

T.C.
HATAY MUSTAFA KEMAL ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
MİKROBİYOLOJİ (TIP) ANABİLİMDALI



**GRAM NEGATİF BAKTERİLERDE ÇEŞİTLİ TOKSİN VE
BETA LAKTAMAZ DİRENÇ GENLERİNİN SIKLIĞI
İLE ÇEŞİTLİ ANTİMİKROBİYALLERE DUYARLILIKLARI**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

İpek YILMAZ

Danışman

Prof. Dr. Nizami DURAN

HATAY-2019

T.C.
HATAY MUSTAFA KEMAL ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
MİKROBİYOLOJİ (TIP) ANABİLİMDALI

**GRAM NEGATİF BAKTERİLERDE ÇEŞİTLİ TOKSİN VE
BETA LAKTAMAZ DİRENÇ GENLERİNİN SIKLIĞI
İLE ÇEŞİTLİ ANTİMİKROBİYALLERE DUYARLILIKLARI**

YÜKSEK LİSANS TEZİ
İpek YILMAZ

Danışman

Prof. Dr. Nizami DURAN

Bu tez, Mustafa Kemal Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından 13883 nolu proje olarak desteklenmiştir.

HATAY-2019

T.C.
HATAY MUSTAFA KEMAL ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
MİKROBİYOLOJİ (TIP) ANABİLİM DALI

**GRAM NEGATİF BAKTERİLERDE ÇEŞİTLİ TOKSİN VE
BETA LAKTAMAZ DİRENÇ GENLERİNİN SIKLIĞI
İLE ÇEŞİTLİ ANTİMİKROBİYALLERE DUYARLILIKLARI**

Yüksek Lisans Tezi
İpek YILMAZ

Tez Jürisi: Jüri başkanı: Prof. Dr. Nizami DURAN
Üye : Prof. Dr. Özkan ASLANTAŞ
Üye : Doç Dr. Meral MİRALOĞLU

Bu tez, Enstitümüz Mikrobiyoloji (Tıp) Anabilim Dalında hazırlanmıştır.

Prof. Dr. İbrahim Halil ÇERÇİ
Enstitü Müdürü

TEŞEKKÜR

Yüksek lisans eğitimim süresince sabırla eğitimimi tamamlamama yardımcı olan danışman hocam sayın Prof. Dr. Nizami DURAN'a,

Tüm Mikrobiyoloji Anabilim Dalı öğretim üyelerine,

Tez sürecimde her türlü yaşadığım zorluk ve sıkıntılarda yanımda olan sevgili laboratuvar arkadaşlarıma,

Tez dönemimde bana yardımcı olan başta Suphi BAYRAKTAR ve Emrah AY olmak üzere tüm mikrobiyoloji asistanları ve yüksek lisans eğitimi alan arkadaşlarıma,

Beni hayatım boyunca destekleyip en iyi yerlere gelmem için çabalayan sevgili babam Celal BOYACIGİL ve sevgili annem Feride BOYACIGİL'e,

Tecrübeleriyle her zaman bana yol gösteren sevgili abim Hasan BOYACIGİL ve sevgili ablam Şenay BOYACIGİL'e,

Tanıdığım günden beri beni hep destekleyen çok sevgili kayınvalidem Nurdan YILMAZ ve kayınbabam Ömer YILMAZ'a,

Tez dönemim boyunca her aşamada yanımda olup yardımını esirgemeyen sevgili eşim Hakkı YILMAZ'a,

Çok teşekkür ederim..

İÇİNDEKİLER

| | |
|--|------|
| Kabul ve Onay | II |
| TEŞEKKÜR | III |
| İÇİNDEKİLER | IV |
| ŞEKİLLER DİZİNİ | VI |
| ÇİZELGELER DİZİNİ | VII |
| SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ | VIII |
| ÖZET | IX |
| ABSTRACT | X |
| 1.GİRİŞ | 1 |
| 2.GENEL BİLGİLER | 5 |
| 2.1.Beta-Laktam Antibiyotikler | 7 |
| 2.2. β -Laktamların Etki Mekanizması | 8 |
| 2.3. β -Lactam Antibiyotiklerine Bakteriyel Direnç Mekanizmaları | 9 |
| 2.4. β -laktamazlar | 10 |
| 2.5.Genişletilmiş Spektrumlu β -Laktamazlar (GSBL'ler) | 11 |
| 2.6.GSBL Tipleri | 12 |
| 2.7. CTX-M | 13 |
| 2.8.TEM ESBL'ler | 14 |
| 2.9. SHV ESBL'ler | 14 |
| 2.10. OXA ESBL'ler | 15 |
| 2.11.Az Genişletilmiş Spektrumlu β -Laktamazlar | 15 |

| | |
|---|----|
| 2.12. ESBLlerin küresel epidemiyolojisi | 16 |
| 2.13. GSBL'nin Yayılmasında Etkili Faktörler | 19 |
| 2.14. Yayılışı Etkileyen Faktörler ve Hususlar | 21 |
| 3.GEREÇ VE YÖNTEM | 22 |
| 3.1.Araç ve Gereçler | 22 |
| 3.2. Örneklerin Toplanması ve Kültivasyon | 23 |
| 3.3.Kullanılan Besiyerleri ve Solüsyonlar | 26 |
| 3.3.1.Kanlı Agar | 26 |
| 3.3.2.Eosin Metilen-Blue Agar | 27 |
| 3.3.3.Mueller-Hinton Broth | 27 |
| 3.3.4. Triptik Soy Buyyon | 27 |
| 3.3.5.Oksidaz ayırıcı | 27 |
| 3.4.Genomik DNA Ekstraksiyonu | 28 |
| 3.5. PCR Amplifikasyon | 29 |
| 3.6.PCR Ürünlerinin Agaroz Jel Elektroforezi Tekniği ile Görüntülenmesi | 29 |
| 3.7. İstatiksel Analiz | 31 |
| 4.BULGULAR | 32 |
| 5.TARTIŞMA | 53 |
| 6.SONUÇ | 62 |
| 7.KAYNAKLAR | 64 |
| ÖZGEÇMİŞ | 76 |

ŞEKİLLER DİZİNİ

| | |
|---|----|
| Şekil 2.1. Beta laktam bileşiklerinin yapıları (Rahman ve ark. 2018)..... | 8 |
| Şekil 3.1. PCR Cihazı (Thermal cycler, Techne FlexigeneTM, İngiltere)..... | 26 |
| Şekil 3.2. PCR ürünlerinin yürütüldüğü elektroforez ünitesi (Wealtec, Elite 300 Plus, ABD)..... | 30 |
| Şekil 3.3. Jel elektroforez sonrası PCR ürünleri görüntüleme cihazı (Wealtec Dolphin-View, ABD, UV Transillumunator)..... | 31 |
| Şekil 4.1. Numune tipine göre izolatların dağılımı..... | 33 |
| Şekil 4.2. <i>bla_{SHV}</i> ve <i>bla_{OXA}</i> genlerinin PCR amplifikasyon ürünlerinin agaroz jel elektroforezi görüntüsü M: 100 bp DNA Ladder. <i>bla_{SHV}</i> (713 bp) 3-6 ve 8, 11, 12, 14 pozitif örnekler ve <i>bla_{OXA}</i> (564 bp) 2 ve 7 pozitif örnekler..... | 50 |
| Şekil 4.3. <i>hly</i> geninin PCR amplifikasyon ürünlerinin agaroz jel elektroforezi görüntüsü M: 100 bp DNA Ladder. <i>hly</i> (1177 bp) 1,8,9 pozitif örnekler..... | 51 |
| Şekil 4.4. <i>Cnf1</i> geninin PCR amplifikasyon ürünlerinin agaroz jel elektroforezi görüntüsü M: 100 bp DNA Ladder. <i>cnf</i> (498 bp) 2,5,9 pozitif örnekler..... | 51 |
| Şekil 4.5. <i>aer</i> ve <i>sfa</i> genlerinin PCR amplifikasyon ürünlerinin agaroz jel elektroforezi görüntüsü M:100 bp DNA Ladder. <i>aer</i> (602 bp) 5 pozitif örnek ve <i>sfa</i> (410 bp) 22, 25, 27, 30, 31, 32 pozitif örnek | 52 |

ÇİZELGELER DİZİNİ

| | |
|---|----|
| Çizelge 3.1. Gram negatif bakteriler için, multiplex PCR’da kullanılan primer dizileri.... | 24 |
| Çizelge 4.1. <i>E. coli</i> , <i>K. pneumoniae</i> , <i>K. oxytoca</i> , <i>A.baumannii</i> , <i>P.aeruginosa</i> ve <i>Proteus mirabilis</i> izolatlarının sayı, cinsiyet, ırk’a göre dağılımı..... | 33 |
| Çizelge 4.2. <i>E. coli</i> , <i>K. pneumoniae</i> , <i>K. oxytoca</i> , <i>A.baumannii</i> , <i>P.aeruginosa</i> ve <i>Proteus mirabilis</i> suşlarının izole edildiği servisler ve yoğun bakım ünitelerine göre dağılımı | 34 |
| Çizelge 4.3. <i>E. coli</i> izolatlarının antibiyotiklere karşı MİK (µg/ml) değerleri..... | 35 |
| Çizelge 4.4. <i>K. pneumoniae</i> izolatlarının antibiyotiklere karşı MİK (µg/ml) değerleri..... | 36 |
| Çizelge 4.5. <i>K. oxytoca</i> izolatlarının antibiyotiklere karşı MİK (µg/ml) değerleri..... | 37 |
| Çizelge 4.6. <i>Acinetobacter baumannii</i> izolatlarının antibiyotiklere karşı MİK (µg/ml) değerleri..... | 38 |
| Çizelge 4.7. <i>Acinetobacter baumannii</i> izolatlarının antibiyotiklere karşı MİK (µg/ml) değerleri..... | 39 |
| Çizelge 4.8. <i>Proteus mirabilis</i> izolatlarının antibiyotiklere karşı MİK (µg/ml) değerleri..... | 40 |
| Çizelge 4.9. <i>E. coli</i> , <i>K. pneumoniae</i> , <i>K. oxytoca</i> , <i>Proteus mirabilis</i> izolatlarının antimikrobiyal direnç profilleri..... | 40 |
| Çizelge 4.10. <i>Acinetobacter baumannii</i> ve <i>P. aeruginosa</i> izolatlarının antimikrobiyal direnç profilleri..... | 42 |
| Çizelge 4.11. Türk hasta izolatlarının antimikrobiyal duyarlılık dağılımı..... | 43 |
| Çizelge 4.12. Suriyeli hasta izolatlarının antimikrobiyal duyarlılık dağılımı..... | 44 |
| Çizelge 4.13. Türk hasta İzolatlarında <i>bla_{SHV}</i> , <i>bla_{OXA}</i> , <i>bla_{TEM}</i> , <i>bla_{CTX-M-gp9}</i> , <i>bla_{CTX-M-gp2}</i> , <i>bla_{CTX-M-gp1}</i> beta laktamaz genlerinin dağılımı..... | 45 |
| Çizelge 4.14. Suriyeli hasta İzolatlarında <i>bla_{SHV}</i> , <i>bla_{OXA}</i> , <i>bla_{TEM}</i> , <i>bla_{CTX-M-gp9}</i> , <i>bla_{CTX-M-gp2}</i> , <i>bla_{CTX-M-gp1}</i> beta laktamaz genlerinin dağılımı..... | 46 |
| Çizelge 4.15. Türk hasta izolatlarında <i>pap</i> , <i>aer</i> , <i>sfa</i> , <i>hly</i> , <i>cnf1</i> , <i>cnf2</i> , <i>afaI</i> toksin genlerinin dağılımı..... | 47 |
| Çizelge 4.16. Suriyeli hasta izolatlarında <i>pap</i> , <i>aer</i> , <i>sfa</i> , <i>hly</i> , <i>cnf1</i> , <i>cnf2</i> , <i>afaI</i> toksin genlerinin dağılımı..... | 48 |



SİMGELER ve KISALTMALAR

| | |
|----------------------|--|
| Bp | : Baz çifti |
| DNA | : Deoksiribo Nükleik Asit |
| <i>E. coli</i> | : <i>Escherichia coli</i> |
| GSBL | : Geniş spektrumlu beta laktamaz |
| <i>K. oxytoca</i> | : <i>Klebsiella oxytoca</i> |
| <i>K. pneumoniae</i> | : <i>Klebsiella pneumoniae</i> |
| MDR-GNB | : Multi drug resistance Gram negative bacteria |
| PBP | : Penisilin bağlayan protein |
| <i>P. aeruginosa</i> | : <i>Pseudomonas aeruginosa</i> |
| ÜSİ | : Üriner sistem enfeksiyonu |

ÖZET

Gram Negatif Bakterilerde Çeşitli Toksin ve Beta Laktamaz Direnç Genlerinin Sıklığı ile Çeşitli Antimikrobiyallere Duyarlılıkları

Gram negatif bakterilerde direnç paternlerinin ve direnç mekanizmalarının bilinmesi, dirençli bakterilerle oluşan enfeksiyonların tedavisinde yol gösterici olmaktadır. Biz bu çalışmada çeşitli klinik örneklerinden etken olarak izole edilen Gram-negatif bakterilerde; (i) antimikrobiyal direnç profillerini fenotipik olarak belirlemeyi, (ii) bu mikroorganizmalardaki *bla_{SHV}*, *bla_{OXA}*, *bla_{TEM}*, *bla_{CTX-M-gp9}*, *bla_{CTX-M-gp2}*, *bla_{CTX-M-gp1}* direnç genlerini ile *pap*, *aer*, *sfa*, *hly*, *cnf1*, *cnf2* ve *afal* virülans genlerinin varlığını PCRYöntürmiyle ile araştırmayı amaçladık. Mikroorganizmaların tanımlanması ve antibiyotik duyarlılık testleri otomatize sistem ile fenotipik olarak, direnç ve virülans genlerinin varlığının araştırılması ise multipleks PCR ile araştırılmıştır. Çalışmaya dahil edilen numunelerin %46.8'i idrar, %23.6'sı yara, %13.6'sı solunum yolu ve %15.2'si ise kan kültürü örnekleri idi. İzolatların %54.2'si Türk hastalardan, %45.7'si Suriye uyruklu hastalardan izole edilmiştir. İzolatların %46.8'si *E. coli*, %26.3'ü *K. pneumoniae*, %3.15'i *K. oxytoca*, %16.3'ü *Acinetobacter baumannii*, %5.7'si *P. aeruginosa*, %1.5'i *Proteus mirabilis* kökenlerinden oluşmaktaydı. Çalışmada *K. pneumoniae* ve *E. coli* izolatlarında ampisilin direnci oldukça yüksek bulunmuştur. *E. coli* izolatlarının tamamı kolistine ve tigesikline karşı duyarlı iken, *K. pneumoniae* izolatlarında kolistin direnci %2 olarak tespit edilmiştir. *K. oxytoca* suşlarının tamamının ertapenem, meropenem, amikasin, siprofloksasin, tigesiklin ve kolistine karşı duyarlı olduğu tespit edilmiştir. *Acinetobacter baumannii* suşları çoğu antibiyotiklere (piperasilin/tazobaktam, seftazidim, meropenem, siprofloksasin ve imipenem) dirençli iken, kolistin direnci tespit edilmemiştir. Benzer şekilde *P. aeruginosa* suşlarında kolistin direnci tespit edilmezken, gentamisin, amikasin ve Trimetoprim/ sülfametaksazol direnci yüksek bulunmuştur. Türk hasta izolatlarında *bla_{SHV}* en fazla *E. coli*'de %75.4 (40/53) saptanırken, *K. oxytoca*'da bu gen varlığı %33.3 olarak tespit edilmiştir. Suriye uyruklu hasta izolatlarında ise *E. coli* suşlarında *bla_{SHV}* oranı %33.3 olarak tespit edilirken, *K. oxytoca* ve *Proteus mirabilis* suşlarında bu gene rastlanılmamıştır. *Bla_{OXA}* geni varlığı ise Türk hasta izolatlarında *E. coli*'de %32.1, Suriye uyruklu hastalardan izole edilen *E. coli* suşlarında ise %33.3 olarak tespit edilmiştir. Türk hastalardan farklı olarak Suriye uyruklu hastalarda *P. aeruginosa* suşlarında *bla_{OXA}* oranı %50 *Proteus mirabilis* suşlarında ise %33.3 olarak tespit edilmiştir. Çalışmada virülans genleri varlığı açısından bu genler bu iki hasta grubu arasında anlamlı derecede farklı oranlarda tespit edilmiştir. Gram negatif mikroorganizmalarda oldukça yüksek ilaç direnç profilleri tespit edilmiştir. Özellikle karbapenemlere ve kolistine karşı dirençli kökenlerin tespiti endişe verici olup, antibiyotik direncinin artmasının önüne geçilebilmesi için akılcı antibiyotik kullanımı ve ilaç seçiminde direnç profillerine uyulması son derece büyük önem arz etmektedir.

Anahtar Kelimeler: Gram negatif bakteri, direnç, antibiyotik, gen, virülans.

