-8} sıklıkta). Bir süre sonra duyarlı bakterilerin tamamı ölürken, enfeksiyon ortamında sadece dirençli mutantlar kalır (seleksiyon). Ortaya çıkan dirençli bakteriler artık sadece 3. kuşak sefalosporinlere değil, imipenem ve karbapenem hariç tüm β -laktam antibiyotiklere ve β -laktamaz inhibitörlerine karşıda dirençlidirler(34).

Çoğul dirençli mutantlar bir kere baskınlık kazandığında, sadece hasta için değil aynı zamanda hastane için de büyük bir problem oluşturmaktadır. Çok sayıda çalışma, 3.kuşak sefalosporinlerin kullanımındaki artışla birlikte çoğul dirençli suşların izole edilme sıklığında da artış olduğunu göstermektedir. Başlangıçta bu dirençli suşlarla infekte olan hastalarda mortalite oranı aynı bakterinin başlangıçta duyarlı olan suşu ile enfekte olanlarınkine göre daha yüksektir(33).

1.5. Genişletilmiş Spektrumlu β -Laktamazlar (GSBL)

Enterobacteri'lerde en sık karşılaşılan plazmid kaynaklı β -laktamazlar, 1. kuşak sefalosporinlere karşı zayıf aktivite gösteren TEM-1, TEM-2 ve SHV-1 enzimleridir. Bu enzimler 3. kuşak sefalosporinlerin hiçbirini, aztreonam ve karbapenemleri parçalayamazlar. Özellikle sefotaksim, seftazidim gibi 3. kuşak sefalosporinlerin kullanımında son yıllarda büyük bir artış olmuştur. Ancak 1980'lerin ortalarından sonra yaygınlaşmaya başlayan mutant enzimler 3. kuşak sefalosporinleri ve aztreonamı da etkisiz hale getirmeye başlamıştır. Bu mutant enzimlerde sefotaksim, seftazidim ve diğer geniş spektrumlu sefalosporinlere ve aztreonama değişik derecelerde direnç vardır. Fakat sefamisinlere ve karbapenemlere 1988 yılına kadar direnç bildirilmemiştir. Bu enzimler, çok geniş bir substrat profiline sahip olduğundan 1989 yılında Jacoby ve ark. tarafından GSBL olarak isimlendirilmiştir(35, 36).

GSBL ilk olarak 1983 yılında Almanya'da, 1987 yılında Fransa'da ve 1991 yılında bütün dünyada bildirilmeye başlandı. Halen çok sayıda ve çeşitli GSBL enzimi ve bunların üretimini düzenleyen mekanizmalar mevcuttur ve GSBL bütün dünyada hızlı bir şekilde artmaktadır. Bu nedenle GSBL üreten suşlarla oluşan enfeksiyonların tedavisi için β -laktam antibiyotik seçiminde çok dikkatli olunmalıdır(37).

GSBL enzimleri esas itibariyle TEM ve SHV enzimlerinden köken alsalarda son zamanlarda TEM ve SHV kökenli olmayan yeni plazmid kaynaklı GSBL'ler tanımlanmıştır. Bu yeni enzimler sefamisinlerde dahil bütün sefalosporinlere karşı etkilidirler(38).

GSBL enzimlerinin yayılımı hakkında birçok epidemiyolojik çalışma vardır. İngiltere, İspanya, Portekiz, İtalya, Yunanistan, ABD, Kuzey Afrika, Güney Amerika ve Çin'de tespit edilmiştir. Predominant tipler coğrafi olarak değişiklikler gösterir(35)

SHV-2 ve SHV-5 Almanya'da, SHV-3, SHV-4 ve TEM-3 Fransa'da, SHV-5 ise Yunanistan'da en yaygın olan GSBL enzimleridir(39). Türkiye de dahil olmak üzere uluslararası en yaygın olan GSBL tipi ise SHV-2'dir (35).

GSBL enzimlerinin Klebsiella'larda yaygın olmalarının nedenlerinden biri bu organizmaların deri ve yüzeylerde diğer enterik bakterilere göre daha uzun süre canlı kalabilmeleridir (39,40, 41).

GSBL enzimlerini altı gruba ayırmak mümkündür(42).

1-TEM ve SHV kökenli olanlar,

2-TEM ve SHV kökenli olmayanlar,

3-Inhibitör dirençli β -laktamazlar,

4- İnhibitör dirençli ve geniş spektrumlu β -laktamazlar,

5-Karbapenemazlar,

6-Plazmid aracılı sefalosporinazlar (sefamisinazlar).

1.5.1 TEM ve SHV kökenli GSBL'ler

GSBL enzimleri esas olarak TEM ve SHV türü enzimlerden 1-4 aminoasit değişikliği ile oluşurlar. Tüm bakterilerde yaygın, plazmid aracılığı ile sentezlenen β -laktamaz olan TEM-1'in yapısında bir aminoasit değişikliğine neden olan mutasyon sonucu TEM-2, bu enzimin yapısında 2 aminoasit değişikliği ile de TEM-3 ortaya çıkar. TEM-1 ve TEM-2 etki spektrumu açısından benzer (penisilin ve türevlerine karşı aktif) birer penisilinaz iken, TEM-3 üçüncü kuşak sefalosporinleri de parçalayabilen bir GSBL'dir. TEM-1 ve TEM-2 de, başka bir aminoasit ile değiştirildiğinde enzim substrat spesifitesinde azalmaya yol açan ve GSBL oluşumuna neden olan 7 aminoasit bulunmaktadır (39, 104, 164, 237, 238, 240, 265'inci pozisyonlar) (Sutcliffe numaralandırması). Bu gün için bilinen TEM kökenli 42 ve SHV kökenli 11 çeşit GSBL mevcuttur. Bu enzimler en sık olarak *K. pneumoniae* suşlarında ortaya çıkarlar (GSBL üreten suşların %80'i)(42).

Plazmidlerin aktarılabılır olmasından dolayı GSBL bütün dünyada hızlı bir şekilde artmaktadır. Son zamanlarda GSBL diğer bütün Enterobacter'lerde de gösterilmeye başlanmıştır. *K. pneumoniae*'da GSBL üretme sıklığı Fransa, İngiltere ve Portekiz'de ortalama % 14–16 arasındadır. Bu oran *E. coli* 'de %0,1, *P. mirabilis*'te ise daha azdır. Bu durum plazmid konjugasyonunun daha az olması veya GSBL'yi saptamaktaki yetersizlikten kaynaklanıyor olabilir(31).

TEM ve SHV kökenli GSBL'lerin tümü klavulanik asit, sulbaktam ve tazobaktam gibi β -laktamaz inhibitörlerine duyarlıdır. Bu üç inhibitörden klavulanik asit en etkilisidir. Sulbaktamın sınırlı bir etkisi vardır, bu enzimin SHV türevlerine karşı çok etkili olmadığı bilinmektedir(20). Bu grubun en önemli özelliği kolaylıkla yayılabilir olmasıdır. Hastane enfeksiyonlarında önemli bir problem olmaktadır(44).

1.5.2 TEM ve SHV Kökenli Olmayan GSBL'ler

Bu enzimler plazmid kaynaklıdır ve klavulanik aside dirençlidirler. Moleküler sınıflamada A grubuna dahildirler. Bu enzimler MEN-1, MEN-2, CTX-M1, CTX-M2, PER-1, PER-2, VEB-1 ve TOHO-1'dir. İlk defa 1992 yılında Fransa'da Bernard ve ark. tarafından onkoloji servisinde yatan bir hastadan izole edilen *E. coli* ve *K. pneumoniae* suşlarında bulunmuş ve MEN-1 olarak adlandırılmıştır. Bu enzim *K. oxytoca*'nın kromozomal kökenli enzimi ile %72 ve TEM deriveleri ile %38 lik bir aminoasit benzerliği gösterir(37, 45). Buna ilave olarak Arjantin'de MEN-1 rapor edilmiş ve CTX-M1 olarak adlandırılmıştır. 1992 yılında da Almanya'da CTX-M2 rapor edilmiştir. CTX-M2, MEN-1 ile %84'lük bir aminoasit benzerliğine sahiptir(46). PER-1 enzimi ise Fransa'da, Türkiye'den (Ankara) Paris'e yeni dönen bir hastadan izole edilen *P. aeruginosae*'dan rapor edilmiştir(47). PER-1, Türk *Salmonella typhimurium* suşlarından izole edilmiştir ve genleri 4 farklı plazmidde lokalize olmuştur(48). Bu enzim TEM türevi β -laktamazlarla %35'lik aminoasit benzerliği göstermektedir. Daha sonra Almanya'da *E. coli*,

K. pneumonia, *Proteus mirabilis* ve *S. typhimurium* suşlarından PER-2 rapor edilmiş olup PER-1 ile %86'lık bir aminoasit benzerliği göstermektedir(49). 1994 yılında Japonya'da ise TOHO-1 izole edilmiştir ve bu enzimde TEM türevleri ile sadece %60'lık bir aminoasit benzerliği göstermektedir(50). VEB-1 ise Fransa'da Vietnam'lı bir hastadan izole edilmiş olup en yakın olduğu β -laktamaz olan PER-1 ile sadece %40'lık bir aminoasit benzerliği göstermektedir(42). TEM ve SHV kökenleri gibi bunlarda *Enterobacteriaceae* ailesindeki genetik değiş tokuş sonucu bütün dünyaya yayılmaktadır. Bu enzimlerin protein analizleri, TEM ve SHV kökenli enzimlerle karşılaştırıldığında hidroliz spektrumları benzerlik göstermekle beraber yapısal benzerlik göstermemektedir. TEM ve SHV kökenli olmayan GSBL leri dört grupta incelemek mümkündür(42).

1-MEN-1(CTX-M1) ve CTX-M2

2-PER-1 ve PER-2

3-TOHO-1

4-VEB-1

PER-1 haricindeki diğer enzimler hakkında bilgiler kısıtlıdır ve bu sebeple belirgin epidemiyolojik değerlendirmeler yoktur. Aynı şekilde, *Enterobacteriaceae*'lar içinde geniş spektrumlu olan oxasilinaz türevleri hakkında da raporlar çok azdır(51).

D grubunda bulunan plazmid kontrolündeki β -laktamazlar birçok bakteride bulunmaktadır, ancak enterik bakteriler ve *Pseudomonas* türlerinde nadirdir(39). Bu enzimler OXA-1' den OXA-21' e kadar isimlendirilmişlerdir. Bunlar içinde en sık gözlenen OXA-1, *E. coli*'lerin %1-10' unda bildirilmektedir (39).

1.5.3. İnhibitör Dirençli β -Laktamazlar

β -laktamaz inhibitör kombinasyonlara farklı mekanizmalar ile direnç geliştirebilmektedir. Bu mekanizmalar:

- 1-TEM enzimlerinin aşırı sentezlenmesi,
- 2-İnhibitörlere dirençli B, C veya D sınıfı enzim içeriği,
- 3-Klasik β -laktamazlar ile birlikte porin eksikliği olanlar.

Son yıllarda bunlara ilave olarak TEM enzimlerinin inhibitörlere dirençli mutantları tanımlanmıştır(25). Bu güne kadar bilinen 17 adet TEM kaynaklı inhibitör dirençli β -laktamaz enzimi (TEM-30, 41, 44, 45, 51, 59) mevcuttur(25, 57). Ayrıca TEM kaynaklı olmayan SHV-10 enzimi de inhibitör dirençli ve geniş spektrumlu bir β -laktamazdır. Bu inhibitör dirençli TEM β -laktamazlar (IRBLs) daha önce inhibitör dirençli TEM deriveleri (IRT) olarak bilinirdi (IRT...1-10 :TEM....30-39). Bunlar dar spektrumlu β -laktamazlar olan TEM-1 ve TEM-2'den türemişlerdir(25). Bush sınıflamasında 2br grubunda yer alan bu enzimler GSBL enzim aktivitesini gösteren enzimlerden farklı olarak 1-2 aminoasit değişikliğine sahiptir. İnhibitör dirençli β -laktamazlar artık klavulanik asit, sulbaktam ve tazobaktam gibi β -laktamaz inhibitörlerine hassas değildirler, ancak GSBL enzim aktiviteside içermemektedirler. Ancak klasik TEM enzimlerine göre dar spektrumlu sefalosporinlere karşı aktiviteleri daha azdır(24).