ABSTRACT

Frequency of Various Toxin and Beta Lactamase Resistance Genes in Gram Negative Bacteria and Susceptibilities to Antimicrobials

Knowledge of resistance patterns and resistance mechanisms in gram negative bacteria is guiding in the treatment of infections caused by resistant bacteria. In this study, we aimed to investigate Gram-negative bacteria isolated from various clinical samples; (i) phenotypically determining antimicrobial resistance profiles, (ii) the resistance genes of *bla_{SHV}*, *bla_{OXA}*, *bla_{TEM}*, *bla_{CTX-M-gp9}*, *bla_{CTX-M-gp2}*, *bla_{CTX-M-gp1}* in these microorganisms and presence of the *pap*, *aer*, *sfa*, *hly*, *cnf1*, *cnf2* and *afaI* virulence genes by the PCR method. Identification of microorganisms and antibiotic susceptibility tests were investigated phenotypically by automated system and the presence of resistance and virulence genes by multiplex PCR. In the study 46.8% of the samples included were urine, 23.6% were wound, 13.6% were respiratory tract and 15.2% were blood culture samples. 54.2% of the isolates were isolated from Turkish patients and 45.7% were isolated from Syrian patients. 46.8% of the isolates were *E. coli*, 26.3% were *K. pneumoniae*, 3.15% were *K. oxytoca*, 16.3% were *Acinetobacter baumannii*, 5.7% were *P. aeruginosa*, 1.5% were *Proteus mirabilis*. Ampicillin resistance was found to be high in *K. pneumoniae* and *E. coli* isolates. All *E. coli* isolates were susceptible to colistin and tigecycline, while *K. pneumoniae* isolates had 2% colistin resistance. All *K. oxytoca* strains were found to be susceptible to ertapenem, meropenem, amikacin, ciprofloxacin, tigecycline and colistin. *Acinetobacter baumannii* strains were resistant to most antibiotics (piperacillin / tazobactam, ceftazidime, meropenem, ciprofloxacin and imipenem), but colistin resistance was not detected. Similarly, while colistin resistance was not detected in *P. aeruginosa* strains, gentamicin, amikacin and trimethoprim / sulfamethoxazole resistance were found to be high. *Bla_{SHV}* was the most common in *E. coli* (75.4% (40/53)), while the presence of this gene in *K. oxytoca* was 33.3% in Turkish patients. While the *bla_{SHV}* ratio in *E. coli* strains was 33.3% in Syrian isolates, this gene was not observed in *K. oxytoca* and *Proteus mirabilis* strains. The presence of *bla_{OXA}* gene was 32.1% in *E. coli* strains isolated from Turkish patient isolates and 33.3% in *E. coli* strains isolated from Syrian patient isolates. Unlike Turkish patients, *bla_{OXA}* ratio in *P. aeruginosa* and in *Proteus mirabilis* strains was 50% and 33.3%, respectively, in Syrian patients. In terms of the presence of virulence genes, these genes were found to be significantly different between these two groups of patients. Very high drug resistance profiles in gram negative microorganisms was determined. The detection of strains resistant to carbapenems and colistin is particularly alarming, rational antibiotic use to prevent increased antibiotic resistance and compliance with resistance profiles is very important in drug selection.

Key Words: Gram negative bacteria, resistance, antibiotic, gene, virulence

1-GİRİŞ

Antimikrobiyal direnç günümüzde enfeksiyon hastalıklarının tedavisinde en önemli problemlerden biri haline gelmiştir. Antibiyotiklerin çeşitli çevrelerde yaygın olarak kullanılmasıyla, yetersiz kullanım, aşırı kullanım ve bunların yanında uygunsuz bertarafı gibi sorunlar ortaya çıkmaktadır. Buna bağlı olarak antimikrobiyal dirençli bakterilerin oranında ciddi artışlar meydana gelmiş ve dünya çapında hayvan ve insan bakteriyel enfeksiyonlarının tedavisi etkilenmiştir (Review on Antimicrobial Resistance 2014). Mikrobiyallerdeki ilaç direnci her geçen gün büyüyen ciddi bir halk sağlığı sorunudur. Direncin epidemiyolojisi dikkat çekici coğrafi değişkenlik gösterse de global boyutu ve tehlikenin büyüklüğüne bağlı olarak sağlık çalışanları için büyük bir problemdir (Spelberg B. 2008).

Antimikrobiyal direnç hem kromozomal hem de antimikrobiyal direnç genlerini bulunduran mobil genetik elemanların aktarılmasıyla aktarılabilir (Zhang L 2011, Fu Y 2013). Bakterilerde antimikrobiyal direncin varlığının tespiti bakteriyel enfeksiyonun tedavisinde kullanılacak doğru antibiyotiğin uygulanması direncin artmasının önlemede oldukça önemli olup ilk adımı oluşturmaktadır. Dünya genelinde çoklu ilaç direncine sahip mikroorganizmaların artması büyük sağlık sorunlarını da beraberinde getirmekte ve sağlık camiasında ciddi bir kaygılara yol açmaktadır (Lockhart SR 2007). Hatta bazı bilim adamları tarafından antimikrobiyal direncin insanlık için kısa vadede iklim değişikliğinden daha ciddi bir tehdit olduğunu belirtmektedirler (Review on Antimicrobial Resistance 2014).

Mikrobiyologlar ve enfeksiyon hastalıkları uzmanları için antimikrobiyal direnç efektif önlem ve tedavi sağlanması gerektiren dünya çapında büyüyen bir problemdir. Özellikle mikroorganizmaların geniş spektrumlu beta laktamaz (GSBL) enzimi üretimi gibi özellikler kazanması durumlarında daha da ürkütücü olmaktadır (Cohen AE 2006, Paterson ve Bonomo 2005, Rawat ve Nair 2010). İlk kez 30 yıl önce tanımlandıklarından bu yana geniş spektrumlu beta laktamaz üreten patojenlere klinik ilgi giderek artmıştır (Mohanty ve ark. 2009). GSBL üretimi *Klebsiella spp.*, *E. coli*, *P. aeruginosa*, *S. marcescens* ve diğer Gram negatif basillerde (Paterson ve Bonomo 2005) ve ayrıca Gram pozitif *S. aureus*'ta da

(Kainthola 2015) tespit edilebilen önemli bir problemdir. Antibiyotiklerin aşırı ve bilinçsiz kullanımı oluşum ve evrim disiplinine göre antibiyotik dirençli bakterilerin evrimine ve antibiyotik dirençli genlerin meydana gelmesine yol açmaktadır (Singh ve ark. 2016, Sharma 2016). Klinik olarak antibiyotik direnci tedavi olan hastalarda bakteriyel enfeksiyonlar için tedavi yaklaşımlarını yetersiz kılmakta ve belirgin bir şekilde morbidite ve mortalite oranının artması ile sonuçlanmaktadır (Bonnedahl 2015, Valenza 2017). Bu nedenle dirençli antimikrobiyal ajanlara karşı moleküler mekanizmaların anlaşılması hastaların tedavisinde yeni stratejilerin geliştirilmesinde son derece önemlidir (JIANG WEI 2018).

Penisilin grubu ilaçların yaygın kullanılmasıyla üçüncü kuşak sefalosporinlere direnç gelişimi sağlayan CTX-M ve SHV genlerinin karakterizasyonuna yol açmıştır (Jarlier 1988). GSBL üreten mikroorganizmalar özellikle GSBL üreten Gram negatif basiller TEM, SHV veya CTX-M (Lewis 2007, Lal 2007) tipi enzimleri üreten gram negatif basillerin (*Escherichia coli* gibi) artışına neden olan özellikle hastane kaynaklı salgınlar direncin yayılmasına yol açan ve antibiyotiklerin yetersiz kalması gibi ciddi sorunlar doğurmaktadır (Lewis 2007). GSBL üreten bakterilerdeki TEM, SHV ve CTX-M genlerinin moleküler tekniklerle belirlenmesi ve bunların antimikrobiyal direnç paternleri, epidemiyolojisi ve bu enfeksiyonlarla ilişkili risk faktörleri hakkında faydalı veriler sağlayabilmektedir (Ravikant 2016).

GSBL üreten organizmaların neden olduğu enfeksiyonlar, yüksek ölüm oranı ve sağlık bakım maliyeti yüksek olan klinik etkileri nedeniyle büyük bir sorundur (Paterson ve Bonomo 2005, Bindayna 2009). Beta laktamaz üretimi Gram negatif bakterilerin beta laktam grubu antibiyotiklerine karşı direnç mekanizmalarının temelini oluşturmaktadır (Medeiros 1997, Mirzaee 2009). Beta laktamazlar arasında GSBL ve AmpC beta laktamazlar en sık görülen enzimlerdir (Coudron 2000). GSBL pozitif mikroorganizmaların sebep olduğu birçok enfeksiyonun hastane kökenli, hemşire, doktor gibi sağlık personelleri vesilesiyle olduğu bildirilmektedir (Ambler 1991, Kassis 2004). Günümüzde 200'den fazla GSBL tanımlanmıştır (Livermore 2012).

Antibiyotik direncinden “modern tıbbı karşı sessiz tsunami” olarak bahsedilmektedir (The Guardian 2015). Antibiyotik direnci Uluslararası birçok politik ve sağlıkla ilgili toplantıların konusu olmaktadır. Antibiyotik direncinin oluşturduğu tehditi ele alan birçok kapsamlı kılavuz ve öneriler hem uluslararası hem de ulusal düzeyde yayınlanmaktadır.

Bilim dünyasındaki politikadaki ve tüm farkındalıklara rağmen antibiyotik direnci tüm dünyada artarak devam etmektedir (Exner 2017).

Gram negatif bakterilerde artan çoklu ilaç direnci (MDR-GNB) üzerinde önemle durulan konulardan biridir. Son yıllarda antimikrobiyal dirence katkı yapan unsurlardan birinin de Tarım ve gıda sanayinde sık kullanılan antibiyotiklere bağlı olduğu bildirilmektedir (Marshall ve Levy 2011). Gelişmekte olan ülkelerin çoğunda tarım uygulamalarında antimikrobiyal kullanım oranının ciddi boyutlara ulaştığı bildirilmektedir (Van Boeckel 2015). Gıda ve hayvancılıkta antibiyotik kullanımı sebepleri arasında; enfeksiyonların önlenmesi yanında ilaç kullanımı yanında büyümenin desteklenmesi amacı da yer almaktadır (Mathew 2009, Castanon 2007).

Genellikle herhangi bir ortamda bir antibiyotik kullanıldığında, duyarlı bakteri suşları ortadan kaldırılırken ilaca direnç gösterebilecek özelliklere sahip olanlar canlılığını sürdürmektedirler. Dirençli bakteriler daha sonra çoğalarak baskın popülasyon haline gelmekte ve böylelikle ilaç direncinden sorumlu taşıdığı direnç genlerini diğer mikroorganizmalara aktarabilmektedir (Madigan ve ark. 2014, Laxminarayan ve ark. 2013).

E. coli, *Klebsiella spp.* ve diğer negatif bakterilerin hastalık yapabilme yetenekleri sahip olduğu virülans genleriyle yakından ilişkilidir (Anderson 1996)

E. coli gibi Gram negatif basillere eşsiz virülans özellikler kazandıran fimbrial ve afimbrial adezinler patojenezin ilk basamağındaki rolleri oldukça büyük öneme sahiptir. Sözgelimi immünkompetan yetişkin kadınlarda idrar yolu enfeksiyonu sıklıkla multiplevirülans faktörleri üreten *E. coli* ile ilgili olduğu bildirilmiştir. Bu virülans faktörleri arasında dokuya özgü adhezinler, çeşitli toksinler, sideroforlar sayılabilir (Foxman 1995)

Suşlarının patojenitesinin değerlendirilmesinde taşıdığı virülans faktörleri oldukça önemlidir. Mikroorganizmanın taşıdığı virülans faktörleri enfeksiyonun oluşması için mukoza, epitel veya böbrek dokusu gibi yüzeyleri tutunmak ya da invazyon yapmak gibi çeşitli fonksiyonların yerine getirilmesi için bir yetenektir. Gram negatif basillerde görülen patojenite ile ilişkili olan virülans genleri arasında P fimbriae (pap), aerobactin (aer), hemolysin (hly), a fimbrial adhesin I (afaI), type 1 fimbria (fim H), cytotoxic necrotizing factor 1 (cnf 1) ve S fimbriae (sfa) genleri sayılabilir (Momtaz 2013, Soto 2009).

Sfa geninin mikroorganizmanın alt idrar yolu ve böbrek dokusunun endotel ve epitel hücrelerine yapışmasından sorumlu olduğu bildirilmiştir (Mulvey 2002). Cnf1 geni tüm piyelonefrit suşlarının üçte biri tarafından üretilen ve ayrıca böbrek hasarlarına, mesane hücrelerinin dökülmesine ve mikroorganizmanın kolonize olduğu bölgenin altındaki dokulara erişimini kolaylaştıran yani invazyona katkıda bulunan önemli bir virülans faktördür (Mills 2000).

Hly geninin ise piyelonefrit gibi üst üriner sistem infeksiyonlarıyla ilişki olduğu ve konak hücrenin parçalanmasında görev aldığı, bağışıklık hücrelerine zarar verdiği, T lenfositlerin, nötrofillerin ve böbrek hücrelerinin apoptozunu uyarabildiği ayrıca konak hücrelerin besin ve demir depolarına daha fazla erişim sağlamada işlevinin olduğu bildirilmiştir (Bien 2012; Los 2013). Klinik çalışmalar afa geninin ise mikroorganizmanın konak hücreye adezyonda görev yaptığını gösterilmiştir (Le Bouguéneç 2005).

Hatay ili 2011 yılında başlayan Suriye savaşından bu yana en yüksek oranda mülteci akınına uğrayan şehirlerden biri olup, hastanemiz ilimizdeki üçüncü basamak hastane olarak mültecilerin tedavilerinde bu tarihten itibaren yoğun olarak hizmet vermektedir. Hastanemizde sekiz yıldır başta Suriye uyruklu olmak üzere yoğun bir yabancı uyruklu mülteciye hizmet vermektedir.

Biz bu çalışmada mültecilerin hastanemiz direnç profiline ne denli etki ettiğini belirleyebilmek amacıyla, Türk ve Suriye uyruklu hastaların çeşitli klinik örneklerinden etken olarak izole edilen Gram-negatif bakterilerde; (i) antimikrobiyal direnç profillerini fenotipik olarak belirlemeyi, (ii) bu mikroorganizmalardaki *bla_{SHV}*, *bla_{OXA}*, *bla_{TEM}*, *bla_{CTX-M-gp9}*, *bla_{CTX-M-gp2}*, *bla_{CTX-M-gp1}* direnç genlerini ile *pap*, *aer*, *sfa*, *hly*, *cnf1*, *cnf2* ve *afal* virülans genlerinin varlığını polimeraz zincir reaksiyonu ile araştırmayı amaçladık.

2-GENEL BİLGİLER

Antimikrobiyaller, mantarlar, aktinomisetler ve bakteriler gibi mikroorganizmaların doğal metabolitleri olan ve hedef mikroorganizmaların çoğalmasını durdurmak veya sınırlamak için kullanılan ilaçlardır (Piet 2016, Rahman 2014, Rahmanand 2013, Ulsen 2014).

1928'de Sir Alexander Fleming, bir fırsatçı mantar olan *Penicillium notatum*'un, *S. aureus*'un bir agar plakta büyümesini durdurabileceğini gözlemlemiştir ve aslında bu yeni keşif, bu antimikrobiyal bileşenin patojen mikroorganizmalara karşı kullanılması yolunu açmıştır. Salgılanan inhibe edici madde olan ve kısa süre sonra 1941 yılı boyunca İngiltere'de birçok hayat kurtaran “penisilin” olarak piyasalarda yerini aldı (Wright 1999).

Penisilin keşfi ve birçok enfeksiyonun kısıtlamasındaki potansiyel kullanımı, birçok bilim insanını başka doğal bileşikler aramaya teşvik etti. 1945'ten 1980'e kadar bu altın antibiyotik keşif dönemi, şu anda kliniklerde kullanılan birçok başarılı antibiyotiğin ortaya çıkmasına yol açmıştır. Bu dönemde yalnızca çok sayıda yeni antimikrobiyaller keşfedilmekle kalmayıp aynı zamanda enfeksiyonlara karşı kullanım için de preperat formları hazırlanmıştır. 1980'lerden 2000'li yılların sonuna kadar yeni antibiyotiklerin keşfedilmesinin yanı sıra, hali hazırda mevcut olan antimikrobiyal ilaçların geliştirilmesi de gerçekleştirilmiştir. Her ne kadar yeni antibiyotiklerin keşif çalışmaları son yıllarda düşse de daha verimli ve güvenli bir ilaç için arayışlar günümüzde halen devam etmektedir. Yeni ilaç tasarlama ve yeni ilaç keşifleri son on yılda sıcak bir konu olmaya devam etmektedir. Son zamanlarda antibiyotiklerin yerini alabilecek yeni sentetik ilaçların formüle edilmesi ve tasarlanmasına ağırlık verilmiştir. Günümüzde antibiyotiklerin yarı sentetik, modifiye edilmiş doğal ürünler ya da sülfonamidler ve kinolonlar gibi laboratuvarlarda kimyasal olarak tasarlanmış sentetik ilaçlar olarak bulunmaktadır (Normark 2002).

Bileşiklerin kökeninin çeşitliliğine bağlı olarak, genellikle üç farklı antibakteriyel sınıflandırma temeli vardır:

- (i) Kimyasal yapı
- (ii) İlaçların hedef bölgesi
- (iii) Nihai sonucun hedef üzerindeki etkisi (bakterisit veya bakteriyostatik yapı)

Nihai etkiye (bakterisidal veya bakteriyostatik) dayalı sınıflandırma belirsiz olabilir, çünkü bazı ilaçlar bir bakteriye karşı bakterisidal etkiye ve bir diğerine karşı bakteriyostatik etkiye sahip olabilmektedir. Ajanlar arasındaki çeşitlilik nedeniyle kimyasal yapıya dayalı sınıflandırma yetersizdir. Hedef bölge bazında gruplama daha uygundur çünkü antibakteriyel etkinin moleküler temelini ve etki biçimini anlamada yardımcı olur. Sonuç olarak, antibiyotiklerin genellikle beş temel mekanizma ile etkinlik göstermektedirler.

(i) Hücre duvarı sentezi inhibisyonu (penisilin, monobaktam, karbapenem ve basitrasin)

(ii) Sitoplazmik membran inhibisyonu (polimiksin)

(iii) Bakteriyel protein sentezi inhibisyonu (kloramfenikol, linkozamitler, makrolidler, aminoglikozitler, tetrasiklin, vb.)

(iv) Nükleik asit sentezini bloke edici (kinolonlar, nitroimidazoller ve rifampisin)

(v) Folik asit sentezi bloke edici (sülfonamitler, trimetop, vb.) (Samaha-Kfoury ve Araj 2003).

B- laktam ilaçlar, özellikle bakteri hücrelerinin parçalanmasına neden olan hücre duvarı sentezini inhibe eden en önemli ve sık kullanılan antimikrobiyal ilaçlardır. Bu ilaçlar β -laktam halkalı kimyasal yapı temelinde, altı ana gruba ayrılmaktadır:

- Penisilin
- Sefalosporin
- Sefalisin
- Karbapenem
- Monobaktam
- Beta Laktamaz inhibitörleri (Finch ve ark. 2012).

Penisilin keşfiyle bilim adamları patojenlerin üstesinden gelme konusunda iyimser olsalarda, penisilinlere karşı direnç gelişimiyle bazı enfeksiyonlara karşı penisilin etkisiz kalmış ve iyimserlik tablosu ortadan kalkmıştır (Abrahamand 1940).

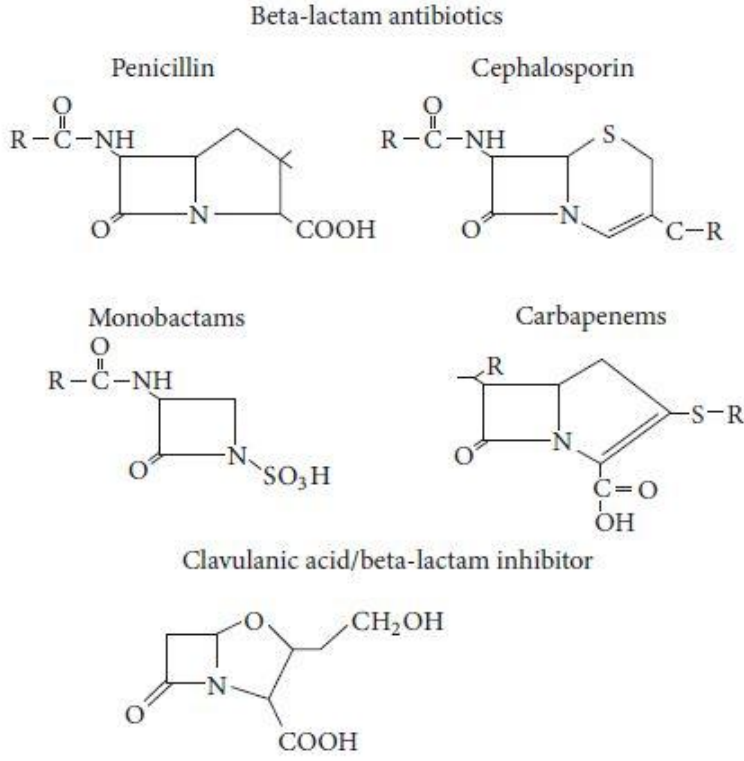
Küresel bir sorun olan antibiyotik direnci; bir antibiyotiğin öldürücü etkilerine karşı normalde duyarlı olan (Madigan 2014) bir organizmanın dirençli hale gelmesi olarak

tanımlanmaktadır (Antimicrobial Resistance Global Report on Surveillance 2018). Gelişen antibiyotik direncine karşı günümüze kadar yeni ilaç veya ilaç grupları keşfedilerek direncin üstesinden gelinmeye çalışılmıştır. Sözelimi sefalospor gibi yeni nesil antibiyotikler keşfedilerek direnç sorununun üstesinden gelinmeye çalışılmıştır. Mevcut tüm patojenleri öldürebilen ilaçların keşfedilmesiyle 2. jenerasyon (sefoksitin, sefotetan, sefmetazol, sefaklor, sefpodoksim ve sefuroksim) ve 3. jenerasyon (sefoksim, sefoksoksim ve sefuroksim) sefalosporinlerin olan yeni antibiyotiklerin keşfi başlamıştır. Sonrasında ise 4. jenerasyon (sefepime, sefluprenam, sefoselis, sefozopran, sefprom ve sefkinom) sefalosporin ilaçları keşfedilmiştir.

Beta-laktam bileşiklerine direnç temel olarak beta-laktam antibiyotiklerini hidrolize eden ve böylece etkisiz hale getiren beta-laktamazların (BL'ler) üretiminden kaynaklanmaktadır (Jacoby and Munoz-Price 2005). BL'lerin karmaşıklığı ve heterojenliği sürekli artan keşiflerden tahmin edilebilir. Günümüzde birçok farklı bakteri türü tarafından üretilen 900'den fazla betalaktamaz tipi tanımlanmıştır. En son sefalosporine (genişletilmiş spektrumlu sefalosporinler) karşı geniş spektrum aktivitesi nedeniyle genişletilmiş spektrumlu beta-laktamazlar (ESBL'ler) özel bir öneme sahiptir. Ampirik antibiyotik kullanımının antibiyotik direncini provoke etmek ve yaymak için önemli tetikleyicilerden biri olduğu düşünülmektedir.

2.1. Beta-Laktam Antibiyotikler

β -Laktamlar penisilin, sefalosporin, monobaktam ve karbapenemler olarak 4 ana gruptan oluşan bir antibiyotik grubudur. Yapısal olarak 3 karbon ve 1 azot atomu bulunduran ve thiazolidine halkasına bağlı β -laktam halkasından oluşurlar. Sefalosporinlerde β -laktam ve dihydrothiazine halkaları birleşiktir, buna karşın karbapenemlerde β -laktam halkası bir hidroksietil yan zincir ile bağlıdır, bisiklik nükleusta bir oksijen ya da kükürt atomu bulunurken, monobaktam ek bir halkaya sahip değildir (şekil 1) (Samaha-Kfoury ve Araj 2003).



Şekil 2.1. Beta laktam bileşiklerinin yapıları (Rahman ve ark. 2018)

2.2. β -Laktamların Etki Mekanizması

Son teknoloji genomik ve fonksiyonel tekniklerin kullanılmasıyla ilaç etkisinin fizyolojik prensiplerini, metabolitlerini ve akıbetini anlama konusunda muazzam bir gelişme olmuştur. Şüphesiz ki eldeki mevcut gelişmiş teknoloji birçok antibakteriyel ilacın bilinmeyen yönlerini, etki mekanizması ve direnç gelişimini açıklamamıza yardımcı olmuştur. β -laktamlar antibakteriyel etkilerini hücre çeperini (peptidoglikan) inhibe ederek ve ayrıca transpeptidazlar olarak da bilinen penisilin bağlayıcı proteinin çalışmasını önleyerek gerçekleştirmektedirler (Parija 2014). Peptidoglikan bakteri hücresi ve periplazmik kısım için önemli bir yapısal bileşendir. Sertlik haricinde yüksek iç ozmotik basınca karşı koruma sağlar ve bakteri hücresine bilinen şeklini verir. PBP iç ve dış membran

arasındaki periplazmik boşlukta bir ağ içine oluşturulan amino asitlerin bitişik zincirlerinin amino asitleri arasındaki çapraz bağları katalize eder. İlginçtir ki, β -laktam halkası N-asetilmuramik asitin (NAM) D-alanin-D-alanin yapısına benzer ve bu yüzden ki PBPlar “yanlışlıkla” (çok yakın şekil benzerlikleri nedeniyle) hücre duvarı sentezi sırasında yapı taşları olarak kullanılmak için bunları (β -laktam) alır. Bakteri hücresi PBP'nin asetilasyonuna neden olan bu hatanın bedelini hücre duvarı otokatalitik sisteminin aktivasyonunu tetikleyen hücre duvar prekürsör birimlerinin akümüasyonu ile sonuçlanan transpeptidasyon reaksiyonlarının inhibisyonu ve sonucunda hücre lizisine giderek öder (Zapun ve ark. 2008). β -laktamlar eş zamanlı olarak transpeptidazların bloklanması ve otolizin aktivasyonu ile, hücre duvarı sentezinin bozulmasını ve aktif yıkılmasını başlatır ve bu durum hücre lizisi ile sonuçlanır.

2.3. β -Lactam Antibiyotiklerine Bakteriyel Direnç Mekanizmaları

Antibiyotik ya da antimikrobiallerin patojeni yok etmekte artık etkili olmadığı durumlarda antibiyotik ya da antimikrobiyal direnç ortaya çıkar. Eğer bakteri tolerans dozunun üzerindeki dozda bile hayatta kalırsa, direnç gelişir, bakteri dirençli olarak adlandırılır. Antibiyotik patojeni öldüremiyorsa terim ilaç toleransı ya da ilaç yetersizliği ile eş değerdir. Organizma birden fazla antibiyotik tipine karşı dirençli hale gelirse bu mikroorganizmaya çoklu ilaca dirençli mikroorganizma denir. Bakteriler daha önceden etkili olan bir ilaca direnerek bu özellikleri zamanla kazanabilirler. Özellikle β -laktamlar için bugüne kadar β -laktamların bakterisit etkilerinden kaçınmak için konakçı bakteriler tarafından kullanılan dört ana yol bilinmektedir.

- I. β -laktam halkasını kıran ve penisilin bağlayan protein (PBP) hedefine ulaşmadan önce antibiyotiği inaktif yapan β -laktamaz üretimi. Bu mekanizma *Escherichia coli* ve *Klebsiella spp.* gibi *Enterobacteriaceae*'de çok yaygındır (Massova ve Mobashery 1998).
- II. Değişmiş ve mutasyona uğramış PBP'lerin ekspresyonu. Pnömonoklarda penisilin ve stafilokoklarda metisilin direncinden sorumludur (Fedarovich ve ark. 2012).

- III. Gram negatif mikroorganizmalarda dış zar proteinlerinin (OMP) yokluğu ya da indirgenmiş ekspresyonu (Delcour 2009).
- IV. Hücre dışından enerji harcayarak antibiyotikleri dışarı çıkaran ve böylece antibiyotiğin hücre içi konsantrasyonlarını azaltan bir sistem olan akış pompalarının aşırı ekspresyonu. Temel olarak bu aktif akış sistemi, sitoplazmik membran ve dış membran arasında bir köprü oluşturan özel bir proteinler kompleksinden oluşur. Sitoplazmik zarındaki zar ya da sitoplazmada bulunan molekülleri yakalayabilen bir taşıyıcı protein, sırayla bir dış zar protein kanalı ile bağlanmış bir "yardımcı protein"e bağlanır. Her ne kadar antimikrobialerin akışı tetrasiklinlere karşı en yaygın kazanılmış direnç şekli olsa da β -laktamlar dahil diğer ilaçlara direnç geliştirmede rol oynamıştır (Li ve Nikaido 2009).

2.4. β -laktamazlar

Bu enzimler mikroorganizmalar tarafından üretilir ve kendilerini inaktif hale getiren β -laktam moleküllerini kırabilir, böylece β -laktam direnci oluşturabilirler. Şimdiye kadar çeşitli bakteriler tarafından üretilen bugüne kadar yüzlerce β -laktamaz bildirilmiştir (<https://www.lahey.org/studies/>). Beta-laktamazların Gram negatif mikroorganizmalar arasında yaygın direnç sağlayan en yaygın direnç mekanizması olduğu düşünülmektedir (Bush ve Jacoby 2010). Gram negatif mikroorganizmalarda β -laktamaz aracılı direnç ya plazmid aracılıdır veya kromozomal olarak eksprese edilir. Bununla birlikte, β -laktamazların yayılması sıklıkla plazmid-aracılı ESBL'lerle, özellikle de CTX-M familya ile bağlantılıdır (Pitout 2010). Gram negatif mikroorganizmalarda kromozomal olarak yerleştirilmiş indüklenebilir β -laktamaz ekspresyonu da yaygın olup plazmid aracılı enzimler genellikle yapısal olarak ifade edilir. Genel olarak, bu enzimler için iki sınıflandırma sistemi halen kullanılmaktadır.

Birincisi, bu enzimleri A, B, C ve D enzimleri gibi dört grupta sınıflandıran korunmuş motiflere ve protein dizisine dayanan Ambler moleküler sınıflandırması veya

moleküler sınıflandırmadır (Tablo 1). Bu enzimler β -laktam hidrolizi için serinleri, substrat hidrolizi için de divalent çinko gerektiren B metallo enzimlerinden faydalanırlar.

İkinci sınıflandırma, farklı β -laktamazları substratlarına ve inhibitör profillerine göre gruplandıran Bush, Jacoby ve Medeiros fonksiyonel sınıflaması olarak adlandırılır. Bu yöntem, beta-laktamazları klinik izolatlarda fenotiplerle ilişkilendirir. En son güncellenen fonksiyonel sınıflandırma üç gruptan oluşur: Grup 1 (sınıf C) sefalosporinazlar; Grup 2 (sınıflar A ve D), geniş spektrumlu, inhibitör dirençli, genişletilmiş spektrum β laktamazlar ve serin karbapenemazlar, ve Grup 3 (B sınıfı), metallo β - laktamazlar (Tablo 1) (Bush ve Jacoby 2010, Ambler ve ark. 1991). Grup 1 enzimleri genellikle kromozomda kodlanır ve genellikle klavulanik asit tarafından inhibisyona karşı dirençlidir. Amp C ekspresyonu düşüktür, ancak konak hücrelerde büyük miktarda biriktiğinde karbapenemlere, özellikle eritapenem'e karşı direnç gösterebilir (Tablo2) (Bradford ve ark. 1997).

2.5. Genişletilmiş Spektrumlu β -Laktamazlar (GSBL'ler)

β -laktamazlar arasında GSBL'ler son on yılda bilim dünyasının dikkatini çeken önemli konulardan biri olmuştur. Genel olarak GSBL'ler plazmid aracılı olup, oksimino-sefalosporin (3. ve 4. kuşak sefalosporinler) ve monobaktamları hidrolize etme kabiliyetleri ile bilinir.

Ayrıca bunlar genellikle klavulanik asit, sulbaktam ve tazobaktam gibi β -laktamaz inhibitörlerine duyarlıdır. Klasik olarak, GSBL'ler başlangıçta dar spektrumlu bir ana GSBL enzimlerinden türetilen veya geliştirilen enzimler olarak tanımlanır.

Geniş spektrumlu sefalosporinler, penisilinler ve aztreonamı hidrolitik aktivite ile etkisizleştirirken, sefalisin (sefoksitin) veya karbapenemlerde bu etkileri yoktur. β -laktamaz inhibitörleri olan klavulanik asit tarafından inhibe edilirler. GSBL eskiden TEM-1, TEM-2 veya SHV'den türevleri içerenler olarak tanımlanırken, en yeni tanımda GSBL'yi üç ana gruba ayırılır:

- (i) GSBLA (A sınıfı GSBL'ler); en sık bulunan GSBL ve CTX-M'yi ve ayrıca SHV ve TEM enzimlerini içerir. Bu enzimler çoğunlukla yatay olarak aktarılabilir ve inaktive edilebilir veya klavulanik asit tarafından inhibe edilebilir.
- (ii) GSBLM (çeşitli GSBL'ler); GSBLM-C'ye (sınıf C, plazmid aracılı Amp C) ve GSBLM-D'ye (sınıf D) ayrılmıştır. Elde edilen Amp C bu sınıfta en sık bulunan GSBL'dir.
- (iii) GSBL CARBA (karbapenemleri parçalayan ESBL'ler) GSBL CARBA-A, GSBL CARBA-B ve GSBLCARBA-D'ye ayrılmıştır (Zhao ve Hu 2013). GSBL'ler genellikle aminoglikozitler ve sülfonamidler gibi antimikrobiyallere direnç sağlayan diğer direnç genlerine ek olarak büyük plazmitler üzerinde taşınırlar (Bush ve Jacoby 2010).

2.6. GSBL Tipleri

Çeşitli patojenlerde tarif edilen birçok GSBL arasında CTX-M, TEM ve SHV tiplerinin, çeşitli epidemiyolojik nişler boyunca karmaşıklık ve yayılma açısından en başarılı tipler olarak bildirilmektedir. *E. coli* ve *K. pneumoniae* gibi çeşitli Gram negatif bakteriler tarafından yaygın olan TEM ve SHV tipindeki laktamların mutantlarının yaygınlığı ve doğal olarak var olan metagenomdan yeni geniş spektrumlu β laktamaz genlerinin doğal olarak GSBL aktivitesi ile donatılan enzimleri kodlayan genlerin alımı bu enzimlerin yayılmasında iki önemli faktördür. GSBL β -laktamaz türleri hakkında çeşitli raporlar yayınlanmıştır (Zhao ve Hu 2013, Cant'on ve ark. 2012). Bu enzimler oldukça hızlı yayılmakta ve yeni tipleri ortaya çıkmaktadır. Yeni ESBL türlerinin rapor edilme hızı oldukça yüksektir. Bugüne kadar 138 TEM tipi, 62 SHV tipini ve 39 CTXM tipi bildirilmiştir.

2.7. CTX-M

Kısa bir süre önce keşfedilmesine rağmen, CTX-M enzimleri, dirençle ilişkili en fazla artan şekilde bildirilen enzim türleridir. CTX-M enzimleri, GSBL'lerin hızlı üreyen ailesini oluşturan plazmid bazlı kodlanmış sefotaksazlardır (Zhao ve Hu 2013). CTX-Ms

seftazidime ve sefotaksime karşı genişletilmiş etkinliğe sahiptir. Diğer GSBL'ler arasında CTX-M enzimlerinin, geniş ölçüde değiştirilen ve TEM gibi diğer GSBL tiplerinden sayıca fazla olan çeşitli epidemiyolojik ortamlarda karmaşıklık ve baskınlık bolluğu açısından en fazla etkiye sahip olduğu kanıtlanmıştır (Andrea ve ark. 2013).