İnhibitör dirençli β -laktamazlar, 1989 yılında önce Fransa'da, ardından İspanya'da *E. coli*'den tanımlanmış olup daha sonra *K. pneumoniae* ve *P. mirabilis*'den tanımlanmıştır(56). Ayrıca yine bu enzimler kısa zaman önce hayvan orjinli *C. freundii* suşlarında da rapor edilmiştir. 280 aminoasitlik protein boyunca bu enzimler özellikle 69, 165, 182, 244, 275 ve 276'ncı pozisyonlarda mutasyona uğramışlardır(25, 57). Bu mutasyona uğramış aminoasitler, TEM orjinli GSBL'lerin içeriğinden farklıdır. Özellikle 69 ve 244'ncü pozisyonlar TEM orjinli β -laktamazların katalitik bölgelerine yakın

veya içindedir. Buda inhibitörlere direnci açıklamaktadır. Klinik pratikte bu yeni β -laktamazların yayılımı çok iyi bilinmektedir. Fransa'da 1993 yılında yapılan bir epidemiyolojik çalışma, *E. coli* suşlarının %5'inin böyle β -laktamazlara sahip olabileceğini göstermiştir(59).

1.5.4. İnhibitör Dirençli ve Geniş Spektrumlu β -Laktamazlar

Bu enzimler *E. coli* suşlarında tanımlanan plazmid kökenli inhibitör dirençli geniş spektrumlu β -laktamazlardır. 1997 yılında Fransa'da *E. coli* suşundan, TEM-15 ve TEM-33 β -laktamazlarına denk gelen mutasyonlu bir TEM-1 β -laktamaz kompleks mutanti tanımlanmıştır. Bu β -laktamaz, düşük düzeyde β -laktamaz inhibitörlerine ve yüksek düzeyde de geniş spektrumlu sefalosporinlere direnç gösterir. Yine 1997 yılında Yunanistan'da β -laktamaz inhibitörlerine direnç gösteren SHV türevi bir nesil tarif edilmiştir. SHV-10 adı verilen bu β -laktamaz geniş spektrumlu SHV-5 β -laktamazında meydana gelen bir mutasyonla (130'uncu pozisyonda serinden glisine değişim) oluşmuştur. Bu da düşük düzeyde β -laktamaz inhibitörlerine ve yüksek düzeyde de geniş spektrumlu sefalosporinlere direnç gösterir(57).

1.5.5. Karbapenamazlar

Karbapenem grubu ajanlara etkili β -laktamazlar genetik ve biyokimyasal olarak birbirinden farklı, çoğu yalnız karbapenemlere değil diğer β -laktam ajanlara da etkili enzimlerdir(61). Bu nedenle, sadece karbapenem grubu β -laktam ajanlara afinitesi diğer β -laktam antibiyotiklere kıyasla daha fazla olan metalloenzimler "karbapenemaz" olarak adlandırılmaktadır. Karbapenemlere etkili enzimler, moleküler yapı açısından sınıf A serin β -laktamazlar veya sınıf B metalloenzimler arasında yer almaktadır(7). Ayrıca sınıf C sefalosporinazların da karbapenem grubundaki ajanlara kısmen etkili

olabildiği ve bu enzimlerin aşırı üretildiği mutantlarda yüksek düzeyde imipenem direncine yol açabildiği bildirilmektedir(62, 61). Bu durum özellikle β -laktamazları indüklenabilir türlerde önem kazanmaktadır.

Karbapenemlere etkili β -laktamazlara, *Bacterioides* suşları, *Xsanthomonas maltophilia*, *Aeromonas hydrophila*, *Flavobacterium odoratum* ve *Bacillus cereus* gibi bazı bakterilerde oldukça sık rastlanmaktadır. *Enterobacter* türlerinde karbapenemlere karşı enzimatik direnç *Serratia marcescens*'in 4 suşunda ve *Enterobacter cloaca*'nın 2 suşunda bildirilmiştir(59).

Şimdiye kadar 4 karbapenemaz tanımlanmıştır. Bunlar Sme-1, Nmc-A, IMI-1, IMP-1 dir. İlk üç karbapenemaz klavulanik asit ile inhibe olan bir penisilinaz iken, IMP-1 B sınıfı bir metalloenzimdir. Plazmid kaynaklı IMP-1 hariç bu karbapenemazlar kromozomaldır(Grup A). Nmc-A geni, 1990 yılında Paris'de *E. cloaca*'dan izole edilmiştir(59). Bu gen herhangi bir 3. kuşak sefalosporini belirgin olarak hidrolize etmez. Aminoasit sırasının kararlılığı, TEM ve SHV türevleriyle sadece %50 aminoasit benzerliği gösteren ve daha çok MEN-1 ile bağlantılı yeni bir penisilinaz subgrubunu temsil ettiğini gösterir(63). 1986 yılında daha imipenem piyasaya girmeden California'da *E. cloaca*'dan saptanmış olan IMI-1, NmcA ile %95 aminoasit benzerliği gösterir(64). Aynı şekilde, Sme-1 1982 de İngilterede iki *S. marcescens* suşunda gösterilmiştir. Sme-1, NmcA veya IMI-1 ile benzer bir β -laktam hidrolitik profiline sahiptir. Ancak bu enzimlerle %70 lik bir aminoasit homolojisini paylaşır(65). Bunların tümü meropenemden daha dirençlidir. İmipenem için MIC değerleri 16–32 μ /ml iken meropenem için 0.12–12 μ /ml civarındadır(39). Bu enzimlerden başka, son yıllarda *Acinetobacter baumannii*'de saptanan iki enzim daha vardır. ARI-1 (*Acinetobacter* Resistant to Imipenem) ve ARI-2 olarak isimlendirilen bu enzimler, imipenem ve azlosilini hidroliz etmekte, ancak sefalosporinlere orta derecede direnç oluşturmaktadırlar. ARI-1 genlerinin bir plazmidde bulunduğu belirlenmiştir. Daha sonra Arjantin'de *Acinetobacter* imipeneme dirençli hastane suşlarında ARI-1 'e çok benzeyen bir enzim bulunmuş ve ARI-2 olarak isimlendirilmiştir(66).

IMP-1 karbapenemleri hem A sınıfı karbapenemazların yaptığı seviyeden çok daha yüksek bir seviyede hidroliz yapar, hemde aynı zamanda 3. kuşak sefalosporinleri de hidrolize eder. IMP-1 aktivitesi klavulanik asit tarafından inhibe edilmez, ama EDTA tarafından inhibe edilir. Bu IMP-1 enzimi, karbapenemler dahil bir çok β -laktam antibiyotiklere karşı etkilidir, ancak aztreonama duyarlıdır. Bu B sınıfı karbapenemaz, diğer bazı metalloenzimlerle örneğin; *B. fragilis*, *A. hidrofilia* ve *B. cereus* gibi bakterilerin metalloenzimleriyle homoloji gösterir(67). Bazı *Pseudomonas* suşları IMP-1 geni taşır(82). IMP-1, A sınıfı karbapenemazlardan daha büyük bir tehdittir, çünkü plazmid lokalizasyonlu olup direnç taşıyıcısı olduğu bilinen *Klebsiella* suşlarında bulunmuştur. Japonya'dan imipenem ve meropenemde dahil bütün β -laktam antibiyotiklere dirençli, plazmid kaynaklı β -laktamaz üreten 2 suş bildirilmiştir (*P.aeuroginosae* ve *B. fragilis*). Bu iki suşun β -laktamazları klavulanik asit ve diğer β -laktamaz inhibitörlerine dayanıklıdır(35, 68).

Grup A da yer alan karbapenemazlardan birkaç kriterle fenotipik olarak ayırt edilmektedirler(68).

1-Meropenem ve imipeneme eşit düzeyde yüksek direnç oluşturmaktadırlar,

2-EDTA ile inhibe olup klavulanik asitle olmamaktadırlar,

3-Monobaktamları hidroliz edememektedirler.

1.5.6. Plazmid Aracılı Sefalosporinazlar (Sefamisinazlar)

GSBL'lerle birlikte plazmid aracılı sefalosporinazların ortaya çıkışı 1980'li yılların sonlarına rastlar. Bunlar, kromozomal (*AmpC*) olarak yerleşmiş sefalosporinazlarla bağlantılıdır (Başlıca *C.freundii AmpC*). Bu grubun ilk enzimi olan MIR-1, ABD'de *K. pneumonia*'dan izole edilmiştir(69). Bu enzimler, aztreonam, oksiiiminocefalosporinler ve sefoksitine dirence aracılık ederler. Bunların aktiviteleri, GSBL'den farklı olarak, klavulanik asit,

sulbaktam veya tazobaktam (MOX-1 haricinde) ile inhibe olmazlar. Bu enzimler sefamisinlere, 3. kuşak sefalosporinlere ve aztreonama dirençli *K. pneumoniae* ve *E. coli* suşları tarafından yapısal olarak üretilmektedirler. Bunlar bazen yapısı nedeni ile sefamisinazlar olarak tanımlanırlar; fakat temel izoelektrik nokta (>8), β -laktam direnç paterni ve inhibitörler ile sinerji eksikliği (FEC-1 enzimi için olanlar dışında) göz önüne alındığında Grup C β -laktamazlar ile benzer özellikler gösterirler(31). Enterobacter suşlarından, Serratia suşlarından, *C. freundii* veya *P. aeruginosa*'dan elde edilen AmpC sefalosporinazlardan farklı olarak dışarı atılırlar. Bu enzimler üç grupta sınıflandırılabilir. İlk grup, Japonya'da *K. pneumoniae*'dan izole edilen MOX-1 ve Arjantin'de yine *K. pneumoniae*'dan izole edilen FOX-1 ile temsil edilir(70, 71). Bunlar arasında %66'lık bir aminoasit benzerliği mevcut olup en çok *P.aeruginosa*'dan elde edilen AmpC sefalosporinazlar ile %40'lık bir aminoasit benzerliği gösterirler. İkinci grup ise, *K. pneumoniae*'dan izole edilen CMY-1 (Güney Korede), CMY-2 (Yunanistanda), LAT-1 (Yunanistanda) ve *E. coli* suşlarından izole edilen BIL-1 (Pakistanda) ile temsil edilirler(72, 73, 74). Bu enzimler birbirleriyle % 94 ve *C.freundii*'den elde edilen AmpC ile % 98 lik aminoasit benzerliği gösterirler. Üçüncü grup ise, diğer plazmid aracılı sefalosporinazlarla uzaktan ilişkili MIR-1 ile temsil edilir(39)

ABD' de 20 değişik hastanede 1995 yılında yapılan bir çalışmada, AmpC tipi plazmid kaynaklı enzimlerin görülme sıklığının, TEM tipi GSBL lardan çok olduğu gösterilmiştir(42). Yunanistan'da yapılan başka bir çalışmada da yoğun bakım ünitelerinde yatan hastalardan elde edilen bakterilerde LAT-1 enziminde artış gözlenmiştir(75). Bu enzimlerin tespiti için rutinde uygulanması çok zor olan genetik transfer deneyleri gerekir. Ayrıca doğal olarak üretilen AmpC *Enterobacteriaceae* (Enterobacter suşları, Serratia suşları, *C. freundii* ve *Providencia stuartii*), aynı plazmidlerle taşınan diğer antibiyotik direnç genleri ile ko-transferi haricinde, diğer kromozomal olarak yerleşmiş enzimlerden ayırt edilememektedir. Bu enzimler *Enterobacteriaceae*'lar haricinde diğer bakterilerde gösterilememiştir. Sefamisinlere daha fazla direnç oluşturmaları ve seftazidim direncinin

klavulanik asit ile giderilememesi ile geniş spektrumlu β -laktamazlardan ayırt edilmektedir(39).

1.6. GSBL' lerin Genel Özellikleri

GSBL'ler başta seftazidim olmak üzere 3.kuşak sefalosporinlere ve aztreonama karşı direnç gelişmesine neden olurlar. Ayrıca bu enzimleri taşıyan bakteriler piperasilin ve mezlosilin gibi geniş spektrumlu penisilinlere karşı da direnç gösterirler. GSBL taşıyan bakteriler çoğu zaman değişik mekanizmalarla β -laktam dışındaki antibiyotik gruplarına karşı (aminoglikozidler, kinolonlar gibi) da direnç geliştirebilirler. Bu bakterilerde karbapenem türevlerine (imipenem ve meropenem) karşı nadiren direnç gösterilmesine karşın, genellikle duyarlı kabul edilirler(34).

1.6.1. GSBL Sentezleyen Bakterilerin Klinikte Yol Açtığı Sorunlar

GSBL taşıyan bakteriler genellikle altta yatan ciddi hastalığı olan ve yoğun bakımda yatan hastalarda epidemilere neden olurlar. Bu tipte enzim taşıyan bakterilerin sıklığı genellikle o yoğun bakım ünitesinde kullanılan geniş spektrumlu penisilin veya sefalosporinlerin kullanımı ile doğru orantılıdır. GSBL taşıyan bakterilerin yoğun bakımda yatan hastalarda geliştirdikleri enfeksiyonlarda mortalite %30–50 arasında değişir. Uygunsuz antibiyotiklerin kullanımı halinde bu oran daha da yükselir(76).

1.6.2. GSBL Varlığına İşaret Eden Laboratuar Bulguları

Klinik mikrobiyoloji laboratuarlarında bir gram negatif bakterinin (özellikle *K. pneumoniae* ve *E. coli*) antibiyotik duyarlılığına bakılarak GSBL taşıyıp taşımadığı hakkında bir fikir sahibi olunabilir. Buna göre, GSBL

taşıyan bakteriler aztreonam, 3.kuşak sefalosporinlere ve geniş spektrumlu penisilinlere karşı direnç gösterirken, sefoksitin , β -laktamaz inhibitörleri ve imipeneme karşı duyarlılıklarını genellikle sürdürürler(76).

1.6.3. Laboratuarda GSBL Taşıyan Suşları Saptamada Karşılaşılan Sorunlar

GSBL taşıyan bakterilerin çoğu aztreonam ve seftazidime karşı yüksek oranda direnç gösterirken, bu bakterilerin sefotaksime direnci daha düşük olabilir. GSBL taşımayan *E. coli* ve *Klebsiella* suşlarının sefotaksim MIC değerleri 0,2 μ gr/ml den yüksek değildir. Buna karşı örneğin TEM-26 gibi bir GSBL taşıyan suşun sefotaksim MIC değeri 4 μ gr/ml olabilir. Eğer kullanılan eşik değeri (breakpoint) 8 μ gr/ml ise ve sefotaksim o laboratuarda 3.kuşak sefalosporinleri temsilen kullanılıyorsa, bu suş yanlışlıkla 3.kuşak sefalosporinlere duyarlı olarak bildirilebilir. Halbuki bu bakteri eğer test edilirse aztreonam ve seftazidime karşı dirençli bulunacaktır. Aynı bakteri 10^7 gibi yüksek inokulumda test edildiğinde sefotaksime direnç saptanabilecektir. Genellikle klinikte enfeksiyon bölgesinde bulunan bakteri sayısı 10^7 ve daha yukarı yoğunlukta olduğundan, sefotaksim duyarlı gibi görünse de klinikte tedavi başarısızlığına neden olacaktır(34).

1.6.4. GSBL Taşıyan Bakterilerle Kolonizasyon ve Enfeksiyon Gelişimine Yol Açan Risk Faktörleri

GSBL taşıyan bakterilerle kolonizasyon ve enfeksiyon gelişimi kimi hasta grublarında belirgin şekilde sık gözlenir ve bu hasta grupları riskli gruplar olarak değerlendirilebilir(31). Bunlar;

1-Özellikle nütropenik hastalar gibi konakçı faktörleri ileri derecede bozulmuş hastalar,

2-Daha önceden β -laktam veya geniş spektrumlu başka antibiyotiklerle tedavi edilmiş veya profilaktik olarak antibiyotik almış hastalar,

3-Uzun süredir hastanede, özellikle yoğun bakımda yatan hastalar,

4-Çeşitli invaziv işlemlere veya cerrahi müdahalelere maruz kalmış hastalar olarak sıralanabilirler.

1.6.5. GSBL Taşıyan Bakterilerin Tedavisinde Kullanılacak Antibiyotikler

Pek çok ve çeşitli β -laktam antibiyotik olmasına rağmen, ancak bunlardan birkaçı GSBL taşıyan bakterilerle olan enfeksiyonların tedavisinde kullanılmaktadır. Sefoksitin, sefmetazol, sefotetan ve latomoksef gibi sefamisinler, TEM ve SHV kökenli GSBL üreten Klebsiella'ların tedavisinde başarı ile kullanılmaktadır. Sefotetan ve latomoksef invitro olarak en etkili antibiyotiklerdir(31).

β -laktamaz kökenli direncin önüne geçmek için yaklaşımlardan birisi, β -laktamaza dayanıklı olmayan bir antibiyotikle bir β -laktamaz inhibitörünü kombine etmektir. Böyle inhibitörler β -laktamazı dönüşümsüz (irreversibl) olarak inaktive ettiklerinden birlikte oldukları antibiyotiğin hidrolize olmasını önleyebilmektedirler. Böylece antibiyotiğe dirençli olan birçok suş bu antibiyotik –inhibitör kombinasyonuna duyarlı hale gelmektedir. Günümüzde amoksisilin-klavulanik asit, sefoperazon-sulbaktam, ampisilin-sulbaktam, tikarsilin-klavulanikasit kombinasyonları bulunmaktadır. TEM tipi enzimler için sefoperazon-sulbaktam en iyi kombinasyondur. Bütün oral sefalosporinlerin aktivitesi GSBL üreten suşlara karşı gittikçe azalmaktadır(31).

Mevcut β -laktam antibiyotikler içinde en güçlü grup karbapenemlerdir. GSBL üreten Enterobacter'ilere karşı meropenem en etkili ajandır. Karbapenemler, TEM ve SHV kökenli β -laktamazların tümüne yüksek bir etki göstermektedirler. Enterobacter'ilerde karbapenemlere direnç kromozomal

β -laktamaz sentezinin artması ve hücre geçirgenliğinin değişmesi ile olmaktadır. GSBL üreten *K. pneumoniae* mutantları, karbapenem direncinin oluşumu için bir riskdir(31).

1.7. β -Laktamaz İnhibitörlü Penisilinler(BLIP)'e Karşı Bakterilerde Direnç Gelişimi

β -laktamaz inhibitörleri, indüklenabilir kromozomal β -laktamaz taşıyan veya bu enzimleri aşırı miktarda sentezleyen *Enterobacter*, *Citrobacter*, *Serratia*, *Pseudomonas* gibi bakterilere karşı etkisizdir. Bu türden bakteriler nadiren de olsa GSBL taşıyabilirler. Bu tip bakterilerin oluşturduğu enfeksiyonların tedavisinde BLIP kullanılmaz(7).

Inhibitörle β -laktamaz arasındaki reaksiyon yarışmalı (kompetitif) bir olay olup, fazla miktarda enzim sentezlenmesi halinde ortamda yetersiz miktarda kalan β -laktamaz inhibitörü bütün enzim moleküllerini inhibe etmez. Özellikle aşırı üretim tipinde enzim sentezleyen bakterilerin neden olduğu enfeksiyonların tedavisinde BLIP başarısız kalır. Bu tip bakterilerin bazılarında dış membran permabilitesinde azalma sonucu BLIP direnci daha belirgin hale gelir. GSBL'ye ek olarak başka bir enzim (örneğin; TEM-1 gibi) de sentezleyen bakteriler BLIP'e karşı direnç gösterirler. Bu bakteriler, karbapenem türevlerine karşı genellikle duyarlı olup bu bakterilerin neden olduğu enfeksiyonların tedavisinde karbapenemler rahatlıkla kullanılabilirler(7, 31).

GEREÇ VE YÖNTEM

Bu çalışmada; 2005-2006 tarihleri arasında İstanbul Şişli Etfal Eğitim ve Araştırma Hastanesi Mikrobiyoloji laboratuvarında çeşitli klinik örneklerden izole edilen 960 *E. coli* ve 300 *Klebsiella spp.* suşları kullanılmıştır. Çalışma şu aşamalarda yürütülmüştür.

1-*Klebsiella spp.* ve *E. coli* suşlarının çeşitli örneklerden izolasyonu, identifikasyonu ve saklanması,

2-İzole edilen *Klebsiella spp.* ve *E. coli* suşlarında disk difüzyon yöntemi ile β - laktam grubu çeşitli antibiyotiklere direncin araştırılması,

3-GSBL varlığının ÇDST ve fenotipik doğrulama testi ile gösterilmesi. Çalışmanın bu aşaması Kırıkkale Üniversitesi Tıp Fakültesi Mikrobiyoloji ABD'da yapılmıştır.

2.1. Bakteri İzolasyon ve İdentifikasyonu

Alınan idrar örnekleri Clayd ve Mc Conkey besiyerine, yara örnekleri kanlı agar (%5-7 koyun kanı ilaveli), çikolatalı ve Mc Conkey besiyerine ekildi. Burada saf olarak üreyen bakterilere;

1-%3 KOH'le bakılarak gram negatif oldukları doğrulandı.

2-Gram boyama yapıldı.

3-Katalaz ve oksidaz testleri yapıldı.

4-Katalaz pozitif ve oksidaz negatif olanlar için biyoşimik identifikasyon testleri uygulandı

2.1.1. İndol Testi

Triptofandan indol oluşturma yeteneğindeki bakterileri ayırmada kullanıldı. Bakteri kùltüründeki indol, p-dimethyloamino benzaldehyde ayıracı ile araştırıldı. Mikroorganizma indol buyyonuna inokùle edilip, 35 °C de 18-24 saat inkùbe edildi. Daha sonra 5 damla Kovacs ayıracı eklenip, üstteki alkol tabakasında kırmızı renk oluşumu gözlendi. Halka şeklindeki kırmızılık pozitif indol testi olarak yorumlandı.

2.1.2. Methyl Red – Voges Proskauer (Mr-Vp) Testi

Glukozun fermentasyonu ile, asetil metil karbinol ve kuvvetli asit oluşturma yeteneğindeki bakterileri ayırmada kullanıldı. Mikroorganizma 2 tane MR-VP buyyonuna inokùle edilip, 35 °C de 18-24 saat inkùbe edildi. İnkübasyon sonunda tüplerden birisine 5 damla MR ayıracı eklenip kırmızı renk oluşumu gözlendi. Dięerine ise 0.6 ml VP-1 ve 0.2 ml VP-2 ayıracı eklenip 1 saate kadar kırmızı renk oluşumu gözlendi. Her iki test içinde kırmızı renk oluşumu pozitif olarak değerlendirildi.