CTX-M ekspresyonu sıklıkla tedaviye yanıtı kritik ölçüde azaltan diğer direnç elementlerinin ekspresyonu ile birlikte korozyon direnci ile ilişkilidir. TEM ve SHV GSBL'lerin aksine, CTX-M tipi enzimler mevcut enzimlerin değişimlerinin bir sonucu olarak ortaya çıkmamıştır (Andrea ve ark. 2013). CTX-M β -laktamaz üyeleri arasındaki ilişkiyi belirlemek için aminoasit sekansına dayanarak filogenetik bir soy ağacı çıkarılabilir. CTX-M altı alt gruba ayrılmıştır (CTX-M-1, CTX-M-2, CTX M-8, CTX-M-9, CTX-M-25 ve KLUC).

Bir gruptaki üyelerin arasında %94'den fazla aminoasit ilişkisi ve gruplar arasında % ≤ 90 'lık bir ilişki vardır. Ek olarak bir hibrit yapı sergileyen yaklaşık dört CTX-M varyantı vardır, bunlar bilinmeyen bir proteine sahip bir CTXM-14 hibriti olan CTX-M-45 (eski adıyla Toho-2) ve CTX-M- 64, CTX-M-123 ve CTX-M15'in farklı segment CTX-M-14 ile hibritleri olan CTX-M-132'dir (Zhao ve Hu 2013). CTX-Ms'nin ana varyantları biyolojik olarak farklı olsada, CTX-M-15 ve CTX-M-14, önemli mikroorganizmalarda global olarak tespit edilen en yaygın varyantlardır. Bunu CTX-M-2, CTX-M-3 ve CTX izlemektedir (Levy 2002).

Dört amino asit pozisyonunda (V77, D114, S140A ve N288D) farklı olan CTX-M-1 ile yakından ilişkili olan CTX-M-3'de yeni farklılıklar keşfedilmiştir. Akdeniz bölgelerinde (Oliver ve ark. 2001) CTX-M-10 ve Yeni Delhi'de (Karim ve ark. 2001) CTX-M15 bildirilmiştir. CTX-M-10, CTX-M-3'ten iki amino asitte (A27A ve R38Q pozisyonlarında) farklılık gösterirken, CTX-M-15, pozisyonunda tek bir amino asitte farklılık gösterir (D240G); Muhtemelen, bu üçünün hepsi ortak bir atadan türetilmiştir.

2.8. TEM ESBL'ler

TEM çoğunlukla Gram negatif bakteriler tarafından kodlanır. Gram negatif bakterilerde ampisiline karşı direncin neredeyse %90'ı TEM kodlu genlerden

kaynaklanmaktadır (Rice ve ark 1990). TEM tipi ESBL'ler genellikle klasik TEM (TEM-1 ve TEM-2) genlerindeki mutasyonlardan aktif bölge etrafındaki tekli veya çoklu amino asit ikamesiyle türetilmiş plazmid aracılıdır. Yunanistan'ın Atina kentinde Temoneira adlı bir hastadan (dolayısıyla TEM adlı) izole edilen *E. coli* TEM-1 tarafından kodlanan direnci barındıran, 1965 yılında bildirilen ilk raporu (Steward ve ark. 2000). TEM-1 penisilin ve sefaloridin gibi 1. kuşak sefalosporini hidrolize edebilir. TEM-2 tek veya çoklu amino asit dizisi mutasyonlarının bir sonucu olarak orjinal TEM-1 enzimlerden türetilmiştir. Hepsi benzer bir hidrolitik profile sahipse de her biri farklı izoelektrik noktalara sahiptir ve dolayısıyla ESBL olarak kabul edilmez. Fransa'da 1987'de *Klebsiella pneumoniae* izolatlarının sefotaksime karşı dirençten sorumlu yeni bir plazmid aracılı β -laktamaz CTX-1 tespit edilmiştir. Şimdi TEM-3 olarak adlandırılan enzimin, TEM-2'den, çift amino asit replasmanları ile farklılık gösterdiği daha sonra TEM-5 ve TEM-4'ün, ana TEM-1'den 3 ve 4 amino asit ile farklı olduğu keşfedildi (Alsterlund ve ark. 2009). TEM-12, 1982'de İngiltere'de izole edilen *Klebsiella oxytoca*'da tespit edilen ilk TEM tipi ESBL'dir (V'azquez ve ark. 2006).

2.9. SHV ESBL'ler

SHV tipi enzimler çoğunlukla en çok bir plazmid tarafından kodlanan *Klebsiella* türlerinde (özellikle *K. pneumoniae*) bulunur. Bununla birlikte kromozomun içinde SHV-1 genini taşıyan çok sayıda türün olduğu gösterilmiştir (Zhao ve Hu 2013). SHV sülfhidril değişken asit anlamına gelir; SHV aktivitesinin kloromercuri benzoat tarafından inhibe edilmesinin substrat ile ilgili olduğuna inanılmaktaydı (Randall ve ark. 2011). SHV-2, 1983 yılında Almanya'dan izole edilen *Klebsiella ozaenae*'de tespit edilen 1. SHV-ESBL tipidir. Bu enzim, SHV-1'deki nokta mutasyonundan kaynaklanmıştır; bu, 238 pozisyonlarında serin ile glisin ikamesi ve hidrolitik substrat profilinin sefotaksim ve az miktarda bir seftazidim içerecek şekilde uzatılması ile sonuçlanmıştır (Perilli ve ark. 2011). TEM ve CTX-M'den farklı olarak SHV'nin çok az çeşidi vardır. Bugüne kadar, amino asit sekansı kompozisyonuna dayanan 193 farklı varyant bildirilmiştir (<https://www.lahey.org/Studies/>).

2.10. OXA ESBL'ler

OXA tipi ESBL ailesini önemli ölçüde arttırmaktadır. Bu β -laktamazlar TEM ve SHV enzimlerinden moleküler sınıf D'ye ve oksasilin-hidrolize etme kabiliyetlerini sergileyen fonksiyonel grup 2d'ye uymaları bakımından farklılık göstermektedirler (Harrison ve Lederberg 1998). Bunlar Enterobacteriaceae'de yaygın olan TEM ve SHV'den farklı olarak *Pseudomonas aeruginosa*'da bildirilmiştir. Bu enzimlerin çoğu oksasilin ve kloksasilin'e karşı yüksek hidrolitik aktiviteye sahip ampisilin ve sefalotine dirençlidir. Ancak klavulanik asit tarafından zayıf şekilde inhibe edilmekte ve yeni sefalosporinleri bozmadıklarından ESBL'ler olarak görülmemektedirler. Bununla birlikte OXA-10, sefotaksim, seftriakson ve aztreonamı yok ederek çoğu mikroorganizmanın bu antimikrobiyallere duyarlılığını azaltmaktadır. Diğer OXA ESBLs, OXA-11, -14, -16, -17, -19, -15, -18, -28, -31, -32, -35 ve -45'i (Levy 2001) içerir. Toplamda, OXA tipi β laktamazlar amino asit sekansı varyasyonlarına bağlı olarak artışında patlama yaşanmaktadır ve şu ana kadar 498 varyasyon rapor edilmiştir (<http://www.lahey.org/Studies/other.asp/table1>).

2.11. Az Genişletilmiş Spektrumlu β -Laktamazlar

Son on yılda, SFO, BES, BEL, TLA, GES, PER ve VEB tipleri dahil olmak üzere A sınıfı laktamazlar belirlenmiştir. Bu küçük ESBL'lerin bazıları nadiren tanımlanır veya çok kısıtlıdır; diğerleri ise yerel olarak yaygınlaşmaktar veya giderek küresel olarak izole edilmektedir.

2.12. ESBLlerin küresel epidemiyolojisi

Şüphesizdir 1980'lerde ESBL'nin klinik uygulamalarının başlaması çoğunlukla Enterobacteriaceae'ye ait en ölümcül ve yaygın mikroorganizmalara karşı atılım olarak

görülmüştür. Bununla birlikte, bu başarı, ESBL'lerin yeni varyantlarının ortaya çıkması için seçici bir baskı sağlayan kitlesel sefalosporinlerin kullanımına yol açmıştır. *E. coli*, *Salmonella*, *Klebsiella* ve *Proteus* cinslerine ait ana patojenler, ESBL evriminin iki ana şemasını kullanmıştır: (i) Halihazırda bol miktarda temin edilebilen TEM ve SHV- tip β -laktamazlardan türetilmiş substrat kabiliyetine sahip enzim mutantlarının seçimi ve (ii) ekolojik metagenomlardan doğal olarak ESBL etkisine sahip kodlayan enzimler olan yeni β -laktamaz genetik materyali elde ve entegre edilmesi. Bu özellikler ESBL'nin klinik ortamlarda ve genişleyen çevrede etkili olmasını sağlamıştır. Bunun da ötesinde, özellikle de bu enzimlerin yeni sentezlenen β laktam ilaçların geniş spektrumunu etkisiz hale getirme kabiliyetlerinden dolayı, ESBL üreten mikroorganizmaların tedavisini zorlaştırmıştır. Dahası, ESBL'nin ortaya çıkması tanımlamadaki zorluk ve raporlamadaki tutarsızlık gibi nedenlerden dolayı çevresel ölçekte daha geniş bir düzeyde zorlaşmıştır (Levy 2002, Steward ve ark. 2000). Ülke, hastane, topluluk ve benzeri coğrafi alanlar, taşıyıcı ve çeşitli rezervuarlar gibi faktörlerin sayısı ve mobil dayanıklı elementlerin çevre, su, vahşi hayvanlar ve gıda hayvanlarından insanlara yayılma kabiliyeti ESBL epidemiyolojisini oldukça karmaşık hale getirmiştir. İlk ESBL raporu 1983 yılında Almanya'da tanımlanmıştır, ancak sonra çok yakın tarihlerde Fransa ve ABD, ciddi yaşam ve ekonomik sonuçları olan ESBL vakalarına tanıklık etmiştir (Rice ve ark. 1990). 1990'lı yıllar ile 2000'li yılların başında ESBL'nin *E. coli* ve *Klebsiella* türlerine ait çeşitli patojenler arasında yayılmasında keskin bir artış olduğu, neredeyse tüm epidemiyolojik ortamlarda nozokomiyal enfeksiyonlarda büyük bir tehdit haline geldiği bilinmektedir. Öncelikle hastane ortamlarında enfeksiyon salgınlarına neden olan *K. pneumoniae* gibi Gram negatif bakterilerdeki TEM ve SHV beta-laktamaz ailelerinin üyeleri olarak rapor edilmişlerdir. Halen toplumda enfeksiyonlara neden olan ve artan sıklıkta CTX-M enzimleri içeren *E. coli*'de tanımlanmaktadır. Bu durum ESBL direncinin patojenler arasında yayılması ve ESBL ailesinin yeni bireylerinin ortaya çıkmasından çok daha endişe vericidir.

ESBL üreten bakterilerin Avrupada yayılması çok fazla farklılık göstermektedir (<https://ecdc.europa.eu/>). Hastane ortamları ve halk arasında spesifik klon ya da klonal grupların ve epidemik plazmitlerin yayılması TEM (TEM-24, TEM-4 VE TEM-52), SHV (SHV-5 ve SHV-12) ve CTX-M (CTX-M-9, CTX-M-3, CTXM-14, veya CTX-M-15) ailelerine ait yaygın ESBL'lerin Avrupada artışın ana nedeni olmuştur. Diğer dirençlerle birlikte, özellikle de florokinolonlara, aminoglikozitlere ve sülfonamidler, durumu daha da

kötüleştirmiştir. Aynı anda birkaç beta-laktamazı (ESBL'ler, metalo-beta-laktamazlar veya sefalosinazları) taşıyan ve florokinolonlara ve aminoglikozitlere karşı direnç gösteren yeni mekanizmaların ortaya çıkması geniş spektrumlu klonların mevcudiyeti gelecekteki izlem ve araştırmaların yeniden düzenlenmesine yol açmıştır. Düşük antibiyotik kullanımı olan ülkelerde dahi ESBL vakalarında artış rapor edilmiştir. Örneğin İsveç'te, 2007 ve 2011 yılları arasında ESBL salgınlarında %100 artış gözlenmiştir (Jostins ve ark. 2012). Ayrıca çeşitli hastanelerde ESBL klonal salgınları rapor edilmiştir. İsveçte, CTX-M-15 taşıyan *K. pneumoniae* ve *E. coli* salgınının nozokomiyal enfeksiyonların sonucu olarak yeni doğanlarda ciddi ölümlere neden olduğu bildirilmiştir (Alsterlund ve ark. 2009). On yıllar boyunca ESBL'nin epidemiyolojik modeli, EBSL eksprese eden suşlar ve tipler arasında değişmekte ve dönüşmektedir ki bu farklı ekolojik nişlere yol açmaktadır. Doksanlı yılların sonlarında ESBL'nin çoğu SHV ve TEM kaynaklı ve genel olarak yoğun bakım ünitelerindeki hastane kaynaklı enfeksiyonlarla ilişkilendirilmekteydi. Dahası, *E. coli* ve *K. pneumoniae*'de ESBL prevalansının daha yaygın olduğu bildirilmiştir (Cant'on ve ark. 2008).

Bunun yanı sıra SHV ve TEM tip enzimlerin yeni tiplerini taşıyan yeni ESBL suşlarının Avrupa'da ortaya çıktığı son raporlarda bildirilmektedir. Son zamanlarda İspanya'da TEM-52 taşıyan *Salmonella* izolatları (V'azquez ve ark. 2006) ile CTX-M-9'u taşıyan mikroorganizmalara rastlandığı bildirilmiştir (Coque ve ark. 2008). Bu tarihten kısa süre sonra Birleşik Krallık tavuk çiftliklerinde rapor edilen benzer bir direnç durumunun TEM-52 enzimleri taşıyan *E. coli*, ortaya çıkan direnç özelliklerinin dünya çapında hızlı ve başarılı bir şekilde yayıldığını göstermektedir (Randall ve ark. 2011). Buna karşın, Batı Avrupa'da CTX-M-3 daha yaygındır (Cant'on ve ark. 2008). İtalya'da 2011 yılında yeni SHV-12 *E. coli* ve *K. pneumoniae* farklı kaynaklardan tanımlanmıştır (Perilli ve ark. 2011). Son birkaç yıl içerisinde durum çarpıcı bir şekilde değişim görülmüştür. ESBL üreten mikroorganizmaların çoğu *E. coli* ve CTX-M tip beta laktamaz haline gelmiştir. SHV ve TEM'den farklı olarak, CTX-M'nin epidemiyolojisi, bakterilerin kendi klonal genişlemesinden ziyade, belirli farklı mobil elementlerin yayılması ve birleşmesi nedeniyle karmaşıklık göstermektedir (Cant'on ve Coque 2006). Buna ek olarak, ESBL CTX-M tipleri ile ilişkili salgınların çoğu toplum kökenli enfeksiyonlarda bildirilmiştir. ESBL ve özellikle CTX-M'nin epidemiyolojisinin karmaşıklığı dışkı yoluyla yayılma nedeniyledir. Avrupa'daki *E. coli* ve *Klebsiella* izolatları arasında genel prevalans hızla artmaktadır.

ESBL'leri taşıyan tür izolatlarının oranları Bulgaristan'da %28, Kıbrıs'ta %16 ve Romanya'da %12'dir. Ayrıca MYSTIC (meropenem yıllık duyarlılık bilgi toplama sistemi) 1990 sonlarından 2008'e %2.1'den %10.5'e sert bir artışa işaret etmektedir. Bununla birlikte, Avrupa'da ilaca dirençli *E. coli*'nin Amerika'ya göre daha az hüküm sürdüğü durumunun aksine, MYSTIC verileri ESBL *E. coli* taşıyıcılığının son birkaç yılda %5'ten %2'ye düştüğünü göstermektedir. ESBL üreten *Enterobacteriaceae*'e ilişkin veriler Orta Doğu ülkeleri için endişe verici olmakla birlikte bu bölge, küresel ESBL salgınlarının ana merkez üslerinin bir parçası gibi görünmektedir. Hastaların idrar yolu enfeksiyonlarından alınan örnekler üzerinde yapılan bir araştırma, ESBL üreten *E. coli*'nin %60.9'unu, dirençli *E. coli* patojeninin aşırı prevalansına işaret ettiğini göstermektedir. Suşların genotiplenmesi tüm bu izolatların CTX-M (CTX-M-14, CTX-M-15 ve CTX-M-27) ve TEM tip gen taşıdığını göstermiştir (Al-Agamy ve ark. 2006). Daha sonra, 2008 yılında hastalar üzerinde yapılan rastgele bir araştırma SHV-12 ve TEM-1'in ESBL genlerini taşıyan *K. pneumoniae* prevalansının %27 olduğunu gösterirken, *E. coli*'nin %10'luk bir frekans aralığında olduğu ve ESBL ürettikleri bildirilmiştir (Khanfar ve ark. 2009). Asya'daki ve özellikle Güney Asya'daki durum oldukça endişe vericidir. Özellikle, ESBL'nin 1990'ların başında ve sonlarında yüksek oranda rapor edildiği Hindistan ve Çin'de, CTX-M tipi üreten mikroorganizma insidansında artışlar olduğu ve dünyanın diğer bölgelerinde olduğu gibi diğer tiplerin ortaya çıktığı bildirilmektedir. Çalışmalar 1990'ların başında SHV-5 ve SHV-12'nin Kore ve Japonya'da daha baskın olduğunu göstermektedir (Yagi ve ark. 2000, Ryoo ve ark. 2005). Son zamanlarda yapılan araştırmalar CTX-M'nin, CTX-M-2 tipinin yaygınlaştığı Japonya hariç, Çin de dahil olmak üzere Asya'daki ESBL taşıyıcılığının en baskın genotipi olduğunu göstermektedir (Munday ve ark. 2004, Ali ve ark. 2016, Ali ve ark. 2017). *E. coli* suşlarında ESBL oranının, Hindistan'da (D'Andrea ve ark 2013) %68'e kadar, Pakistan'da (Jabeen ve ark.2005) %52'ye, Çin'de ise %30'a kadar çıktığı bildirilmiştir (Hirakata ve ark. 2005).