2.1.3. Sitrat Testi

Sitrati karbon kaynağı olarak kullanarak pirüvat ve karbondioksidede dönüştürme yeteneğindeki bakterileri ayırmada kullanıldı. Mikroorganizma sitrat besiyerinin yüzeyine inokùle edilip, 35 °C de 24-48 saat inkùbe edildi. Ortamın pH'sının yükselmesi sonucu bromtimol mavisi indikatörünün yeşilden maviye renk değiştirmesi pozitif sitrat testi olarak değerlendirildi.

2.1.4. TSİ Besiyerine Ekim

Glukoz ve laktoz gibi karbonhidratları fermente edebilme ile H₂S ve gaz oluşturabilme yeteneğindeki gram negatif çomakları belirlemede kullanıldı. Test edilecek mikroorganizma besiyerinin yüzeyine ve dip kısmına ekildikten sonra, 35 °C de 24–48 saat inkübe edildi. Besiyeri, yüzeydeki ve dipteki renk değişiklikleri, gaz çatlakları ve H₂S'in oluşturduğu siyahlaşma yönünden incelenip şu şekilde yorumlandı:

- Alkali yüzey, asit dip; sadece glikoz fermente edilmiştir.
- Asit yüzey , asit dip; glukoz + laktoz fermente edilmiştir.
- Çatlak ve kabarcık oluşumu; gaz pozitif.
- Siyahlaşma olması; H₂S pozitif.

2.1.5. Üreaz Testi

Üreyi amonyağa hidroliz edebilme yeteneğindeki bakterilerin ayrılmasında kullanıldı. Test edilecek mikroorganizma besiyerinin yüzeyine inoküle edilip, 35 °C de 24-48 saat inkübe edildi ve renk değişikliği yönünden kontrol edildi. Besiyerinin kırmızı menekşeye renk değişimi pozitif üreaz testi olarak yorumlandı.

2.1.6. Hareket Testi

Bakteri hareketliliğinin belirlenmesinde kullanıldı. Test edilecek mikroorganizma iğne özeye alınarak hareket besiyerinin sonuna kadar çizgi şeklinde inoküle edildi, 35 °C de 24-48 saat inkübe edilip, günlük olarak inokülasyon çizgisi etrafındaki kırmızı renkteki bakteriyel üreme alanları

gözlendi. İnokülasyon çizgisi etrafında dallanan üreme olması durumunda hareket testi pozitif olarak yorumlandı.

2.1.7. Katalaz Testi

Katalaz enzimi oluşturabilme yeteneğindeki bakterileri ayırmada kullanıldı. Temiz bir lama bakteri kolonisi alınıp, üzerine %3'lük hidrojen peroksit damlatıldı, gaz kabarcıklarının oluşumu pozitif katalaz testi olarak yorumlandı.

2.1.8. Oksidaz Testi

Sitokrom oksidaz enzimine sahip bakterilerin ayırımında kullanıldı. Steril petri kutusunun içindeki filtre kutusunun içine %1'lik tetramethyl-p-phenilenediamine dihydrochloride dökülüp, tahta çubukla alınan koloni filtre kağıdına sürüldü. 10 saniye içinde mavi, siyah ya da mor renk oluşumu pozitif oksidaz testi olarak yorumlandı.

H₂S, indol, metil kırmızısı ve oksidaz testi negatif, katalaz, laktoz, sitrat ve Voges Proskauer testi pozitif, üreyi parçalayan, hareketsiz bakteriler *K. pneumoniae*; H₂S, metil kırmızısı ve oksidaz testi negatif, indol, katalaz, laktoz, sitrat ve Voges Proskauer testi pozitif, üreyi parçalayan, hareketsiz bakteriler *K. oxytoca*; laktoz, katalaz indol, metil kırmızısı testi pozitif, sitrat, H₂S, oksidaz testi, Voges Proskauer testi negatif üreyi parçalamayan, hareketsiz bakteriler *E. coli* olarak kabul edildi.

2.2. Disk Diffüzyon Testi

2.2.1. Disk Diffüzyon Testinin Yapılışı

1-Agar kültüründen 4-5 koloni alındı ve 4-5 ml serum fizyolojik içerisine aktarıldı.

2-Serum fizyolojik, 35-37 °C'de 4-6 saat inkübe edildi.

3-Bulanıklığı Mc Farland 0.5 standardına eşdeğer olacak şekilde ayarlandıktan sonra ilk 15 dakika içerisinde süspansiyon içine eküvyon batırılıp tüpün kenarında eküvyonun sıkılması ile fazla sıvı bırakıldı.

4-Eküvyon 4 mm kalınlığında dökülmüş Mueller-Hinton agarın tüm yüzeyine sürülerek inokulum yayıldı. Diskler konmadan önce nemin absorbe olması için 3-5 dakika beklendi(33).

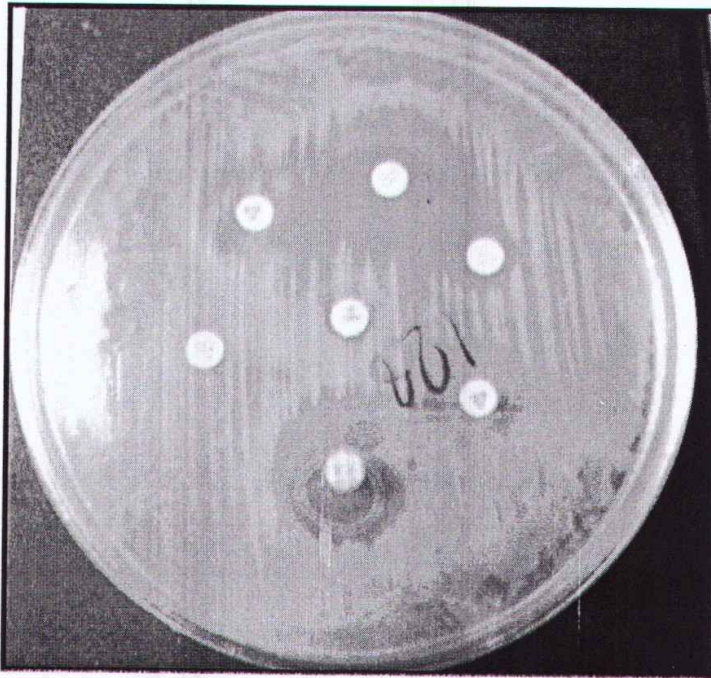
2.2.2. Disklerin Yerleştirilmesi

Diskler dispenser ile yerleştirildi. Disklerin yerleştirilmesinden sonra plaklar ters çevrilerek 35 °C lik etüve kaldırıldı. Bir gecelik inkübasyondan sonra plaklardaki inhibisyon zon çapları cetvel ile ölçüldü. Zon çapı ölçülürken hiçbir üremenin görülmediği kısım çapın kenarı olarak alındı. Zon kenarında çıplak gözle güçlükçe seçilen ince üremeler dikkate alınmadı(33).

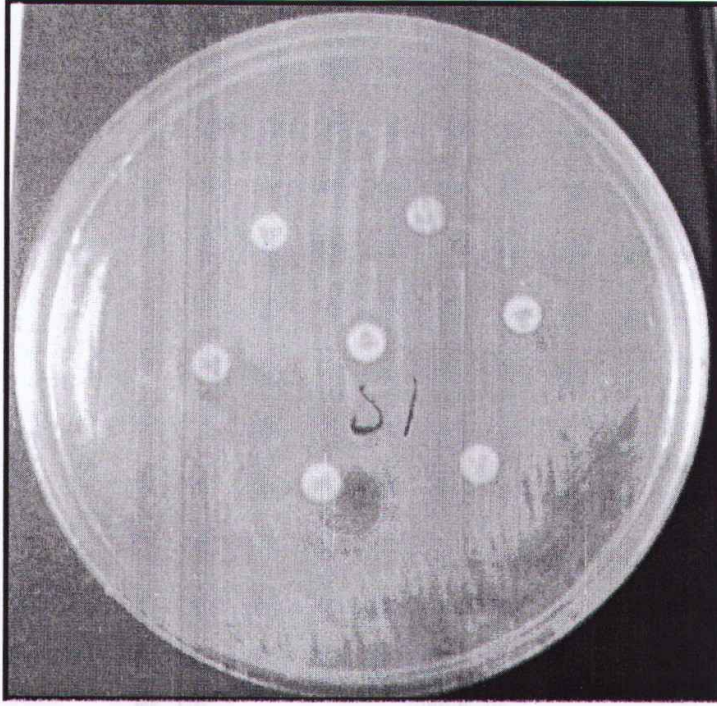
2.3. Çift Disk Sinerji Testi

Deneyin tüm aşamalarında disk difüzyon yönteminin standartları sağlandı. Suşların yayıldığı Mueller-Hinton agar yüzeyine diskler merkezden uzaklığı 25 mm olacak şekilde ayarlandı. Buna göre ortaya amoksisilin+ klavulanik asit diski konuldu. Etrafına her birinin amoksisilin klavulanik asid diskine uzaklığı 25 mm olmak üzere sırasıyla seftazidim (CAZ), sefotaksim

(CTX), seftriakson(CRO) ve aztreonam(ATM) yerleştirildi.18-20 saat 35 °C de inkübe edilen besiyerleri incelendiğinde aztreonam, seftazidim ve sefotaksime ait inhibisyon zonlarının klavulanik asit diski karşısında bozularak genişlemesi yada iki inhibisyon zonu arasındaki bakteri üreyen alanda üreme olmayan bir bölgenin görülmesi, diğeri bir deyimle klavulanik asidin antibiyotiği güçlendirmesi durumunda GSBL olduğuna karar verildi. (Şekil-1-2)(33). GSBL pozitif olan tüm suşlara fenotipik doğrulama testi uygulandı. Seftazidim ve sefotaksim antibiyotikleri klavulanik asit kobinasyonları ile birlikte test edildi. Seftazidim zon çapı ile seftazidim klavulanik asit zon çapı arasında, sefotaksim zon çapı ile sefotaksim klavulanik asit zon çapı arasında 5 mm veya daha fazla fark görülmesi ile o suşun GSBL ürettiğine karar verildi (33).



Şekil -1 Çift Disk Sinerji Testi



Şekil-2 Çift Disk Sinerji Testi.

2.4. Yöntemlerde Kullanılan Antibiyotikler

2.4.1. Disk Diffüzyon Testinde Kullanılan Antibiyotikler

- 1-Seftazidim
- 2-Seftriakson
- 3-Sefoksitin
- 4-Sefaperazon- sülbaktam
- 5-Imipenem
- 6-Meropenem
- 7-Amoksisilin -klavulanik asit

- 8-Sefotaksim
- 9-Kloramfenikol
- 10-Aztreonam
- 11-Trimetoprim- sülfametaksizol
- 12-Amikasin
- 13-Netilmisin
- 15-Sefiksim

2.4.2. Çift Disk Sinerji Testinde Kullanılan Antibiyotikler

- 1-Seftazidim
- 2-Seftriakson
- 3-Sefotaksim
- 4-Aztreonam
- 5-Amoksisilin- klavulanik asit

ÇDST'nde duyarlılık zon çapları NCCLS'ye göre Seftazidim >22 mm, Aztreonam >27 mm, Sefotaksim >27 mm, Seftriakson >25 mm esas alınmıştır(77).

2.4.3. Fenotipik Doğrulama Testinde Kullanılan Antibiyotikler

- 1-Seftazidim
- 2-Seftazidim-klavulanik asit
- 3-Sefotaksim
- 4-Sefotaksim-klavulanik asit
- 5-Amoksisilin- klavulanik asit

Sefotaksim, sefotaksim-klavulanik asit (30/10 μ g) ile seftazidim ise seftazidim-klavulanik asit (30/10 μ g) ile birlikte test edilmiştir. Bir gece 37°C'de inkübasyondan sonra, ilacın zon çapının klavulanik asit ile test edildiğinde tek başına test edildiğine göre ≥ 5 mm artış göstermesi GSBL olarak değerlendirilmiştir(77). (Çalışmamızda Oxoid antibiyotik diskleri kullanılmıştır).

BULGULAR

Toplam 1300 suş çalışmaya alınmış olup bunların 960'ı *E. coli* ve 300'ü *Klebsiella spp.*'dir. *E. coli* suşlarının 162(%16,8)'si ve *Klebsiella spp.* suşlarının 66(%22)'si GSBL pozitif bulunmuştur. *Klebsiella spp.* suşlarından 54(%18)'ü *K. pneumoniae*, 12(%4)'si *K. oxytoca* olarak tanımlanmıştır. GSBL pozitif olduğu tespit edilen toplam 228 suşa ait özellikler tablo 4'de belirtilmiştir (şekil 3).

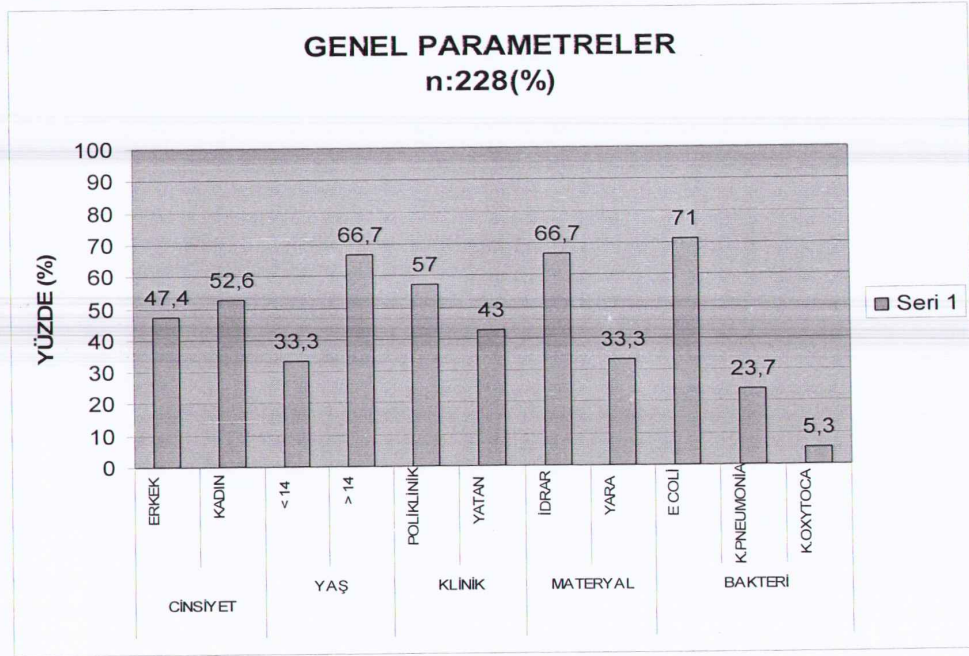
960 *E. coli* suşunun 720'si idrardan, 240'ı yara materyalinden, 300 *Klebsiella spp.* suşunun 228'i idrardan 72'si yara materyalinden izole edilmiştir.

Tablo-4 GSBL Pozitif Suşların Kullanılan Parametrelere Göre Dağılımı

GENEL PARAMETRELER n:228(%)										
CİNSİYET		YAŞ		KLİNİK		MATERYAL		BAKTERİ		
Erkek	Kadın	< 14	≥ 14	Poliklinik	Yatan	İdrar	Yara	<i>E. coli</i>	<i>K.pneumonia</i>	<i>K.oxytoca</i>
108 (47,4)	120 (52,6)	76 (33,3)	152(66,7)	130 (57)	98(43)	152(66,7)	76 (33,3)	162(71)	54 (23,7)	12 (5,3)

Antibiyotik direnç oranlarının belirlenmesi için yapılan çalışmada *E. coli*, *K.pneumoniae* ve *K. oxytoca* suşlarının tümü seftazidim, seftoksım, aztreonam, seftriakson ve amoksisilin- klavulanik asite dirençli bulunmuştur. Sefoksitin diskine, *E. coli* suşlarında %58.6, *K.pneumoniae* suşlarında %48.1, *K. oxytoca* suşlarında %41.7 oranında direnç tespit edilmiştir. Karbapenemlere karşı her üç bakteride de direnç saptanmamıştır. GSBL pozitif suşlarda amikasin direnci yara materyallerinde (%14,5) idrar materyallerine (%5,9) göre anlamlı oranda yüksek bulunmuştur (p <0,03). Bakteriler arasında amikasin direnci açısından anlamlı bir farklılık görülmemiştir(Tablo-5)(Şekil-4).

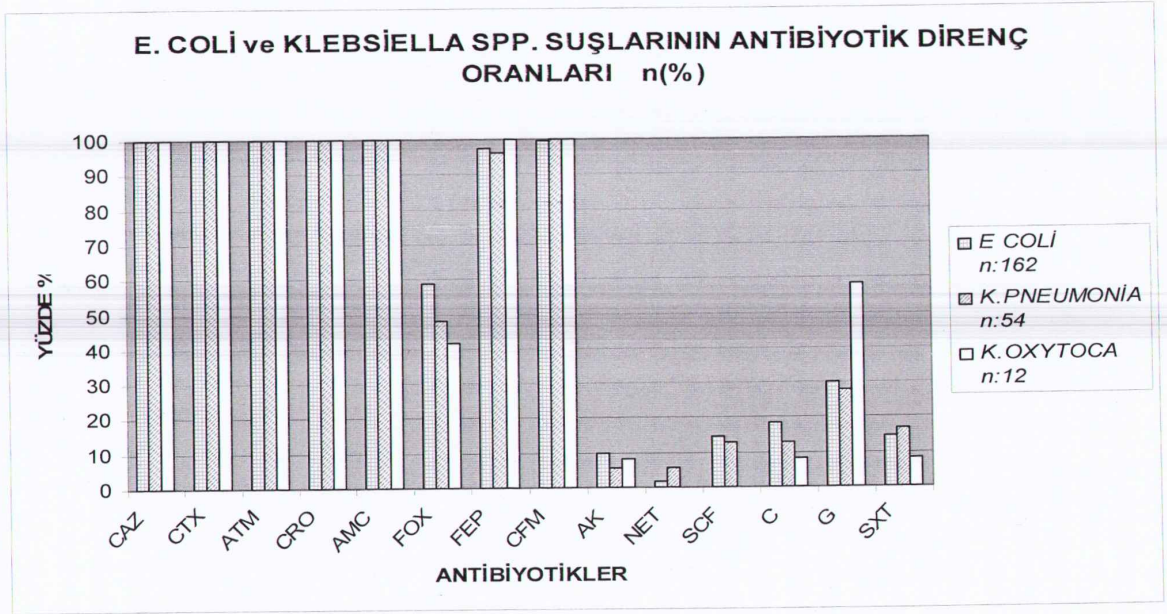
Şekil-3 GSBL Pozitif Suşların Kullanılan Parametrelere Göre Dağılım Yüzdesi



Tablo-5 GSBL pozitif suşlarda antibiyotik direnç oranlarının çeşitli parametrelere göre değerlendirilmesi.

		ANTİBİYOTİK DİRENÇ ORANLARI n (%)															
		CAZ	CTX	ATM	CRO	AMC	FOX	FEP	CFM	IPM	MEM	AK	NET	SCF	C	G	SXT
CİNSİYET	ERKEK n:108	108 (100)	108 (100)	108 (100)	108 (100)	108 (100)	64 (59,3)	104 (96,3)	108 (100)	0	0	8 (7,4)	3 (2,8)	14 (13)	17 (15,8)	35 (32,4)	19 (17,6)
	KADIN n:120	120 (100)	120 (100)	120 (100)	120 (100)	120 (100)	62 (51,7)	118 (98,4)	119 (99,2)	0	0	12 (10)	3 (2,5)	17 (14,2)	21 (17,5)	36 (30)	15 (12,5)
YAŞ	< 14 n:76	76 (100)	76 (100)	76 (100)	76 (100)	76 (100)	41 (53,9)	73 (96,1)	76 (100)	0	0	9 (11,8)	3 (3,9)	14 (18,4)	16 (21,1)	27 (35,5)	11(14,5)
	> 14 n:152	152 (100)	152 (100)	152 (100)	152 (100)	152 (100)	85 (55,9)	149 (98)	151 (99,3)	0	0	11 (7,2)	3 (2)	17 (11,2)	22 (14,5)	44 (28,9)	23 (15,1)
KLİNİK	POLİKLİNİK n:130	130 (100)	130 (100)	130 (100)	130 (100)	130 (100)	76 (58,5)	126 (96,9)	130 (100)	0	0	10 (7,7)	3 (2,3)	14 (10,8)	17 (13,1)	41 (31,5)	20 (15,4)
	YATAN n:98	98 (100)	98 (100)	98 (100)	98 (100)	98 (100)	50 (51)	96 (98)	97 (99)	0	0	10 (10,2)	3 (3,1)	17 (17,3)	21 (21,4)	30 (30,)	14 (14,3)
MATERYAL	IDRAR n:152	152 (100)	152 (100)	152 (100)	152 (100)	152 (100)	86 (56,6)	148 (97,4)	151 (99,3)	0	0	9 (5,9)	3 (2,0)	22 (14,5)	20 (13,2)	51 (33,6)	25 (16,4)
	YARA n:76	76 (100)	76 (100)	76 (100)	76 (100)	76 (100)	40(52,5)	74 (97,4)	76 (100)	0	0	11 (14,5)	3 (3,9)	9 (11,8)	18 (23,7)	20 (26,3)	9 (11,8)
BAKTERİ	E COLİ n:162	162 (100)	162 (100)	162 (100)	162 (100)	162 (100)	95 (58,6)	158 (97,5)	161 (99,4)	0	0	16 (9,9)	3 (1,9)	24 (14,8)	30 (18,5)	49 (30,2)	24 (14,8)
	K.PNEUMONİA n:54	54 (100)	54 (100)	54 (100)	54 (100)	54 (100)	26 (48,1)	52 (96,3)	54 (100)	0	0	3 (5,6)	3 (5,6)	7 (13)	7 (13)	15 (27,8)	9 (16,7)
	K.OXYTOCA n:12	12 (100)	12 (100)	12 (100)	12 (100)	12 (100)	5 (41,7)	12 (100)	12 (100)	0	0	1 (8,3)	0	0	1 (8,3)	7 (58,3)	1 (8,3)

Şekil -4 E. coli ve Klebsiella Spp. Suşlarının Antibiyotik Direnç Oranları



TARTIŞMA

Enterobacteriaceae ailesindeki birçok bakteri cinsinin GSBL oluşturduğu, en sık GSBL üreten türün *K. pneumoniae* olduğu saptanmıştır. Bunun nedeni kesin olarak belirlenememiştir. Bazı yazarlar bu bakteri türünde spontan mutasyonların daha sık olarak gerçekleştiği fikrini öne sürmüşlerdir(34). Bugüne kadar GSBL saptanan bakterilerin %80'den fazlasını *K. pneumoniae* suşları oluşturmaktadır(41). Ülkemizde ve yurt dışında yapılan çeşitli araştırmalarda *K. pneumoniae* suşlarında GSBL üretme sıklığı yıldan yıla artış göstermekte, bu oran %0.74 ile %94 arasında değişmektedir(79,80,81).