2.13. GSBL'nin Yayılmasında Etkili Faktörler

ESBL'nin günümüzde son derece nüfuzlu küresel yayılımına katkıda bulunan genetik ilişkili faktörler yeterince anlaşılmamıştır. Ancak ESBL'nin moleküler epidemiyolojisi, ESBL'nin konjugatif plazmidler ve başarılı klonlarla yayılmasının güçlü bir ilişkisini göstermiştir (Naseer 2011).

Aynı kromozomun farklı lokusları arasında veya kromozomdan plazmid veya tam tersi arasında atlama kabiliyetine sahip mobil genetik elemanların, direnç elementlerinin yayılmasında rol oynadığı gösterilmiştir. Bu nedenle, plazmidlerin moleküler özelliklerini ve direnç elemanlarını türler arasında transfer etmeye yardımcı olan ilişkili genetik elemanları anlamak çok önemlidir. Yüksek transformasyon verimine sahip dairesel plazmidin yanı sıra, transpozonlar, bakteriyel nükleik asitlerde transpozisyon yoluyla bir yerden bir yere hareket edebilen ve bakteriyel nükleik asitlerin herhangi bir yerine nonspesifik olarak yerleştirilebilen DNA fragmanlarıdır. Çok sayıda farklı transpozon türü vardır, ancak normal olarak transpozisyonu destekleyen bir transpozaz, uçlarda tekrarlar ve transpozonları hapseden hedef nükleik asitlerin kısa doğrudan tekrarları içerir. Konjugatif transpozonlar, bir hücreden diğerine konjugatif transfer için bir başka tip tutma genidir. Nadiren gerçekleşmesi ve oldukça düzenli olmasına rağmen, transpozisyon, direnç elementlerinin yayılmasına katkıda bulunan genetik faktörlerden biridir. Dirençli elemanların başarılı bir şekilde aktarılması ile yüksek oranda ilişkili olduğu gösterilen en önemli unsur integronlardır (Ali ve ark. 2016). Bunlar plazmit setlerinde bulunan transpozonlarda ve bakteri kromozomunda bulunan genetik elementlerdir. Bu gen yakalama sistemleri sahaya özgü rekombinasyon mekanizmalarından ilerlemekte ve genel bir integrin, bir DNA integrin genini (int) ve komşu bir rekombinasyon bölgesini (att1) kodlamaktadır (Mazel 2006). Genel olarak, değişken bölge içerisinde, birden fazla dirençle ilişkili gen bir kerede birçok kasete sahip olabilen integronun bağlanma bölgesinde (attI) birleştirilen gen kasetleri formunda entegre edilebilir. Farklı integron sınıfları tanımlanmış ve sınıf 1, 2 ve 3 antibiyotik direnci ile ilişkilendirilmiştir. Çoğu zaman çoklu dirençleri kodlarlar ve bu nedenle de direnç ile ilişkilendirilirler. Önemli olarak integronlar kendi başlarına zıplayamazlar, ancak genellikle transpozonların veya plazmidin bir parçası olarak buldukları için gen kasetleri harekete geçirilebilir ve böylece ikincil bölgelere entegre

edilebilir, böylece yeni direnç fenotipi ortaya çıkar. Bu nedenle, plazmid replikon tiplemesi, ESBL'nin, karmaşıklık potansiyeline sahip olan ve spesifik entegrasyon ve iletimi olmayan diğer korozyon direnci ve integron tipleri ile ilişkili olma kuvvetini analiz etmek için oldukça faydalı bir tekniktir. *E. coli* ST131-O25: H11'in iyi adapte edilmiş suşunda ESBL tip CTX-M-15'i kodlayan IncFII plazmidinin birleşmesinin, global olarak yayılmasıyla bağlantılı olduğu öne sürülmüştür (Naseer 2011, Peirano 2012).

Tarif edilen elementlere ek olarak, toksin-antitoksin sistemleri gibi diğer genetik elementler, bakterilerin direnç elementlerini korumak için muhtemelen bu sistemi kullanacaklarına işaret etmiştir. Çoklu bağımlılık sistemine bağlı bla CTX-M tiplerini taşıyan plazmitlerde çok yeni bir çoklu bağımlılık sistemi fenomeni bildirilmiştir (Tamang ve ark. 2013). Bir bağımlılık sistemi veya bir toksin-antitoksin sistemi, ayrışma veya replikasyon kusurlarından kaynaklanan plazmid içermeyen hücreleri ortadan kaldırarak/öldürerek bakterilerde plazmidlerin sürdürülmesine yardımcı olur. Kısacası direnç elemanlarının doğrudan veya dolaylı olarak korunmasına ve yayılmasına katkıda bulunan genetik yapısal ve işlevsel unsurların anlaşılması hayati öneme sahiptir. Bir yandan insersiyon dizileri (IS), plazmidler arasında ESBL kodlayan genleri kesebilir ve yapıştırabilir ve diğer taraftan bu enzimlerin ekspresyonunu artırabilir. Bugüne kadar bildirilen ve direnç unsurlarının yayılmasıyla ilişkili olan en yaygın IS, ISEcp1, ISCR1 ve IS26'dır (Ali 2016).

2.14. Yayılışı Etkileyen Faktörler ve Hususlar

Direnç fenomenini için ikinci önemli seçici baskı sağlayan genler. Örneğin, antibiyotik veya direnç genleri olmasaydı, sonuçta direnç olgusu olmazdı. Aslında, klinik vakalara atıfta bulunarak, bir patojenin yeni ilaçlara karşı dirençli olması beklenmez, çünkü antibiyotikler ve antibiyotiğe benzeyen diğer organik moleküller her zaman ortamda bulunur. Binlerce yıllık var oluşlarından sonra bakterilerle bir noktada onlarla yüzleşilebilirdi ve bu onların üremesini etkileyebilirdi; hayatta kalmak için bakteriler bu

moleküllere karşı direnç kazanmış olacaktır. Bununla birlikte, bu özelliklerin klinik izolatlarda veya hastane ortamında ortaya çıkması, klinisyenleri aslında bazı ilaçların kullanımı konusunda uyaran nedendir. Bu bakımdan, bakteri içindeki yeni direnç elementlerinin keşfedilmesi, örneğin kommensal olarak, o hastanenin, toplumun klinik izolatlarındaki patojenlerde gelecekteki komplikasyonları önceden bildirir. Her yıl ülkelerde milyonlarca kutu antibiyotik kullanılmaktadır. Hastanelerde bu ilaçlar genellikle parenteral yolla verilirken, toplumda oral reçete ile verilmektedir. Bunun yanında milyonlarca kutu antibiyotik antibiyotik, sıklıkla penisilin ve tetrasiklin, hayvanlarda her yıl büyüme destekleyici olarak rutin olarak kullanılmaktadır (Harrison 1998). Benzer şekilde milyonlarca kutu ilaç başlıca tetrasiklin ve streptomisin her yıl meyveler ve ekinlerin üzerine püskürtülerek kullanılmaktadır. Bunların çoğu, bir miktar artık kalıntılar olarak çevrede bulunur ve bakteriler bir noktada bu ilaçlarla karşılaşmaktadırlar. Çevrede, vücutta ve gıdada mevcut antibiyotik kalıntılarının sağladığı seçici baskıya cevaben bu antibiyotiklere dirençli bir gen havuzu kesinlikle çevrede ortaya çıkacaktır. Ayrıca, akılcı olmayan antibiyotik kullanımı antibiyotiklere karşı ortaya çıkacak yeni direnç mekanizmalarını teşvik etmektedir.

3.GEREÇ VE YÖNTEM

Bu çalışma Mustafa Kemal Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalında yapılmıştır. Çalışmaya 2015-2017 tarihleri arasında MKÜ Araştırma Hastanesi'ne müracaat eden Türkiyeli ve Suriyeli hastalardan izole edilen retrospektif olarak toplanan 190 gram negatif bakteri dahil edildi. İzole edilen kökenler konvansiyonel teknikler kullanılarak rutin biokimyasal testlere (okidaz, üre, sitrat metil red testleri TSI besiyerinde fermentasyon testi vb.) dayalı olarak identifiye edilmiştir. Çalışmada gram negatif bakterilerde amikasin, meropenem, imipenem, siprofloksasin, levofloksasin, piperasilin, gentamisin, sefepim, seftazidim, seftriakson, sefuroksim, ampisilin, ampisilin/klavulonikası, piperasilin/tazobaktam, trimetopirim/sülfometaksazol, tigesiklin, ertapenem duyarlılıkları Vitek-2(bioMeuriux Fransa) otomatize sistemle araştırıldı. Suşların antibiyotik duyarlılıkları ve ESBL üretimi EUCAST-2019 kriterlerine göre belirlenmiştir. Mikroorganizmaların duyarlılık testleri Klinik ve Laboratuar Standartları Enstitüsü (CLSI) kriterlerine uygun olarak yapıldı.

Çalışmada Gram negatif bakteri kökenlerinde *bla_{TEM}* , *bla_{OXA}* ,*bla_{SHV}* ,*bla_{CTX-M-gp1}* , *bla_{CTX-M-gp2}* , *bla_{CTX-M-gp9}* , *cnf1* , *cnf2* , *afa* , *pap* , *aer* , *sfa* , *hly* direnç genlerinin varlığı multipleks PCR yöntemiyle belirlendi.

3.1.Araç ve Gereçler

- Etüv (Heal Force HF90, Çin)
- Santrifüj (NF 048; Nüve, Türkiye)
- Elektroforez sistemi (Wealtec, Elite 300 Plus, ABD)
- PCR Cihazı (Thermal cycler, Techne Flexigene, İngiltere)
- UV Transillumunator (Wealtec, Dolphin-View, ABD)
- Vitek 2 Compact (bioMeuriux S.A., Fransa)
- Mc farland cihazı (İtalya)

- Otomatik pipetler (Discovery, Transferpette, Almanya)
- 96 kuyucuklu steril mikropleyt
- Agaroz (Sigma, ABD)
- Buffer (Fermentas, Avrupa)
- Mg (Fermentas, Avrupa)
- dNTP (Fermentas, Avrupa)
- dH₂O (Fermentas, Avrupa)
- Taq polimeraz enzimi (Thermo Scientific Fermentas, Avrupa)
- Eosin Metilen-Blue Agar (EMB) (biEOMrieux, Fransa)
- DNA Ladder (100 bp, Fermentas, Avrupa)
- DNA Loding Dye (Hibrigen, Türkiye)
- AST identifikasyon kiti (bioMèrieux S. A., Fransa)
- AST-325 antimikrobiyal duyarlılık kiti (bioMèrieux S. A., Fransa)
- Etil Alkol (Merck, Almanya)
- Etidium Bromid (Sigma, ABD)
- Potasyum dihidrojen fosfat, KH₂PO₄ (Sigma, ABD)
- Proteinaz K (Sigma, ABD)
- Potasyum klorür, KCl (Sigma, ABD)
- Sodyum hidrojen fosfat, Na₂HPO₄ (Sigma, ABD)
- Sodyum klorür, NaCl (Sigma, ABD)
- TAE Elektroforez Tamponu (Tris Asetat Tamponu) 50X
- GF-1 Bacterial DNA Extraction Kit (Vivantis, ABD)

3.2. Örneklerin Toplanması ve Kültivasyon

Mustafa Kemal Üniversitesi Tıp Fakültesi Merkez laboratuvarına gelen hasta materyallerinden üreyen 190 adet Gram negatif bakteri uygun koşullarda toplandı. İzole edilen mikroorganizmaların identifikasyonu, Gram boyama, oksidaz ayırıcı, IMVIC testi ve biyokimyasal reaksiyonlar temeline dayanan otomatize Vitek-2 sistemi ile identifiye edildi. Tiplendirilen izolatlar istenilen sayıya ulaşıncaya kadar içerisinde %20 oranında gliserol (Merck, Almanya) bulunan buyyonda -70 °C'de muhafaza edildi.

Çizelge 3.1. Gram negatif bakteriler için, multiplex PCR’da kullanılan primer dizileri

| Genler | Primer dizisi (5’-3’) | Fragment boyutu (bp) | PCR Protokolü |
|-------------|---|----------------------|---------------|
| <i>cnf1</i> | F:5’-AAGATGGAGTTTCCTATGCAGGAG-3’ R:5’-CATTCAGAGTCCTGCCCTCATTATT-3’ | 498 | 94°C 4 dk |
| | | | 94°C 1dk |
| | | | 58°C 1dk 30x |
| | | | 72°C 1dk |
| | | | 72°C 10dk |
| <i>cnf2</i> | F:5’-GTGAGGCTCAACGAGATTATGCACTG-3’ R:5’-CCACGCTTCTTCTTCAGTTGTTCCCTC-3’ | 839 | 94°C 4 dk |
| | | | 94°C 1dk |
| | | | 58°C 1dk 30x |
| | | | 72°C 1dk |
| | | | 72°C 10dk |
| <i>pap</i> | F:5’-GCAACAGCAACGCTGGTTGCATCAT-3’ R:5’-AGAGAGAGCCACTCTTATACGGACA-3’ | 336 | 94°C 4 dk |
| | | | 94°C 1dk |
| | | | 58°C 1dk 30x |
| | | | 72°C 1dk |
| | | | 72°C 10dk |
| <i>aer</i> | F:5’-GCAACAGCAACGCTGGTTGCATCAT-3’ R:5’-AGAGAGAGCCACTCTTATACGGACA-3’ | 602 | 94°C 4 dk |
| | | | 94°C 1dk |
| | | | 58°C 1dk 30x |
| | | | 72°C 1dk |
| | | | 72°C 10dk |
| <i>afal</i> | F:5’-GCTGGGCAGCAAAGTATAACTCTC-3’ R:5’-CATCAAGCTGTTTGTTCGTCGCCG-3’ | 750 | 94°C 4 dk |
| | | | 94°C 1dk |
| | | | 58°C 1dk 30x |
| | | | 72°C 1dk |
| | | | 72°C 10dk |
| <i>sfa</i> | F:5’-CTCCGGAGAAGTGGGTGCATCTTAC-3’ R:5’-CGGAGGAGTAATTACAAACCTGGCA-3’ | 410 | 94°C 4 dk |
| | | | 94°C 1dk |
| | | | 58°C 1dk 30x |
| | | | 72°C 1dk |
| | | | 72°C 10dk |

| | | | |
|--------------------------------|---|------|--------------------------|
| <i>hly</i> | F:5'-AACAAAGGATAAGCACTGTTCTGGCT-3' R:5'-ACCATATAAGCGGTCATTCCCGTCA-3' | 1177 | 94°C 4 dk |
| | | | 94°C 1dk |
| | | | 58°C 1dk 30x 72°C 1dk |
| | | | 72°C 10dk |
| <i>bla_{TEM}</i> | F:5'-CATTTCCGTGTCGCCCTTATTC-3' R:5'-CGTTCATCCATAGTTCCTGAC-3' | 800 | 94°C 4 dk |
| | | | 94°C 1dk |
| | | | 58°C 1dk 30x 72°C 1dk |
| | | | 72°C 10dk |
| <i>bla_{OXA}</i> | F:5'-GGCACCAGATTCAACTTTCAAG-3' R:5'-GACCCCAAGTTTCTGTAAGTG-3' | 564 | 94°C 4 dk |
| | | | 94°C 1dk |
| | | | 58°C 1dk 30x 72°C 1dk |
| | | | 72°C 10dk |
| <i>bla_{SHV}</i> | F:5'-AGCCGCTTGAGCAAATTAAC-3' R:5'-ATCCCGCAGATAAATCACCCAC-3' | 713 | 94°C 4 dk |
| | | | 94°C 1dk |
| | | | 58°C 1dk 30x 72°C 1dk |
| | | | 72°C 10dk |
| <i>bla_{CTX-M-gp1}</i> | F:5'-TTAGGAARTGTGCCGCTGYA-3' R:5'-CGATATCGTTGGTGGTRCCAT-3' | 688 | 94°C 4 dk |
| | | | 94°C 1dk |
| | | | 58°C 1dk 30x 72°C 1dk |
| | | | 72°C 10dk |
| <i>bla_{CTX-M-gp2}</i> | F:5'-CGTTAACGGCACGATGAC-3' R:5'-CGATATCGTTGGTGGTRCCAT-3' | 404 | 94°C 4 dk |
| | | | 94°C 1dk |
| | | | 58°C 1dk 30x 72°C 1dk |
| | | | 72°C 10dk |
| <i>bla_{CTX-M-gp9}</i> | F:5'-TCAAGCCTGCCGATCTGGT-3' R:5'-TGATTCTCGCCGCTGAAG-3' | 561 | 94°C 4 dk |
| | | | 94°C 1dk |
| | | | 58°C 1dk 30x 72°C 1dk |
| | | | 72°C 10dk |



Şekil 3.1. PCR Cihazı (Thermal cycler, Techne FlexigeneTM, İngiltere)

3.3.Kullanılan Besiyerleri ve Solüsyonlar

3.3.1.Kanlı Agar

Ticari olarak toz halinde temin edilen kanlı agardan (bioMeurieux, Fransa) 40 gr tartılarak bidistile su ile 1000 ml'ye tamamlandı. Sterilizasyon işleminden sonra 45-50 °C'ye kadar soğutuldu. İçerisine %5.0 (v/v) oranında, steril şartlarda alınmış koyun kanı ilave edilip karıştırıldıktan sonra petri kutularına dağıtıldı.