Yoğun bakım servisinde yatan, yeni cerrahi girişim geçirmiş, invaziv girişim veya kateter uygulanmış ve geniş spektrumlu β -laktam antibiyotik kullanan hastalardan izole edilen *E. coli* ve *Klebsiella* suşlarında GSBL üretme sıklığı daha fazladır(76). GSBL üreten *E. coli* ve *Klebsiella* suşlarında β -laktam antibiyotiklere karşı direnci doğru biçimde ortaya koymada disk difüzyon yönteminin yanında minimum inhibitör konsantrasyonu (MIC) saptamaya yarayan yöntemlerde yeterli olmamaktadır. Bu nedenle yukarıda sözü edilen hasta gruplarından izole edilen ve β -laktam antibiyotiklere orta derecede duyarlı bulunan *E. coli* ve *Klebsiella* suşlarının, GSBL üreten suşlar olabileceği ve gerçekte dirençli olabilecekleri göz önünde bulundurulmalıdır. Bu yüzden 1997 yılında NCCLS önerilerinde değişiklikler olmuştur. Bu önerilerde, genişletilmiş spektrumlu β -laktam antibiyotiklerin MIC değerlerinin 2 μ gr/ml'ye eşit ve daha yüksek olması veya inhibisyon zon çaplarının aztreonam için 28 mm; seftazidim için 23 mm; sefotaksim için 28 mm seftriakson için 26 mm'den dar olmasının GSBL üretimi için uyarıcı olması gerektiği bildirilmektedir(82, 77).

GSBL üretimi, standart inokulumdan daha yoğun inokulumların kullanıldığı dilüsyon yöntemi, ÇDST ve üç boyutlu yöntem ile tespit edilerek saptanabilmektedir. Bunlardan en çok kullanılanı ÇDST'dir. Bazı yazarlar çok düşük düzeylerde üretilen GSBL'lerin bile bu yöntem ile belirlenebildiğini ve

bu nedenle önerilebilir bir yöntem olduğunu savunmuşlardır(83). Bir çalışmada disk difüzyonla geniş spektrumlu sefalosporinlere duyarlı olarak tanımlanan bakterilerin yaklaşık yarısının ÇDST ile GSBL ürettiği gösterilmiştir(83). Ancak ÇDST'nin güvenilirliğini azaltan çeşitli faktörler bildirilmiştir. Örneğin bazı suşlar tarafından yüksek düzeyde oluşturulan sefalosporinazlar sinerjik etkinin görülmesini önleyebilmektedir. Diskler arasındaki uzaklığında deneyin sonucunu etkilediğini, bazen GSBL oluşturan suşlarla yapılan ve diskler arasındaki uzaklığın 30 mm olarak ayarlandığı deneylerde yanlış negatif sonuçlar elde edildiği bildirilmektedir. Özellikle indüklenebilir kromozomal AmpC β -laktamazını yüksek düzeyde sentezleyen (deprese mutant) *Enterobacteriaceae* suşlarında, inhibisyon zonu oluşmaması veya dar bir inhibisyon zonu oluşması nedeniyle sinerji testi negatif sonuç verebilmektedir. Böyle durumlarda diskler arası mesafenin 20 mm tutulması veya kromozomal β -laktamazlardan çok az etkilenen sefepim veya sefpirom disklerinin kullanılması ile deneyin tekrarlanması önerilmektedir(84). Ayrıca klavulanik asit diskinde meydana gelebilecek potens kaybının da dikkate alınması gerektiği belirtilmektedir. Bir çalışmada ambalajı yedi gün veya daha kısa süre önce açılmış disklerle doğru sonuç elde edilmesine karşın, iki hafta dan daha önce kullanılmaya başlanmış disklerin hatalı sonuç verdiği saptanmıştır(11). NCCLS GSBL üretiminin fenotipik doğrulama testi ile konfirme edilmesinin daha doğru bir yaklaşım olacağını belirtmektedir(77). Biz çalışmamızda ÇDST uygularken disk merkezleri arasındaki mesafeyi 25 mm olarak belirledik GSBL pozitifliğini ÇDST'ni fenotipik doğrulama testi ile konfirme ettik.

Fransa'da hastanelerden izole edilen suşlarda %30–40, hastane dışı suşlarda %6 oranında GSBL üretimi saptanmıştır(83). ABD'de genel olarak *Klebsiella*'ların %8'i GSBL oluşturmaktadır(26)..

Çeşitli birimler arasında farklılıklar bulunsa bile, yoğun bakım ünitelerinden izole edilen *K. pneumoniae* suşlarında Portekiz'de % 49, Bekçika'da % 31, Fransa'da % 24, İtalya'da % 17, Hollanda'da % 16, Almanya'da % 9, İspanya'da % 1 olan GSBL oluşturma oranı ülkemizde ise %59 gibi çok daha yüksek bir orana erişmektedir(85). Liu ve ark. İngiltere'de

1992 yılında yaptıkları bir çalışmada 70 *K. pneumoniae* suşu arasında GSBL üretme sıklığını %15,7 olarak saptamışlardır(29). Bizim çalışmamızda *Klebsiella pneumoniae* %18 ve *Klebsiella oxytoca* suşlarında %4 oranında GSBL üretimi saptanmıştır.

Ülkemizde bu güne kadar yapılan çalışmalarda; Töreci ve ark. sinerji testi ve direnç paternlerine göre İstanbul Tıp Fakültesi Hastanesinde çeşitli klinik örneklerden izole edilen *Enterobacteriaceae* suşlarından 196 *K. pneumoniae* suşunda % 45, *K. oxytoca* suşunda % 32 oranında GSBL üretimi saptamışlardır(86). Kaleli ve ark. 72 *E. coli* ve 38 *K. pneumoniae* suşunda ÇDST ile GSBL sıklığını, merkeze amoksisilin-klavulanik asit, çevreye ise merkezden 25 mm olacak şekilde aztreonam, sefotaksim ve seftazidim diskleri yerleştirerek araştırmışlar. *K. pneumoniae* için %47(87), Gülay ve ark. yaptıkları çalışmada hastane enfeksiyonlarından soyutlanmış 44 *K. pneumoniae* suşunda ÇDST ile GSBL sıklığını diskler arası mesafe 30 mm olan standart yöntem ile %57, diskler arası mesafe 20 mm olarak uygulandığında bu oran %89 olarak bildirmişlerdir(80). Eskitürk ve ark. ÇDST ile E-testini karşılaştırmalı olarak uyguladıklarında *Klebsiella* suşlarında GSBL üretme sıklığını her iki yöntemde de %54 olarak bildirmişlerdir(78). GSBL saptamada ÇDST'nden başka E-test, üç boyutlu test, fenotipik doğrulama testi, MIC saptamaya yönelik klasik ve otomatize yöntemler kullanılabilirlikle birlikte ÇDST en pratik, ucuz ve duyarlı yöntem olarak kabul edilmektedir (79). Bizim yaptığımız çalışmada *E. coli* ve *Klebsiella spp.* suşlarının GSBL üretimi. ÇDST ve fenotipik doğrulama testi ile tespit edilmiştir. Çalışmada kullanılan parametreler (cinsiyet, yaş, klinik, materyal ve izole edilen bakteriler) açısından bakıldığında disk difüzyon testi, ÇDST ve fenotipik doğrulama testi sonuçları uyumlu bulunmuştur. Fenotipik doğrulama testinde yanlış pozitiflik saptanmamıştır. Hastane kökenli *Klebsiella spp.* ve *E. coli* suşlarında GSBL üretimi fazla olduğundan ÇDST'i rutin uygulamada kullanılmalıdır.

İdrar materyallerinde *E. coli* suşları ile yapılan çalışmalarda; Tünger ve ark. 92 suşda %10(88), Demirdağ ve ark. 65 suşun %15(89), Rota ve ark.168 suşun %21(90), Aktaş ve ark.52 suşun %21,2(91), Gülay ve ark.72 suşun

%16,6(92), Şahin ve ark.64 suşun %12,5(93), Hazar ve ark. 45 suşun %6,6(94), Durmaz ve ark.530 suşun %1,1(95), Gürdoğan ve ark. 89 suşun %8(96), GSBL saptamışlar. Bizim yaptığımız çalışmada 960 *E. coli* suşun %16,8'inde GSBL üretimi saptanmıştır.

Otkun ve ark. Trakya Üniversitesi Tıp Fakültesi Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Yenidoğan Servisinde oluşan bir *K. pneumoniae* hastane enfeksiyonu epidemisinden izole edilen 17 suşun 16'sının (% 94) ÇDST ile GSBL oluşturduğunu ve gentamisin dışı aminoglikozidlere dirençli olduğunu bildirmişlerdir(81). Abaslı ve ark. *E. coli* suşlarında amikasin direncini %10, *K. pneumoniae*'da %10, *K. oxytoca*'da %8 tespit etmişlerdir(97). Bizim yaptığımız çalışmada amikasin direnci *E. coli* %9,9, *K. pneumoniae* %5,6 *K. oxytoca*'da %8,3 olarak tespit edilmiştir. Amikasin direnci idrarda %5,9 iken yarada %14,5 bulunmuş ve bu durumun istatistiksel olarak anlamlı olduğu tespit edilmiştir ($p < 0,031$) (Tablo-5, Şekil-4).

TEM ve SHV kaynaklı GSBL'ler sefoksitini parçalamazlar, buna karşılık sefamisinazlar ve karbapenemazlar parçalarlar. Çalışmamızda 162 *E. coli*'den 86(56,6)'i, *K. pneumoniae* suşlarından 26(48,1)'sı ve *K. oxytoca* suşlarından 5(41,7) tanesi sefoksitine dirençli bulunmuştur. Bu suşların TEM ve SHV dışı, diğer geri kalan suşların TEM ve SHV kaynaklı β -laktamaz taşıdıkları düşünülmektedir. Son zamanlarda kromozomal kaynaklı GSBL üretimi olduğu bildirilmekle beraber GSBL üretimi genellikle plazmid kaynaklı olduğu için bakteriler arasında kolayca yayılabilmekte, bu da zaman içerisinde GSBL üretme oranında artmaya yol açmaktadır(36). GSBL oluşturan bakterilerin oranı ülkeden ülkeye, bölgeden bölgeye, hastaneden hastaneye hatta aynı hastane içinde çeşitli birimler arasında değişiklik göstermektedir. Bu farklılık lokal epidemiyolojik faktörlere, genel enfeksiyon kontrol önlemlerine ve antibiyotik kullanım politikalarına bağlanmaktadır. Antibiyotiklere karşı direncin en düşük düzeye indirilmesi için bu antibiyotiklerin mikrobiyolojik veriler göz önüne alınarak ve antibiyotik kullanım prensiplerine uygun olarak kullanılması gerekmektedir(34).

Çalışmamızda *E. coli* suşlarında %16,8 ve *Klebsiella spp.*'de %22

KAYNAKLAR

- 1- Bilgehan H. Klinik Mikrobiology. Özel Bakterioloji ve Bakteri Enfeksiyonları 10.Baskı, Barış Yayınları, İzmir 2000; 56- 64
- 2- Koneman Emler W. Color And Textbook Of Diagnostik Mikrobiology Sixth Edition Washington W, Stephen A, William J, Koneman E, Procop G. Lippincott Williams and Wilkins; 2006; 262-263
- 3- Ustaçelebi Ş, Ed. Mutlu G, İmir T, Cengiz A, Tümbay E, Mete Ö. Temel ve Klinik Mikrobiyoloji, Güneş Kitabevi, 1999; 91-109. 509-511
- 4- Tunçkanat F, Üriner Sistem Enfeksiyonu Patogenezinde Bakteriye Virülans Faktörleri Klimik Dergisi; 6 (3) 1993
- 5- Echeverria P, Sethabutr O, Pitarangsi C. Microbiology and Diagnosis of Infections with Shigella and Enteroinvasive Escherichia coli. Rev Infect Dis, 1991; 13 (Suppl 4) 220-225.
- 6- Riley LW. The Epidemiological Clinical and Microbiological Features of Hemorrhagic colitis. Ann Rev Microbiol, 1987; 41: 383-407.
- 7- Akova M, β -Laklam Antibiyotikler, β -Laktamazlara Bağlı Antibiyotik Direnci Sorunlar ve Çözüm Önerileri. İstanbul, 1995: 1-3.

8- Gür D. Hastane İnfeksiyonlarında Önem Kazanan Gram Negatif Bakterilerde Antibiyotiklere Direnç Mekanizmaları. Hastane İnfeksiyonları Dergisi, 1997; 1: 38-45.

9- Mayer KH, Opal SM, Medeiros AA. Mechanisms of Antibiotic Resistance Principles and Practice of Infectious Diseases, (Eds) Mandell GL. Douglas RG, Bennett JE, Fourth Edition, New York, Edinburg, London, Madrid, Melbourne, Milan, Tokyo. Churchill Livingstone Inc.,1995: 212-224.

10- Keskin K. Yeni Bir Antibiyotik Duyarlılık Testi: E-Test. 27. Türk Mikrobiyoloji Kongresi, Program ve Özet Kitabı, (Derleyenler) Ağaçfıdan, A., Badur, S., Gülekçi, İstanbul, Turgut Yayıncılık ve Anonim Şirketi, 1996: 25: 48-51

11- Moland ES, Thomson KS. Extended Spectrum β -Lactamases of Enterobacteriaceae. Journal of Antimicrobial Chemotherapy, 1994; 33: 925.

12- Gür D. β -Laktam Antibiyotiklere Karşı Direnç Mekanizmaları. Antibiyotik Direnç Mekanizmaları ve Antibiyotik Duyarlılık Testleri, (Derleyen) Akalın HE, İstanbul, 1993: 15-20

13- Martinez LM, Alles SH, Alberti S, Thomas JM, Benedi VJ, Jacoby GA, In Vivo Selection of Porin-Deficient Mutants of Klebsiella Pneumoniae with Increased Resistance to Cefoxitin and Extended Spectrum Cefalosporins. Antimicrobial Agents and Chemotherapy, 1996; 40: 42-48.

14- Sanders CC, Sanders WE. β -Lactam Resistance in Gram-Negative Bacteria: Global Trends and Clinical Impact. Clinical Infectious Diseases, 1992; 15: 824-839.

- 15- Sanders CC. β -Lactamases of Gram-Negative Bacteria: New Challenges For New Drugs. *Clinical Infectious Diseases*, 1992; 14: 1089-1099.
- 16- Malouin F, Bryan LE. Modification of Penicillin-Binding Proteins β -Lactam Resistance. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*. 1986; 30:1-5.
- 17- Medeiros AA. β -Lactamases. *Br Med Bull*, 1984; 40: 18-27.
- 18- Neu HC. β -Lactamases: A Perspective On The Contribution Of These Enzymes to Bacterial Resistance. *Postgraduate Medicine*, Sep-Oct: 1984; 7-21.
- 19- Bush, K. Characterisation of β -Lactamases. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 1989; 33: 259-263.
- 20- Gür D. β -Laktamazların Sınıflandırılması. *Flora Dergisi*, 1996; 2: 80-86.
- 21- Huovinen P, Huovinen S, Jacoby GA. Sequence of PSE-2 β -Lactamase. *Antimicrob Agents and Chemotherapy*, 1988; 32: 134-136.
- 22- Bush K. Classification of β -Lactamases: Groups 1, 2a, 2b, and 2b' *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 1989; 33: 264-270.
- 23- Bush K. Classification of β -Lactamases: Groups 2c, 2d, 2e, 3, and 4. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 1989; 33: 271-276.

- 24- Bush K, Jacoby GA, Medeiros AA. A Functional Classification Scheme For β -Lactamases and Its Correlation With Molecular Structure. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 1995; 39: 1211-1233.
- 25- Bush K, Jacoby G. Nomenclature of TEM β -Lactamase. *J Antimicrob Chemother*, 1997; 39: 1-3.
- 26- Livermore DM. β -Lactamases in Laboratory and Clinical Resistance. *Clin Microbiol Re*, 1995; 8: 557.
- 27- Bush K. It is Important to Identify Extended-Spectrum β -Lactamase-Producing Isolates? *Eur J Clin Microbiol Infect Dis*, 1996; 15: 361-364.
- 28- Arsala T, Auvien H, Houvien P. β -Lactam Resistance Among *Escherichia coli* and *Klebsiella* Species Blood Culture Isolates in Finnish Hospitals. *European Journal of Clinical Microbiological Infectious Disease*, 1994; 13:468-474.
- 29- Liu PP, Gür D, Hall LMC, Livermore DM. Survey of Prevalance- β -Lactamases Amongst 1000 Gram-Negative Bacilli Isolated Consecutively At The Roy London Hospital. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 1992; 30: 429-447.
- 30- Reig R, Roy C, Hermida M, Teruel D, Coira A. A Survey of β -Lactamases From 618 Isolates of *Klebsiella* spp. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 1993; 31: 29-35.

- 31- Sirot D. Extended-Spectrum Plazmid-Mediated β -Lactamases Journal of Antimicrobial Chemotherapy, 1995; 36 (Suppl A): 19-34.
- 32- Petit A, Bouslama BY, Sofer L, Labia R. Characterization of Chromosomally Encoded Penicillinases in Clinical Isolates of *Klebsiella pneumoniae*. Journal of Antimicrobial Chemotherapy, 1992; 29: 629-638.
- 33- Sanders CC, Thomson KS, Bradford PA. Problems With Detection of β -Lactam Resistance Among Nonfastidious Gram Negative Bacilli. Infectious Disease Clinics of North America, 1993; 7 (2): 411-423.
- 34- Akova M, GSBL Taşıyan Suşları Saptamada Sorunlar. β -Laktamazlara Bağlı Antibiyotik Direnci, Sorunlar ve Çözüm Önerileri. M .İstanbul, 1995, 23-24.
- 35- Jacoby GA, Medeiros AA. More Extended-Spectrum β -Lactamases. Antimicrobial Agents and Chemotherapy, 1991; 35 (9): 1697-1704.
- 36- Jacoby GA. Genetic of Extended-Spectrum β - Lactamases. European Journal Clinical Microbiology Infectious Disease, 1994; 13 (Suppl 1): 2-11
- 37- Bernard H, Tancrede C. Livrelli V, Morand A, Barthelemy M, Labia R. A Novel Plasmid-Mediated Extended-Spectrum (β -Lactamase Not Derived From TEM-or SHV- Type Enzymes. Journal of Antimicrobial Chemotherapy, 1992; 28: 590-592.

- 38- Payne DJ, Woodford N, Amyes SGA. Characterization of The Plazmid, Mediated β -Lactamase BIL-1. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 1992; 30: 119-127.
- 39- Livermore DM, Williams JD β -Lactams: Mode of Action and Mechanism of Bacteria Resistance Antibiotics in *Laboratory Medicine*. (Ed) Lorian. M. New York Wilkins, 1996: 502-578.
- 40- Jones RN, Baquero F, Privitera G, Inoue M, Wiedemann B, Inducing β -Lactamase Mediated Resistance to Third Generation Cephalosporins. *Clinic Microbioly and Infect*, 1997; 3 (Suppl 1): 7-20.
- 41- Philippon A, Arlet G, Lagrange PH. Origin and Impact of Plazmid-Mediated Extended-Spectrum β -Lactamases. *European Journal of Clinical Microbiology Infectious Disease*, 13 (Suppl 1),1994: 17-29.
- 42- Nordmann P. Trends in β -Lactam Resistance Among Enterobacteriaceae. *Clinical Infectious Diseases*, 27(Suppl 1): 1998; 100-106.
- 43- Gür D, Ünal S, Akalın HE. Resistance Patterns in Turkey. *Intern J. Antimicrob Agents*. 1995; 6: 23-26.
- 44- Arlet G, Rouveau M, Fournier G, Lagrange PH, Philippon A. Novel, Plasmid-Encoded TEM-Derived Extended-Spectrum β - Lactamase in *Klebsiella Pneumoniae* Conferring Higher Resistance to Aztreonam Than to Extended-Spectrum Cephalosporins *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*. 1993; 37: 2020-2023.

45- Bartelemy M, Peduzzi J, Bernard H, Tancrede C, Labia R. Close Amino-acid Sequence Relationship Between the New Plasmid-Mediated Extended-Spectrum B-Lactamase, MEN-1 and Chromosomally-Encoded Enzymes of *Klebsiella Oxytoca* *Biochim. Biophys Acta*, 1992; 1122: 15-22.

46- Bauernfeind A, Stemplinger I, Jungwirth R, Ernst S, Casellas JM. Sequence of B-Lactamase Genes Encoding CTX-M1 (MEN-1) and CTX-M2 and Relationship of Their Amino-acid Sequences with Those of Other β -Lactamases. *Antimicrob Agents Chemother*, 1996; 40: 509-513.

47- Nordmann P, Ronco E, Naas T, Duport C, Michel-Briand Y, Labia R. Characterization of a Novel Extended-Spectrum β -Lactamase From *Pseudomonas Aeruginosa*. *Antimicrob Agents Chemother*, 1993; 37: 962-969.

48- Gür D. β -laktamazlar. *Flora Dergisi*, 1997; 2 (Suppl 3): 3-18.

49- Bauernfeind A, Stemplinger I, Jungwirth R. Characterization of β -Lactamase Gene PER-2 which Encodes an Extended-Spectrum Class A β -Lactamase. *Antimicrob Agents Chemother*, 1996; 40: 616-620.

50- Ishii Y, Ohno A, Taguchi H. Cloning and Sequence of the Gene Encoding a Cefotaxime-Hydrolysing Class A β -Lactamase Isolated From *Escherichia coli* *Antimicrob Agents Chemother*, 1995; 39: 2269-2275.

51- Livermore DM, Maskell, JP, Williams JD. Detection of PSE-2 β -Lactamase Enterobacteria. *Antimicrob Agents Chemother*, 1984; 25: 268-272.

- 52- Danel F, Hall LMC, Gür D, Livermore D. OXA-14, Another Extended-Spectrum Variant of OXA-10 (PSE-2) β -Lactamase from *Pseudomonas Aeruginosa*. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 1995; 39: 1881-1884.
- 53- Hall LMC, Livermore DM, Gür D, Akova M, Akalın HE. OXA-11. An Extended Spectrum Variant of OXA-10 (PSE-2) β -Lactamase from *Pseudomonas Aeruginosa*. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 1993; 37: 1637-1640.
- 54- Mugnier P, Casin I, Bouthors AT, Collatz E. Novel OXA-10-Derived Extended-Spectrum β -Lactamase Selected in Vivo or in Vitro. *Antimicrob Agents Chemother*, 1998; 42(12) 3113-3116.
- 55- Naas T, Sougakoff W, Casetta A, Nordmann P. Molecular Characterization of OXA-20 A Novel Class, D β -Lactamase, and its integron *Pseudomonas Aeruginosa*. *Antimicrob Agents Chemother*, 1998; 42: (8): 2074-2083.
- 56- Philippon LN, Naas T, Bouthors AT, Barakett V, Nordmann P. OXA-18, A Class D Clavulanic Acid-Inhibited Extended-Spectrum β -Lactamase From *Pseudomonas aeruginosa*. *Antimicrob Agents Chemother*, 1997; 41(10)-2188-2195.
- 57- Canica MM, Bartelemy M, Gilly L, Labia R, Krishnamoorthy R, Paul G. Properties of IRT-14 (TEM-45), a Newly Characterized Mutant of TEM-Type β -Lactamases. *Antimicrob Agent Chemother*, 1997; 41: 374-378.