3.3.2.Eosin Metilen-Blue Agar

Ticari olarak toz halde temin edilen EMB (biomrieux, Fransa) agardan 36 gr tartılarak bidistile su ile 1000 ml'ye tamamlandı. Otoklavda 121°C de 15 dakika sterilize edildikten sonra 9 cm çapında steril petri plaklarına döküldü. Besiyeri katılaştıktan sonra izolasyon ve identifikasyon için kullanıldı.

3.3.3.Mueller-Hinton Broth

Toz besiyeri (Merck, Almanya) 21 g/L olacak şekilde distile su içinde çözölerek uygun tüplere dağıtıldı sonra otoklavda 121 °C'da 15 dakika sterilize edildi.

3.3.4. Triptik Soy Buyyon

Ticari olarak temin edilen Triptik Soy Buyyon besiyeri (Tryptic Soy Broth, Merck Almanya) 3 gr tartılarak bidistile su ile 100 ml'ye tamamlandı. Otoklavda 121°C de 15 dakika sterilize edildi. Sterilazyondan sonra oda ısısında 30 dk bekletilen besiyerine 25 ml gliserol eklendi. Daha sonra 1'er ml olarak eppendorf tüplere porsiyonlanarak bakteri izolatlarının derin dondurucuda saklanması için kullanıldı.

3.3.5.Oksidaz ayıracı

EMB agarda üreyen koloni morfolojisi bakımından pseudomonas açısından şüpheli kolonilerden öze ile alınarak lam üzerinde kurutma kağıtlarına emdirilmiş oksidaz ayıracı ile muamele edildi. Muamaleden 3-5 dakika sonra mor renge dönüşüm oksidaz pozitif olarak değerlendirildi. Tür düzeyinde tiplendirme Vitek-2 cihazında otomatik sistemle yapıldı.

3.4.Genomik DNA Ekstraksiyonu

- Çalışma öncesi ilk olarak gliserollü Tryptic Soy Buyyon içinde -70 °C'de saklanan suşlar EMB'ye pasaj yapıldı ve 37°C'de 48 saat inkübe edildi.
- İnkübasyon sonunda saf olarak bulunan tek bir koloniden alınarak steril kapaklı santrifüj tüplerine 1-3 ml konulmuş olan Müller Hinton Broth besiyerine ekim yapıldı ve 37°C'de 48 saat inkübe edildi.
- İnkübasyon sonunda tüpler 3500 devirde 15 dakika santrifüj edildi.
- Santrifüj sonrasında süpernatant kısım döküldü.
- Tüplerde bulunan pelletin üzerine 1000 µl serum fizyolojik konuldu ve vorteks, pipetaj yapıldı.
- 6000 g'de 2dakika santrifüj yapıldı ve süpernatant kısım döküldü.
- Pellete 100 µl Buffer R1 eklendi ve hücrelerin tamamı pipetaj yapılarak resüspanse edildi.
- Hücre süspansiyonu içine 10 µl (50mg/ml) lizozim enzimi eklendi, vorteks yapıldı ve 37°C de 20 dakika inkübe edildi.
- 10.000g'de 3 dakika santrifüj edildi ve süpernatantın tamamı uzaklaştırıldı.
- Pellete 180 µl Buffer R2 resüspanse edildi ve 20 µl Proteinaz K eklendi. Vortekslendi. 65°C, 1000 rpm'de 20 dakika inkübe edildi.
- İnkübasyon sonunda tüplere 400 µl Buffer BG eklendi ve homojen bir solüsyon elde edilene kadar tüp birkaç kez alt üst edilerek iyice karıştırıldı. 65°C'de 10 dakika inkübe edildi.
- İnkübasyon sonunda tüplere 200µl %100'lük etil alkol eklendi ve hemen vortekslendi.
- Ependorf tüplerde bulunan bu karışım toplama tüpünün içine yerleştirilmiş spin kolona aktarıldı.
- 10.000 g'de 1 dakika santrifüj edildi. Sıvı içeren alttaki tüp atıldı ve kolon yeni bir toplama tüpüne yerleştirildi.
- 750 µl yıkama tamponu eklendi ve 10.000g'de 1 dakika santrifüj edildi. Toplama tüpündeki sıvı atıldı ve kolon tekrar aynı tüpe yerleştirildi.
- Kalan etanolu uzaklaştırmak için 10,000 g'de 1 dakika santrifüj edildi.
- Spin kolon 1.5 ml'lik bir mikrosantrifüj tüpe transfer edildi.
- Mikrosantrifüj tüpe transfer edilen spin kolon üzerine 50-100 µl 70°C'ye ısıtılmış Elution Buffer eklendi ve oda sıcaklığında 2 dakika inkübe edildi.

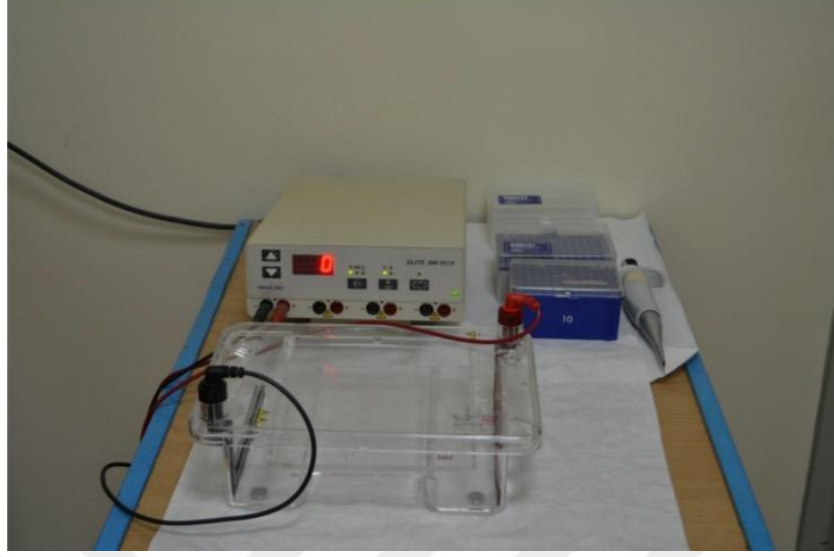
- 10,000g'de 1 dakika santrifüj edildi.
- Spin kolon atıldı ve mikrosantrifüj tüpünün içindeki elüsyon tamponunda genomik DNA elde edildi.
- DNA PCR çalışması yapıncaya kadar -20 °C kaldırıldı.

3.5. PCR Amplifikasyon

İzole edilen genomik DNA örneklerinden çizelge 1'deki primerler kullanılarak PCR amplifikasyonu yapıldı. Bu işlem öncesinde PCR reaksiyon karışımı hazırlandı. Buna göre, her hasta numunesi için bir ependorf tüpüne 36.8 µl distile su, 5 µl PCR buffer, 1 µl dNTP, µl Taq DNA polimeraz, 3 µl MgCl₂, 1 µl forward primer, 1 µl reverse primer konuldu. Karışım vortekslelendikten sonra üzerine 2 µl genomik DNA ilave edildi. Toplamda 50 µl bir hacim elde edildi ve her primer için yine tablo 1'deki amplifikasyon döngüleri uygulandı.

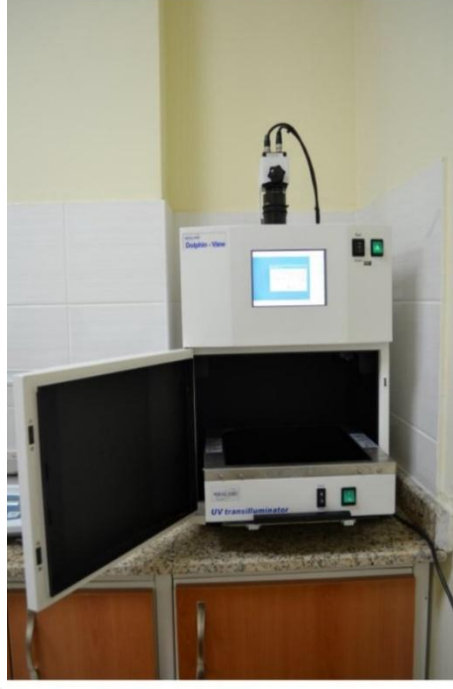
3.6. PCR Ürünlerinin Agaroz Jel Elektrofrez Tekniği ile Görüntülenmesi

PCR işleminden sonra amplifikasyon ürünlerinin varlığı %1.5'luk agaroz jelde yürütülerek araştırıldı. Agaroz jelin hazırlanmasında TBE tamponu kullanıldı. 10X TBE stok solüsyondan 1X TBE olacak şekilde distile su sulandırılarak kullanıldı. Ürünlerin görüntülenebilmesi için 1.5 gr agaroz tartılarak 100 ml'lik bir erlenmayere konuldu, 100 ml 1X TBE tamponu eklenerek 10 mg/ml'lik etidyum bromid'den 10 µl ilave edildi. Mikrodalga fırında 1-2 dk. kaynatıldı. Elektrofrez tarakları jel dökme kabına, tabanda 1mm boşluk kalacak şekilde ayarlanarak yerleştirildi. Yaklaşık 60 °C'ye kadar soğutulan agaroz jeli, jel kabına dökülüp donması için oda sıcaklığında 30 dk. beklenildi. Taraklar dikkatlice çıkartılarak jel kabı elektrofrez tankına (Wealtec, Elite 300 Plus, ABD) yerleştirildi (Resim 2).



Şekil 3.2. PCR ürünlerinin yürütüldüğü elektroforez ünitesi (Wealtec, Elite 300 Plus, ABD).

Amplifiye edilen örneklerden 7'şer μl , loading (yükleme) tamponundan 3 μl alınarak karıştırıldıktan sonra jelde açılan kuyucuklara yüklendi. Yükleme sırasında 100 bp'lik DNA marker kullanılmıştır. Jele elektrik akımı (15 Volt/cm) verilerek 30 dk. elektroforez yapıldı. Yaklaşık 30 dk. sonra yürütme işlemi durdurularak jel görüntüleme cihazı (Wealtec, Dolphin-View, ABD) ile bantların varlığı incelendi (Resim 3,4,5).



Şekil 3.3. Jel elektroforez sonrası PCR ürünleri görüntüleme cihazı (Wealtec Dolphin-View, ABD, UV Transilluminator)

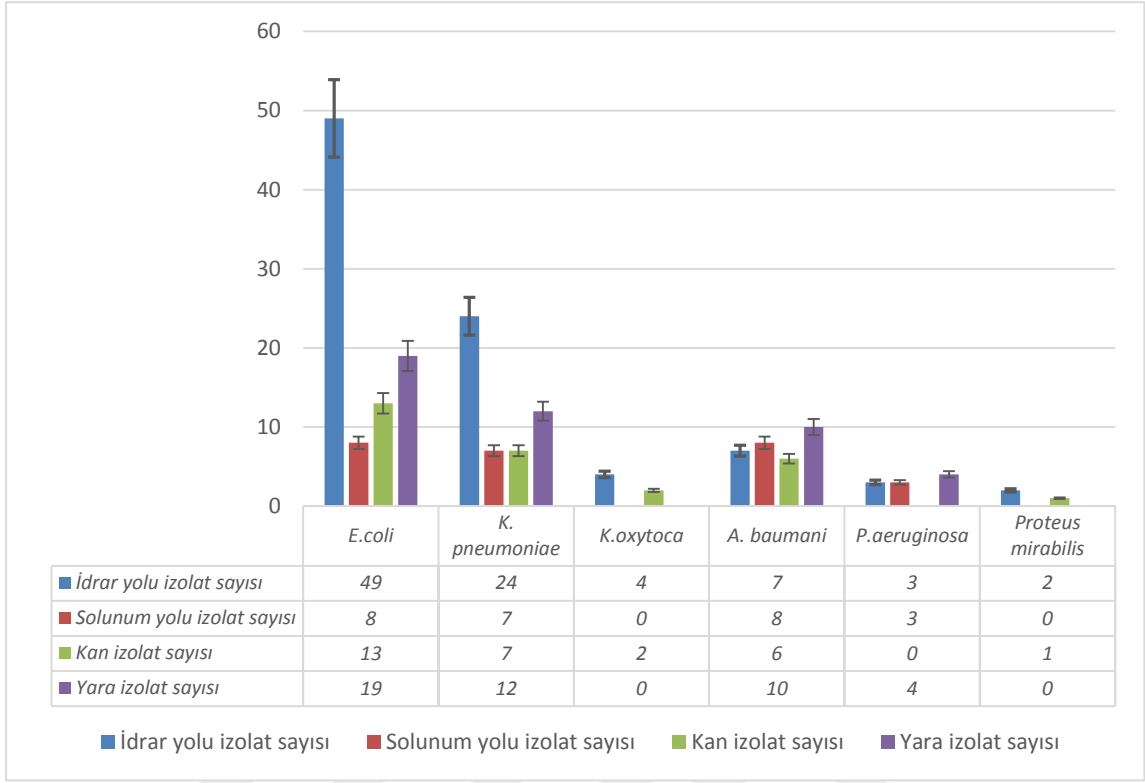
3.7. İstatiksel Analiz

Çalışmada tüm veriler x2 testi ile analiz edildi. P değeri $< .05$ anlamlı kabul edildi. İstatiksel analizler SPSS (Statistical Package for Social Sciences, SPSS1 for Windows V. 17.0, Chicago, ABD) programı kullanılarak yapıldı.

4.BULGULAR

Çalışmaya dahil edilen numunelerin %46.8'i (89/190) idrar, %23.6'sı (45/190) yara, %15.2'si (29/190) kan ve %13.6'sı (26/190) solunum yolu örneği idi. İzole edilen idrar örneklerinin %55.05'i (49/89) *E. coli*, %48'i (24/89) *K. pneumoniae*, %66.6'sı (4/89) *K. oxytoca*, %22.5'i (7/89) *Acinetobacter baumannii*, %27.2'si (3/89) *P. aeruginosa*, %66.6'sı (2/89) *Proteus mirabilis* kökenleri idi.

Solunum yolu örneklerinden %30.7 (8/26) oranında *E. coli*, %26.9 (7/26) oranında *K. pneumoniae*, %30.7 (8/26) oranında *Acinetobacter baumannii*, %11.5 (3/26) oranında *P. aeruginosa* suşları izole edilmiştir. Solunum yolu örneklerinden *K. oxytoca* ve *Proteus mirabilis* suşları izole edilmemiştir. Kan kültürü örneklerinden %44.8 (13/29) oranında *E. coli*, %24.1 (7/29) oranında *K. pneumoniae*, %6.8 (2/29) oranında *K. oxytoca*, %20.6 (6/29) oranında *Acinetobacter baumannii*, %3.4 (1/29) oranında *Proteus mirabilis* izole edilmiştir. Yara örneklerinden ise %42.2 (19/45) oranında *E. coli*, %26.6 (12/45) oranında *K. pneumoniae*, %22.2 (10/45) oranında *Acinetobacter baumannii* suşları izole edilmiştir.



Şekil 4.1. Numune tipine göre izolatların dağılımı.

Çizelge 4.1. *E. coli*, *K. pneumoniae*, *K. oxytoca*, *A. baumannii*, *P. aeruginosa* ve *Proteus mirabilis* izolatlarının sayı, cinsiyet, ırk'a göre dağılımı.

| İzolat türü | Sayı (n) (%) | Erkek (n) (%) | Kadın (n) (%) | Türk hasta (n) (%) | Suriyeli Hasta (n) (%) |
|--------------------------|--------------|---------------|---------------|--------------------|------------------------|
| <i>E. coli</i> | 89 (46,8) | 39 (43,8) | 50 (56,1) | 53 (59,5) | 36 (40,4) |
| <i>K. pneumoniae</i> | 50 (26,3) | 13 (26) | 37 (74) | 30 (60) | 20 (40) |
| <i>K. oxytoca</i> | 6 (3,15) | 5 (83,3) | 1 (16,6) | 3 (50) | 3 (50) |
| <i>A. baumannii</i> | 31 (16,3) | 23 (74,1) | 8 (25,8) | 12 (38,7) | 19 (61,2) |
| <i>P. aeruginosa</i> | 11 (5,7) | 6 (54,5) | 5 (45,45) | 5 (45,5) | 6 (54,5) |
| <i>Proteus mirabilis</i> | 3 (1,5) | 2 (66,6) | 1 (33,3) | 0 | 3 (100) |
| Toplam | 190 | 87 | 102 | 103 | 87 |

Çizelge 4.1’de görüldüğü gibi izolatların %54.2’si (103/190) Türk hastalardan, %45.7’si(87/190) Suriye uyruklu hastalardan izole edilmiştir. Çalışmaya alınan izolatların %45.7’si (87/190) erkek, %54.2’si (103/190) kadın hastalardan izole edilmiştir. Çalışmaya dahil edilen suşların %46.8’si (89/190) *E. coli*, %26.3’ü (50/190) *K. pneumoniae*, %3.15’i (6/190) *K. oxytoca*, %16.3’ü (31/190) *Acinetobacter baumannii*, %5.7’si (11/190) *P. aeruginosa*, %1.5’i (3/190) *Proteus mirabilis* izolatlarından oluşmaktaydı.