58- Blazquez J, Baquero MR, Canton R, Alos I, Baquero F. Characterization of a New TEM-Type β -Lactamase Resistant to Clavulanate, Sulbactam, and Tazobactam in a Clinical Isolate of *Escherichia coli*. *Antimicrob Agent Chemother*, 1993; 37: 2059-2063.

59- Nordmann P, Mariotte S, Naas T, Labia R, Nicolas MH. Biochemical Properties of a Carbapenem-Hydrolysing β -Lactamase from *Enterobacter cloacae* and Cloning of the Gene Into *Escherichia coli* *Antimicrob Agent Chemother*, 1993; 37: 939-946.

60- Prinarakis EE, Miriagou V, Tzelepi E, Gazouli M, Tzouveleki LS. Emergence of an Inhibitor-Resistant β -Lactamase (SHV-10) Derived from an SHV-5 Variant. *Antimicrob Agent Chemother*, 1997;41: 838-840.

61-Rasmussen, BA, Bush K. Carbapenem-Hydrolyzing β -Lactamases, *Antimicrob Agents Chemother*, 1997;41: 223.

62-Amyes SGB. Carbapenemases. *Ankem Dergisi*, 1997; 11: 221.

63- Naas T, Nordmann P. Analysis of a Carbapenem-Hydrolysing Class A β -Lactamase from *Enterobacter Cloacae* and of Its Lys-R Type Regulatory Protein *Proc Natl Acad Sci (USA)*, 1994; 91: 7693-7696.

64- Rasmussen BA, Bush K, Keeney D, Characterization of IMI-1 β -Lactamase A Class A Carbapenem-Hydrolysin Enzyme from *Enterobacter cloacae*. *Antimicrobial Agents Chemother*, 1996; 40: 2080-2086.

- 65- Naas T, Vandell L, Sougakoff W, Livermore DM, Nordmann P. Cloning and Sequence Analysis of the Gene for a Carbapenem-Hydrolysing Class A. β -Lactamase. Sme-1 from *Serratia marcescens* S6. *Antimicrob Agents Chemother*, 1994; 38: 1262-1270.
- 66- Paton RH, Miles RS, Hood J, Amyes SGB, ARI-1: β -Lactamase Mediated Imipenem Resistance in *Acinetobacter baumannii* *Inter Antimicrob Agents*, 1993; 2: 81-84.
- 67- Osana E, Arakawa Y, Wacharotayankun R, Kato N, Ohta M. Plasmid-Mediated Dissemination of the Metallo β -Lactamase Found in a Clinical Isolate of *Serratia marcescens* That Shows Imipenem Resistance. *Antimicrob Agents Chemother*, 1994; 38: 71-72
- 68- Livermore DM. Carbapenemases. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 1992; 29: 609-613.
- 69- Papanicolaou GA, Medeiros AA, Jacoby GA. Novel Plasmid-Mediated β -Lactamase (MIR-1) Conferring Resistance to Oxymino- and α -Methoxy β -Lactams in Clinical Isolates of *Klebsiella pneumoniae*. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 1990; 34: 2200-2209.
- 70- Gonzalez-Leiza M, Perez-Diaz JC, Hyala J. Gene Sequence and Biochemical Characterization of FOX-1 from *Klebsiella pneumoniae*, a New AmpC-Type Plasmid-Mediated β -Lactamase with Two Molecular Variants. *Antimicrob Agents Chemother*, 1994; 38: 2150-2157.

- 71- Horii T, Arakawa Y, Ohta M. Characterization of a Plasmid-Borne and Constitutively Expressed MOX-1 Gene Encoding AmpC-Type β -Lactamase. *Gene*, 1990; 34: 2200-2209.
- 72- Bauernfeind A, Chong Y, Schweighart S. Extended Broad Spectrum β -Lactamase in *Klebsiella pneumoniae* Including Resistance to Cephamycins. *Infection*, 1989;17: 316.
- 73- Bauernfeind A, Mangold P, Schweighart S. Molecular Analysis of a Transferable Cephamycinase in *Klebsiella pneumoniae*. *Antimicrob Agents Chemother*, 1993; 37: 947-050.
- 74- Fosberry AP, Payne DJ, Lawlor EJ, Hodgson J.E. Cloning and Sequence Analysis of BIL-1, A Plasmid-Mediated Class C β -Lactamase Gene in *Escherichia coli* BS. *Antimicrob Agents Chemother*, 1994;38 1182-1185.
- 75- Gazouli M, Kaufman ME, Tzelepi E, Dinopoulos H, Paniara O, Tzouveleakis LS. Study of an Outbreak of Cefoxitin-Resistant *Klebsiella pneumoniae* in a General Hospital. *J Clin Microbiol*, 1996; 35: 508-510.
- 76- Quinn JP. Clinical Significance of Extended Spectrum β -Lactamases *European Journal of Clinical Microbiology Infectious Disease*, 1994;13 (Suppl 1): 39-42.
- 77- National Committee for Clinical Laboratory Standards: Performance Standards for Antimicrobial Disk Susceptibility Tests, NCCLS Document, 6th ed, M2-A6 (M100-57), Wayne Pa, Approved Standard 1997.

78- Eskitürk A, Korten V, Söyletir G, Akut Bakım Gerektiren Hastalarda Gelişen Enfeksiyonlardan İzole Edilen Klebsiella Türlerinde Geniş Spektrumlu β -Laktamaz (GSBL) Direnci Sıklığının Araştırılması. *Ankem Dergisi*, 1996; 10(1): 14-23.

79- Derbentli Ş, Katrancı H, Nakipoğlu Y. Gram Negatif Çomaklarda Genişlemiş Spektrumlu β -Laktamazların Belirlenmesinde Üç Boyutlu Yöntem ve Çift Disk Sinerji Yönteminin Karşılaştırılması. *Ankem Dergisi*, 1996; 10(1): 1-13.

80- Gülay Z, Abacıoğlu H, Yuluğ N. Çift Disk Sinerji Yönteminde Diskler Arası Uzaklığın Sonuçta Etkisi. *İnfeksiyon Dergisi*, 1995; 9 (1-2): 89-92.

81- Otkun M, Akata F, Karasalihoğlu S, Dünder V. Yenidoğan Servisinde Genişlemiş Spektrumlu β -Laktamaz Yapan ve Gentamisin Dışı Aminoglikozidlere Dirençli Klebsiella pneumoniae Salgını *Klinik Dergisi*, 1995; 8 (2): 77-81.

82- Senda K, Arakawa Y, Nakashima K. Multifocal Outbreaks of Metallo β -Lactamase Producing *Pseudomonas aeruginosa* Resistant to Broad Spectrum β -Lactamase Including Carbapenems. *Antimicrob Agents Chemother*, 1996; 40: 349-353.

83- Sirot DL, Goldstein FW, Soussy CJ, Courtieu AL. Resistance to Cefotaxime and Seven Other β -Lactams in Members of Family Enterobacteriaceae: A Three Years Survey in France. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 1992; 36: 1677-1681.

84- Sirot D. Detection of Extended-Spectrum Plazmid-Mediated β -Lactamases by Disk Diffusion. Clin Microbiol Infect, 1996; 2 (Suppl 1): 35.

85- Livermore DM, Yuan M. Antibiotic Resistance and Production of Extended-Spectrum β -Lactamases Amongst Klebsiella spp From Intensive Care Units in Europe, Journal Antimicrob Chemother, 1996; 38:409.

86- Töreci K, Kaygusuz A, Öngen B, Gürler N. Enterobacteriaceae Ailesinden Ardı ardına İzole Edilen 827 suşda Genişlemiş Spektrumlu β -Laktamaz Oluşturma Sıklığı. 11'inci Antibiyotik ve Kemoterapi(ANKEM) Kongresi, Kuşadası 2-6 Haziran 1996, Kongre Kitabı 121..

87- Kaleli İ, Özen N, Şengül M, Cevahir N, Akşit F. Gram Negatif Bakterilerde Genişletilmiş Spektrumlu β -Laktamazların Çift Disk Sinerji Yöntemiyle Belirlenmesi. Ankem Dergisi, 1998; 12 (4): 442-446.

88-Tünger Ö, Sürücüoğlu S, Özbakkaloğlu B, Gazi H. Toplumsal kökenli ve nozokomiyal idrar yolu infeksiyonlarından izole edilen *Escherichia coli* suşlarında genişlemiş spektrumlu β -laktamaz varlığının araştırılması ve çeşitli antibiyotiklere duyarlılıkları. Mikrobiyol Bült 2001; 35: 351-7.

89--Demirdağ K, Kizirgil A, Özden M, Kalkan A, Felek S, Toraman ZA. Hastane ve toplum kökenli *Klebsiella pneumoniae* ve *Escherichia coli* suşlarında genişletilmiş spektrumlu β -laktamaz sıklığının araştırılması. Ankem Dergisi 2001; 15: 748-52.

90-Rota S, Çırak MY, Kalkancı A, Gökbal İ, Kuştimur S. Comparison of inhibitor potentiated disk diffusion test with double disk synergy test for the detection of extended spectrum β -lactamases in clinical isolates of *Escherichia coli*. *İnfeksiyon Dergisi* 2000; 14: 495-8.

91-Aktaş EA, Şahin AÜ, Yiğit N, Al DF, Tuncel E. Gram negatif bakterilerde genişletilmiş spektrumlu β -laktamazların çift disk sinerji ve E test yöntemleri ile araştırılması. *İnfeksiyon Dergisi* 2001; 15: 325-8.

92-Gülay Z, Yüce A, Yuluğ N. *Klebsiella spp.* ve *Escherichia coli* suşlarında değişik β -laktamaz inhibitörleri kullanılarak genişletilmiş spektrumlu β -laktamaz üretiminin saptanması. *Ankem Dergisi* 1998; 12: 469-73.

93-Şahin İ, Kaya D, Öksüz Ş, Okay A, Şencan İ, Öztürk E. Klinik örneklerden izole edilen gram-negatif çomaklarda genişlemiş spektrumlu β -laktamaz sıklığı ve antibiyotik duyarlılığı. *İnfeksiyon Dergisi* 2003; 17: 45-8.

94-Hazar S, Yaman A, Akan E. İdrar yolu infeksiyonlarından soyutlanan bakterilerde genişletilmiş spektrumlu β -laktamazların çift disk sinerji yöntemiyle saptanması. *Gülhane Tıp Dergisi* 2002; 44: 121-4.

95-Durmaz R, Durmaz B, Koroğlu M, Tekerekoğlu MS. Detection and typing of extended-spectrum β -lactamases in clinical isolates of the family Enterobacteriaceae'in a medical center in Turkey. Microb Drug Resist 2001; 7: 171-5.

96-Gürdoğan K, Arslan H. Hastane kökenli ve hastane dışı *E. coli*'lerde çift disk sinerji yöntemiyle genişlemiş spektrumlu β -laktamaz araştırılması ve izolatların çeşitli antibiyotiklere duyarlılık durumu. Flora 1999; 4: 177-80.

97- Abaslı HE, Şenses Z, Doğanay ÜD, Aydoğan H, Başustaoğlu AC. *E. Coli* ve *Klebsiella Spp* Suslarının Çeşitli Antibiyotiklere Duyarlılıkları. Yedinci Antimikrobik Kemoterapi Günleri Özet Kitabı, 2006; 54: 251-252.