Çizelge 4.2. Mikroorganizmaların izole edildiği birimlere göre dağılımı.

| Birim | Sayı ve % |
|-----------------------|-----------|
| Üroloji | 38 (%20) |
| Dahiliye | 19 (%10) |
| Yoğun bakım üniteleri | 57 (%30) |
| Enfeksiyon | 18 (%9,4) |
| Göğüs hastalıkları | 18 (%9,4) |
| Kulak-Burun-Boğaz | 13 (%6,8) |
| Pediatri | 15 (%7,8) |
| Genel cerrahi | 12 (%6,3) |
| Toplam | 190 |

Çizelge 4.2’de çalışmada izole edilen mikroorganizmaların izole edildiği servis, bölüm ve yoğun bakım ünitelerine göre dağılımı görülmektedir. Çalışmada en yüksek oranda Gram negatif bakterinin izole edildiği birimin yoğun bakım üniteleri (%30; 57/190) olduğu görülürken, bunu üroloji (%20; 38/190) bölümünün takip ettiği tespit edilmiştir. Bunun dışında kalan birimlerden izole edilen mikroorganizma oranlarının ise %6.3 ile 10 arasında değiştiği tespit edilmiştir.

Çizelge 4.3. *E. coli* izolatlarının antibiyotiklere karşı MİK ($\mu\text{g/ml}$) değerleri.

| Antimikrobiyal ajanlar | MİK Değerleri | | | | | | | | | | |
|---------------------------------|---------------|-----------|-----------|-----------|----------|----|----|----------|------------|-------------|-------------|
| | ≥ 128 | ≥ 64 | ≥ 32 | ≥ 16 | ≥ 8 | 4 | 2 | $1 \geq$ | $0,5 \geq$ | $0,25 \geq$ | $0,12 \geq$ |
| Ampisilin | - | - | 61 | 10 | 8 | 6 | 4 | - | - | - | - |
| Ampisilin/Klavulonik asit | - | - | 47 | 17 | 16 | 7 | 2 | - | - | - | - |
| Piperasilin/Tazobaktam | 20 | 9 | 10 | 5 | 12 | 33 | - | - | - | - | - |
| Sefuroksim Aksetil | - | 53 | 5 | - | 8 | 23 | - | - | -- | - | - |
| Seftazidim | - | 15 | 20 | - | 11 | 6 | - | 2 | 13 | 4 | 18 |
| Seftriakson | - | 50 | - | 9 | 7 | - | - | - | 6 | 17 | - |
| Sefepim | - | - | 21 | 15 | 8 | 3 | 5 | 4 | 3 | 2 | 28 |
| Ertapenem | - | - | - | - | 5 | - | 2 | 1 | - | 9 | 73 |
| Meropenem | - | - | - | 3 | - | 3 | - | 2 | - | 81 | - |
| Amikasin | - | 3 | 4 | 6 | 3 | 8 | 65 | - | - | - | - |
| Gentamisin | - | - | - | 41 | 5 | - | 3 | 40 | - | - | - |
| Siprofloksasin | - | - | - | - | - | 60 | 4 | 3 | 9 | 13 | - |
| Tigesiklin | - | - | - | - | - | 3 | 5 | 4 | 77 | - | - |
| Kolistin | - | - | - | - | 30 | - | - | - | 59 | - | - |
| Trimetoprim/ sülfametaksazol | 55 | - | - | 34 | - | - | - | - | - | - | - |

Çizelge 4.3’de görüldüğü gibi *E. coli* izolatlarında en yüksek MİK değerinin Trimetoprim/ sülfametaksazol ve Piperasilin/Tazobaktam’a karşı elde edildiği tespit edilirken, ertapenem, meropenem, tigesiklin ve kolistine karşı MİK değerlerinin 0.5-0.12 µg/ml aralığında olduğu tespit edilmiştir.



Çizelge 4.4. *K. pneumoniae* izolatlarının antibiyotiklere karşı MİK (µg/ml) değerler

| Antimikrobiyal Ajanlar | MİK Değerleri | | | | | | | | | | |
|---------------------------------|---------------|------|------|------|-----|----|----|-----|-------|--------|--------|
| | ≥ 128 | ≥ 64 | ≥ 32 | ≥ 16 | ≥ 8 | 4 | 2 | 1 ≥ | 0,5 ≥ | 0,25 ≥ | 0,12 ≥ |
| Ampisilin | | | 40 | 10 | | | | | | | |
| Ampisilin/Klavulonik asit | | | 20 | 12 | 8 | 6 | 4 | | | | |
| Piperasilin/Tazobaktam | 18 | 3 | 5 | 4 | 9 | 11 | | | | | |
| Sefuroksim Aksetil | | 22 | 1 | 2 | 1 | 5 | 10 | 9 | | | |
| Seftazidim | | 19 | 10 | 1 | 1 | 1 | 2 | 2 | 1 | 2 | 11 |
| Seftriakson | | 28 | 5 | 9 | 2 | | | | | 13 | 2 |
| Sefepim | | | 26 | | 4 | | 2 | 1 | 1 | 3 | 13 |
| Ertapenem | | | | | 8 | | 2 | | 1 | 6 | 33 |
| Meropenem | | | | 6 | 2 | | 2 | | 40 | | |
| Amikasin | | 7 | 2 | 1 | 1 | 3 | 36 | | | | |
| Gentamisin | | | | 19 | | | 4 | 27 | | | |
| Siprofloksasin | | | | | | 18 | 5 | 6 | 11 | 10 | |
| Tigesiklin | | | | | 5 | 3 | 7 | 15 | 20 | | |
| Kolistin | 1 | | | 3 | 2 | | 6 | 14 | 17 | 5 | 2 |
| Trimetoprim/ sülfametaksazol | 20 | 2 | 3 | 25 | | | | | | | |

Çizelge 4.4'de de görüldüğü gibi *E. coli* izolatlarına benzer şekilde *Klebsiella pneumoniae* kökenlerinde de en yüksek MİK değerinin Trimetoprim/ sülfametaksazol ve Piperasilin/Tazobaktam'a karşı elde edildiği tespit edilirken, ertapenem ve meropenem karşı MİK değerlerinin 0.5-0.12 µg/ml aralığında olduğu tespit edilmiştir.



Çizelge 4.5. *K. oxytoca* izolatlarının antibiyotiklere karşı MİK ($\mu\text{g/ml}$) değerleri.

| Antimikrobiyal ajanlar | MİK Değerleri | | | | | | | | | | |
|------------------------------|---------------|-----------|-----------|-----------|----------|---|---|----------|------------|-------------|-------------|
| | ≥ 128 | ≥ 64 | ≥ 32 | ≥ 16 | ≥ 8 | 4 | 2 | $1 \geq$ | $0,5 \geq$ | $0,25 \geq$ | $0,12 \geq$ |
| Ampisilin | | | 6 | 10 | | | | | | | |
| Ampisilin/Klavulonik asit | | | 5 | 1 | | | | | | | |
| Piperasilin/Tazobaktam | 3 | 2 | | 1 | | | | | | | |
| Sefuroksim Aksetil | | 4 | | 1 | | 1 | | | | | |
| Seftazidim | | 4 | | 2 | | | | | | | |
| Seftriakson | | 3 | | | | | | | | | 3 |
| Sefepim | | | 4 | | | | 2 | | | | |
| Ertapenem | | | | | | | | 1 | | 2 | 3 |
| Meropenem | | | | | | | | | | 6 | |
| Amikasin | | | | | | 3 | 3 | | | | |
| Gentamisin | | | | 5 | | | | 1 | | | |
| Siprofloksasin | | | | | | 4 | 1 | 1 | | | |
| Tigesiklin | | | | | 1 | | 2 | 3 | | | |
| Kolistin | | | | | | | | 1 | 4 | 1 | |
| Trimetoprim/ sülfametaksazol | 5 | | 1 | | | | | | | | |

Çizelge 4.5’de *K. oxytoca* izolatlarında en düşük MİK değerlerinin ertapenem, meropenem ve kolistine (0.5-0.12 µg/ml) karşı elde edildiği tespit edilirken, yüksek MİK değerleri ampisilin, ampisilin/klavulonik asit, trimetoprim/ sülfametaksazol ve piperasilin/tazobaktam (64-128 µg/ml)’a karşı elde edilmiştir.

Çizelge 4.6. *Acinetobacter baumannii* izolatlarının antibiyotiklere karşı MİK (µg/ml) değerleri.

| Antimikrobiyal ajanlar | MİK Değerleri | | | | | | | | | |
|---------------------------------|---------------|------|-----|------|------|----|-------|-------|----|------|
| | ≥ 128 | ≥ 64 | ≥ 4 | ≥ 16 | ≥ 32 | 2 | 0,5 ≥ | ≥ 320 | 8 | 20 ≥ |
| Piperasilin/Tazobaktam | 31 | | | | | | | | | |
| Seftazidim | | 31 | | | | | | | | |
| Sefepim | | 15 | | | 16 | | | | | |
| Meropenem | | | | 31 | | | | | | |
| Amikasin | | 25 | | | | | | | 6 | |
| Gentamisin | | | 10 | 11 | | | | | 10 | |
| Siprofloksasin | | | 31 | | | | | | | |
| Tigesiklin | | | 15 | | | 16 | | | | |
| Kolistin | | | | | | | 31 | | | |
| Trimetoprim/ sülfametaksazol | | | | | | | | 14 | 17 | |
| İmipenem | | | 10 | 21 | | | | | | |

Acinetobacter baumannii kökenlerinden en yüksek MİK değerleri Piperasilin/Tazobaktam (128 mg/ml), seftazidim, sefepim ve amikasin'e karşı (64 mg/ml)'a karşı elde edilirken, en düşük MİK oranları Trimetoprim/ sülfametaksazol, gentamisin ve amikasin'e karşı tespit edilmiştir.

Çizelge 4.7. *P. aeruginosa* izolatlarının antibiyotiklere karşı MİK ($\mu\text{g/ml}$) değerleri.

| Antimikrobiyal ajanlar | MİK Değerleri | | | | | | | | | |
|---------------------------------|---------------|---|---|-------------|-----------|----------|----------|------------|------------|-----------|
| | 1 | 2 | 8 | $0,25 \geq$ | ≥ 16 | ≥ 4 | ≥ 8 | $0,5 \geq$ | ≥ 320 | ≥ 64 |
| Piperasilin/Tazobaktam | 6 | | 5 | | | | | | | |
| Seftazidim | | 3 | | | | 6 | | | | 2 |
| Sefepim | 3 | | 8 | | | | | | | |
| Meropenem | | | | 2 | 9 | | | | | |
| Amikasin | | | 7 | | | | | | | 4 |
| Gentamisin | | | | | 11 | | | | | |
| Siprofloksasin | | | | 4 | 4 | 3 | | | | |
| Tigesiklin | | | | | | 3 | 8 | | | |
| Kolistin | | | | | | | 9 | 2 | | |
| Trimetoprim/ sülfametaksazol | | | | | | | | 2 | 9 | |
| İmipenem | | 8 | | | 3 | | | | | |

Çalışmada sınırlı sayıda *P. aeruginosa* izolatı çalışılmış olup MİK aralığının dağılım gösterdiği tespit edilmiştir.

Çizelge 4.8. *Proteus mirabilis* izolatlarının antibiyotiklere karşı MİK (µg/ml) değerleri.

| Antimikrobiyal ajanlar | MİK Değerleri | | | | | | | | | | | | |
|-----------------------------|---------------|------|-----|-----|-----|---|---|-----|-----|------|------|--------|----|
| | ≥ 32 | ≥ 64 | 4 ≥ | ≥ 4 | 1 ≥ | 4 | 2 | 0,5 | 2 ≥ | ≥ 16 | ≥320 | 0,12 ≥ | 16 |
| Ampisilin | 3 | | | | | | | | | | | | |
| Ampisilin/Klavulonik asit | | | | | | | | | | | | | 3 |
| Piperasilin/Tazobaktam | | | 3 | | | | | | | | | | |
| Seftazidim | | | | | | | | 2 | | | | 1 | |
| Sefepim | | | | | | | | | | | | 1 | 2 |
| İmipenem | | | | | | | | | | | | | |
| Meropenem | | | | | | | | 3 | | | | | |
| Amikasin | | | | | | | 3 | | | | | | |
| Gentamisin | | | | | 3 | | | | | | | | |
| Siprofloksasin | | | | | | | | | | | | | |
| Tigesiklin | | | | | | 3 | | | | | | | |
| Kolistin | | | | | | | | | | 3 | | | |
| Trimetoprim/sülfametaksazol | | | | | | | | | | | 3 | | |
| Sefuroksim | | 3 | | | | | | | | | | | |
| Ertapenem | | | | | | | | | | | | 3 | |

Çizelge 4.9. *E. coli*, *K. pneumoniae*, *K. oxytoca*, *Proteus mirabilis* izolatlarının antimikrobiyal direnç profilleri.

| Antimikrobiyal ajanlar | <i>E. coli</i> n=89 (%) | | | <i>K. pneumoniae</i> n=50 (%) | | | <i>K. oxytoca</i> n=6 (%) | | | <i>Proteus mirabilis</i> n=3 (%) | | |
|---------------------------------|-------------------------|--------|--------|-------------------------------|--------|--------|---------------------------|--------|--------|----------------------------------|--------|--------|
| | S n(%) | I n(%) | R n(%) | S n(%) | I n(%) | R n(%) | S n(%) | I n(%) | R n(%) | S n(%) | I n(%) | R n(%) |
| Ampisilin | 12 | | 77 | 50 | | | | | 6 | | | 3 |
| Ampisilin/Klavulonik asit | 25 | 17 | 47 | 50 | | | | | 6 | 3 | | |
| Piperasilin/Tazobaktam | 35 | 33 | 21 | 21 | 5 | 24 | 1 | | 5 | | | 3 |
| Sefuroksim Aksetil | 23 | | 66 | 24 | 1 | 25 | 1 | 1 | 4 | 2 | 1 | |
| Seftazidim | 35 | 11 | 43 | 19 | 1 | 30 | | | 6 | 2 | | 1 |
| Seftriakson | 23 | 7 | 59 | 15 | 2 | 33 | 3 | | 3 | 2 | | 1 |
| Sefepim | 33 | 12 | 44 | 20 | 4 | 26 | 2 | | 4 | 2 | 1 | |
| Ertapenem | 82 | 2 | 5 | 40 | | 10 | 6 | | | 2 | 1 | |
| Meropenem | 83 | 3 | 3 | 42 | | 8 | 6 | | | 2 | 1 | |
| Amikasin | 7 | 9 | 73 | 39 | | 11 | 6 | | | 2 | | 1 |
| Gentamisin | 43 | | 46 | 27 | | 19 | 1 | | 5 | 2 | 1 | |
| Siprofloksasin | 25 | | 64 | 23 | | 27 | 6 | | | 2 | 1 | |
| Tigesiklin | 86 | 3 | | 42 | 3 | 5 | 6 | | | 2 | | 1 |
| Kolistin | 59 | | 30 | 44 | 5 | 1 | 6 | | | 2 | 1 | |
| Trimetoprim/ sülfametaksazol | 40 | | 49 | 28 | | 22 | 1 | | 5 | 2 | 1 | |

Çizelge 4.9’da görüldüğü gibi *E. coli* izolatları en yüksek oranda ampisiline (%86.5; 77/89) direnç gösterirken, genel olarak diğer antimikrobiyallere de yüksek oranlarda direnç görüldüğü tespit edilmiştir. *E. coli* izolatlarının tamamı kolistine ve tigesikline karşı duyarlı bulunmuştur.

K. pneumoniae izolatlarında %2 (1/50) oranında kolistine direnci tespit edilirken, *K. oxytoca* suşlarının tamamı ertapenem, meropenem, amikasin, siprofloksasin, tigesiklin ve kolistine duyarlı bulunmuştur. Bu kökenlerde ampisilin ve ampisilin/klavulonik asite direnç tüm izolatlarda tespit edilmiştir.

Proteus mirabilis izolatlarının ise tamamı ampisiline ve piperasilin/tazobaktama karşı dirençli bulunmuştur.

Çizelge 4.10. *Acinetobacter baumannii* ve *P. aeruginosa* izolatlarının antimikrobiyal direnç profilleri.

| Antimikrobiyal ajanlar | <i>Acinetobacter baumannii</i> | | | <i>P. aeruginosa</i> | | |
|-----------------------------|--------------------------------|--------|------------|----------------------|-----------|-----------|
| | S n(%) | I n(%) | R n(%) | S n(%) | I n(%) | R n(%) |
| Piperasilin/Tazobaktam | | | 31 (100) | 5 (45,4) | 6 (54,5) | |
| Seftazidim | | | 31 (100) | 9 (81,8) | | 2 (18,18) |
| Sefepim | 16 (51,6) | | 15 (48,3) | 8 (72,7) | 3 (27,27) | |
| Meropenem | | | 31 (100) | 2 (18,18) | | 9 (81,8) |
| Amikasin | 6 (19,3) | | 25 (80,6) | 7 (63,6) | | 4 (36,3) |
| Gentamisin | 10 (32,2) | | 21 (67,7) | | | 11 (100) |
| Siprofloksasin | | | 31 (100) | 4 (36,3) | | 7 (63,6) |
| Tigesiklin | 16 (51,6) | | 15 (48,3) | 8 (72,7) | | 3 (27,27) |
| Kolistin | 31 (100) | | | 11 (100) | | |
| Trimetoprim/sülfametaksazol | 17 (54,8) | | 14 (45,16) | 2 (18,18) | | 9 (81,8) |
| İmipenem | | | 31 (100) | 8 (72,7) | | 3 (27,27) |

Çizelge 4.10'da görüldüğü gibi *Acinetobacter baumannii* suşlarının tümünün piperasilin/tazobaktam, seftazidim, meropenem, siprofloksasin ve imipenem karşı dirençli olduğu tespit edilirken, kolistine karşı direnç yoktur.

Benzer şekilde *P. aeruginosa* suşlarının tamamı kolistine karşı duyarlı iken, Trimetoprim/ sülfametaksazol ve gentamisin direnci en yüksek düzeyde tespit edilmiştir.



Çizelge 4.11. Türk Hasta izolatlarının antimikrobiyal duyarlılık dağılımı

| Antimikrobiyal ajanlar | Türk Hastalar, n=103 | | | | | | | | | | | | | | |
|---------------------------|----------------------------|--------------|---------------|----------------------------------|------------|--------------|------------------------------|-----------|-------------|--|-----------|-------------|---------------------------------|-----------|-----------|
| | <i>E. coli</i> n=53 (%) | | | <i>K. pneumoniae</i> n=30 (%) | | | <i>K. oxytoca</i> n=3 (%) | | | <i>Acinetobacter baumannii</i> n=12 (%) | | | <i>P. aeruginosa</i> n=5 (%) | | |
| | S n(%) | I n(%) | R n(%) | S n(%) | I n(%) | R n(%) | S n(%) | I n(%) | R n(%) | S n(%) | I n(%) | R n(%) | S n(%) | I n(%) | R n(%) |
| Ampisilin | 3 (5,6) | | 50 (94) | 30 (100) | | | | | 3 (100) | | | | | | |
| Ampisilin/Klavulonik asit | 20 (37,7) | 3 (5,6) | 30 (56,6) | 30 (100) | | | | | 3 (100) | | | | | | |
| Piperasilin/Tazobaktam | 27 (50,9) | 15 (28,3) | 11 (20,7) | 11 (36,6) | 1 (3,3) | 18 (60) | 1 (33,3) | | 2 (66,6) | | | 12 (100) | 3 (60) | 2 (40) | |
| Sefuroksim Aksetil | 21 (39,6) | | 32 (60,3) | 14 (46,6) | | 16 (53,3) | 1 (33,3) | | 2 (66,6) | | | | | | |
| Seftazidim | 31 (58,4) | 4 (7,5) | 18 (15,09) | 15 (50) | | 15 (50) | | | 3 (100) | | | 12 (100) | 4 (80) | | 1 (20) |
| Seftriakson | 20 (37,7) | 3 (5,6) | 30 (56,6) | 10 (33,3) | 1 (3,3) | 19 (63,3) | 2 (66,6) | | 1 (33,3) | | | | | | |
| Sefepim | 30 (56,6) | 7 (13,2) | 16 (30,1) | 18 (60) | 1 (3,3) | 11 (36,6) | 2 (66,6) | | 1 (33,3) | 7 (58,3) | | 5 (41,6) | 3 (60) | 2 (40) | |
| Ertapenem | 52 (98,11) | | 1 (1,8) | 25 (83,3) | | 5 (16,6) | 3 (100) | | | | | | | | |
| Meropenem | 53 (100) | | | 30 (100) | | | 3 (100) | | | | | 12 (100) | 2 (40) | | 3 (60) |

| | | | | | | | | | | | | | | | |
|---------------------------------|---------------|-------------|---------------|--------------|--------------|------------|-------------|--|-------------|--------------|-----------|-------------|-----------|------------|-----------|
| Amikasin | 6 (11,3) | 3 (5,6) | 44 (83,01) | 28 (93,3) | | 2 (6,6) | 3 (100) | | | 5 (41,6) | | 7 (58,3) | 4 (80) | | 1 (20) |
| Gentamisin | 35 (66,03) | | 18 (33,9) | 18 (60) | | 12 (40) | 1 (33,3) | | 2 (66,6) | 8 (66,6) | | 4 (33,3) | | | |
| Siprofloksasin | 23 (43,3) | 30 (5,6) | 17 (56,6) | 13 (43,3) | | | 3 (100) | | | 12 (100) | 3 (60) | | 2 (40) | | |
| Tigesiklin | 51 (94,2) | 2 (3,7) | | 29 (96,6) | 1 (3,3) | | | | 3 (100) | 10 (83,3) | | 2 (16,6) | 3 (60) | | 2 (40) |
| Kolistin | 40 (75) | | 13 (24,5) | 30 (100) | | | | | 3 (100) | 12 (100) | | | | 5 (100) | |
| Trimetoprim/ sülfametaksazol | 30 (5,6) | | 23 (43,3) | 20 (66,6) | 10 (33,3) | | 1 (33,3) | | 2 (66,6) | 10 (83,3) | | 2 (16,6) | 2 (40) | | 3 (60) |

Çizelge 4.12. Suriyeli hasta izolatlarının antimikrobiyal duyarlılık dağılımı

| Antimikrobiyal ajanlar | Suriyeli Hastalar, n=87 | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
|---------------------------|----------------------------|-----------|-----------|----------------------------------|-----------|-----------|------------------------------|-----------|-----------|--|-----------|-----------|---------------------------------|-----------|-----------|-------------------------------------|-----------|-----------|----------|
| | <i>E. coli</i> n=36 (%) | | | <i>K. pneumoniae</i> n=20 (%) | | | <i>K. oxytoca</i> n=3 (%) | | | <i>Acinetobacter baumannii</i> n=19 (%) | | | <i>P. aeruginosa</i> n=6 (%) | | | <i>Proteus mirabilis</i> n=3 (%) | | | |
| | S n(%) | I n(%) | R n(%) | S n(%) | I n(%) | R n(%) | S n(%) | I n(%) | R n(%) | S n(%) | I n(%) | R n(%) | S n(%) | I n(%) | R n(%) | S n(%) | I n(%) | R n(%) | |
| Ampisilin | 9 (25) | | 27 (75) | 20 (100) | | | | | 3 (100) | | | | | | | | | 3 (100) | |
| Ampisilin/Klavulonik asit | 5 (13,8) | 14 (38,8) | 17 (47,2) | 20 (100) | | | | | 3 (100) | | | | | | | | | 3 (100) | |
| Piperasilin/Tazobaktam | 8 (22,2) | 18 (50) | 10 (27,7) | 10 (50) | 4 (20) | 6 (30) | | | 3 (100) | | | 19 (100) | 2 (33,3) | 4 (66,6) | | | | 3 (100) | |
| Sefuroksim Aksetil | 2 (5,5) | | 34 (94,4) | 10 (50) | 1 (5) | 9 (45) | | 1 (33,3) | 2 (66,6) | | | | | | | | | 2 (66,6) | 1 (33,3) |
| Seftazidim | 4 (11,1) | 7 (19,4) | 25 (69,4) | 4 (20) | 1 (5) | 15 (75) | | | 3 (100) | | | 19 (100) | 5 (83,3) | | 1 (16,6) | 2 (66,6) | | 1 (33,3) | |
| Seftriakson | 3 (8,3) | 4 (11,11) | 29 (80,5) | 5 (25) | 1 (5) | 14 (70) | 1 (33,3) | | 2 (66,6) | | | | | | | | | 2 (66,6) | 1 (33,3) |
| Sefepim | 3 (8,3) | 5 (13,8) | 28 (77,7) | 2 (10) | 3 (15) | 15 (75) | | | 3 (100) | 9 (47,3) | | 10 (52,6) | 5 (83,3) | 1 (16,6) | | | | 2 (66) | 1 (33,3) |
| Ertapenem | 30 (83,3) | 2 (5,5) | 4 (11,1) | 15 (75) | | 5 (25) | 3 (100) | | | | | | | | | | | 2 (66,6) | 1 (33,3) |
| Meropenem | 30 (83,3) | 3 (8,3) | 3 (8,3) | 12 (60) | | 8 (40) | 3 (100) | | | | | 19 (100) | | | 6 (100) | 2 (66,6) | 1 (33,3) | | |
| Amikasin | 1 (2,7) | 6 (16,6) | 29 (80,5) | 11 (55) | | 9 (45) | 3 (100) | | | | | 1 (5,2) | | 18 (94,7) | 3 (50) | | 3 (50) | 2 (66,6) | 1 (33,3) |

| | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
|---------------------------------|--------------|---------|--------------|------------|-----------|------------|------------|--|------------|-------------|--|--------------|-------------|--|-------------|-------------|-------------|-------------|
| Gentamisin | 8 (22,2) | | 28 (77,7) | 9 (45) | | 11 (55) | | | 3 (100) | 2 (10,5) | | 17 (89,4) | | | 2 (66,6) | 1 (33,3) | | |
| Siprofloksasin | 2 (5,5) | | 34 (94,4) | 6 (30) | | 14 (70) | 3 (100) | | | | | 19 (100) | 1 (16,6) | | 5 (83,3) | 2 (66,6) | 1 (33,3) | |
| Tigesiklin | 35 (97,2) | 1 (2,7) | | 13 (65) | 2 (10) | 5 (25) | 3 (100) | | | 6 (31,5) | | 13 (68,4) | 5 (83,3) | | 1 (16,6) | 2 (66,6) | | 1 (33,3) |
| Kolistin | 19 (52,7) | | 17 (47,2) | 14 (70) | 5 (25) | 1 (5) | 3 (100) | | | 19 (100) | | | 6 (100) | | | 2 (66,6) | 1 (33,3) | |
| Trimetoprim/ sülfametaksazol | 10 (27,7) | | 26 (72,2) | 8 (40) | | 12 (60) | | | 3 (100) | 7 (36,8) | | 12 (63,1) | | | 6 (100) | 2 (66,6) | 1 (33,3) | |

Çizelge 4.11 ve 4.12’de Türk ve Suriyeli hastalardan izole edilen *E. coli*, *K. pneumoniae*, *K. oxytoca*, *A. baumannii*, *P. aeruginosa* ve *Proteus mirabilis* suşlarının antibiyotik direnç profilleri karşılaştırılmıştır. Çizelgede görüldüğü gibi *E. coli* suşlarının Türk hasta izolatlarında ampisilin direnci %94 (50/53) iken, Suriye uyruklu hasta izolatlarında %75 (27/36)’tir. Bu iki grup arasında anlamlı derecede fark tespit edilmiştir ($p<0.05$). Diğer suşlarda ampisilin duyarlılık oranları Türk ve Suriye uyruklu hasta izolatlarında birbirlerine oldukça yakın oranlarda bulunmuştur.

Çizelge 4.13. Türk hasta İzolatlarında *bla_{SHV}*, *bla_{OXA}*, *bla_{TEM}*, *bla_{CTX-M-gp9}*, *bla_{CTX-M-gp2}*, *bla_{CTX-M-gp1}* beta laktamaz genlerinin dağılımı.

| İzolat Türleri | <i>bla_{SHV}</i> pozitiflik sayısı n (%) | <i>bla_{OXA}</i> pozitiflik sayısı n (%) | <i>bla_{TEM}</i> pozitiflik sayısı n (%) | <i>bla_{CTX-M-gp9}</i> pozitiflik sayısı n (%) | <i>bla_{CTX-M-gp2}</i> pozitiflik sayısı n (%) | <i>bla_{CTX-M-gp1}</i> pozitiflik sayısı n (%) |
|------------------------------|---|---|---|---|---|---|
| <i>E. coli</i> n=53 | 40 (75,4) | 17 (32,07) | 3 (5,6) | 8 (15,9) | 1 (1,8) | 27 (50,9) |
| <i>K. pneumoniae</i> n=30 | 23 (76,6) | 8 (26,6) | | 9 (30) | | 13 (43,3) |
| <i>K. oxytoca</i> n=3 | 1 (33,3) | 1 (33,3) | | | | 1 (33,3) |
| <i>A. Baumannii</i> n=12 | 8 (66,6) | 1 (8,3) | 1 (8,3) | 4 (33,3) | | 3 (25) |
| <i>P. aeruginosa</i> n=5 | 3 (60) | | | 1 (20) | | |

Çizelge 4.14. Suriyeli hasta İzolatlarında *bla_{SHV}*, *bla_{OXA}*, *bla_{TEM}*, *bla_{CTX-M-gp9}*, *bla_{CTX-M-gp2}*, *bla_{CTX-M-gp1}* beta laktamaz genlerinin dağılımı.

| İzolat Türleri | <i>bla_{SHV}</i> pozitiflik sayısı n (%) | <i>bla_{OXA}</i> pozitiflik sayısı n (%) | <i>bla_{TEM}</i> pozitiflik sayısı n (%) | <i>bla_{CTX-M-gp9}</i> pozitiflik sayısı n (%) | <i>bla_{CTX-M-gp2}</i> pozitiflik sayısı n (%) | <i>bla_{CTX-M-gp1}</i> pozitiflik sayısı n (%) |
|---------------------------------|---|---|---|---|---|---|
| <i>E. coli</i> n=36 | 12 (33,3) | 12 (33,3) | 6 (16,6) | 2 (5,5) | 2 (5,5) | 19 (52,7) |
| <i>K. pneumoniae</i> n=20 | 11 (55) | 6 (30) | 1 (5) | 2 (10) | | 13 (65) |
| <i>K. oxytoca</i> n=3 | | 2 (66,6) | | | | 1 (33,3) |
| <i>A. Baumannii</i> n=19 | 8 (42,1) | 4 (21,05) | 3 (15,7) | 3 (15,7) | 3 (15,7) | 1 (5,2) |
| <i>P. aeruginosa</i> n=6 | 1 (16,6) | 3 (50) | | 1 (16,6) | | 2 (33,3) |
| <i>Proteus mirabilis</i> n=3 | | 1 (33,3) | 1 (33,3) | | | 1 (33,3) |

Çizelge 4.13 ve çizelge 4.14'te görüldüğü gibi Türk hastalar ve Suriye uyruklu hastalardan izole edilen *E. coli*, *Klebsiella*, *Acinetobakter baumannii*, *P. aeruginosa* ve *Proteus mirabilis* suşlarında beta laktamaz genleri varlığı kıyaslanmıştır. Türk hasta izolatlarında *bla_{SHV}* en yüksek oranda *E. coli* suşlarında (%75.4; 40/53) tespit edilirken, en düşük düzeyde (%33.3; 1/3) *K. oxytoca* suşlarında bulunmuştur. Suriye uyruklu hasta izolatlarında ise *E. coli* suşlarında *bla_{SHV}*, %33.3 (12/36) oranında en yüksek düzeyde bulunurken, *K. oxytoca* ve *Proteus mirabilis* suşlarında bu gen varlığı saptanmamıştır. Türk hasta izolatlarında *bla_{OXA}* genine en fazla *E. coli* kökenlerinde (%32.1; 17/53) rastlanırken, Suriye uyruklu hasta izolatları arasında *E. coli* suşlarında bu gen pozitivitesinin %33.3 (12/36) olduğu tespit edilmiştir.

Türk hastalardan farklı olarak Suriye uyruklu hasta izolatlarından *P. aeruginosa* kökenlerinde %50 (3/6) ve *Proteus mirabilis* kökenlerinden %33.3 (1/3) oranında *bla_{OXA}* geni varlığı saptanmıştır.

Türk hastalarda *bla_{TEM}* geni varlığı *E. coli* kökenlerinde en yüksek oranda (%5.6; 3/53) tespit edilirken, *Acinetobacter baumannii* kökenlerinden %8.3 (1/12) oranında bulunmuştur. Bu gen varlığı *K. pneumoniae*, *K. oxytoca* ve *P. aeruginosa* kökenlerinde tespit edilmemiştir. Suriye uyruklu hastalarda ise Türk hastalardan farklı olarak *bla_{TEM}* geni varlığı *K. pneumoniae* kökenlerinde %5 (1/20) oranında ve *Proteus mirabilis* kökenlerinde %33.3 (1/3) saptanmıştır

Türk hastalarda *bla_{CTX-M-gp9}* geni en yüksek düzeyde *E. coli* kökenlerinde (%15.9; 8/53) tespit edilmiştir. Bu gen Suriye uyruklu hasta izolatlarından *A. baumannii* kökenlerinde %15.7 (3/19), *P. aeruginosa* kökenlerinde ise %16.6 (1/6) oranında tespit edilmiştir. Suriye uyruklu hasta örneklerinden izole edilen *K. oxytoca* ve *Proteus mirabilis* suşlarına *bla_{CTX-M-gp1}* geni varlığı saptanmamıştır.

Türk hastalarda *bla_{CTX-M-gp2}* genine %1.8 (1/53) oranıyla *E. coli* suşlarında rastlanırken, Suriye uyruklu hastalardan izole edilen *E. coli* kökenlerinden bu gen varlığı %5.5 (2/36), *A. baumannii* kökenlerinde %5.7 (3/19) oranında tespit edilmiştir.

Türk hasta izolatlarında *bla_{CTX-M-gp1}* geni pozitifitesi ise yine en yüksek oranda *E. coli* suşlarından (%50.9; 27/53) tespit edilirken, *P. aeruginosa* kökenlerinden bu gen pozitifitesi %33.3 (1/3) olarak saptanmıştır. Suriye uyruklu hasta izolatlarında ise en yüksek oranda *E. coli* suşlarında (%52.7; 19/53) tespit edilirken, bu gen varlığı *K. oxytoca*, *P. aeruginosa* ve *Proteus mirabilis* kökenlerinde %33.3 olarak tespit edilmiştir.

Çizelge 4.15. Türk hasta izolatlarında *pap*, *aer*, *sfa*, *hly*, *cnf1*, *cnf2*, *afal* toksin genlerinin dağılımı.

| İzolat Türleri | <i>Pap</i> Pozitiflik sayısı n(%) | <i>aer</i> Pozitiflik sayısı n(%) | <i>sfa</i> Pozitiflik sayısı n(%) | <i>hly</i> Pozitiflik sayısı n(%) | <i>cnf1</i> Pozitiflik sayısı n(%) | <i>cnf2</i> Pozitiflik sayısı n(%) | <i>afal</i> Pozitiflik sayısı n(%) |
|-----------------------------|---|---|---|---|--|--|--|
| <i>E. coli</i> n=53 | 17 (32,07) | 17 (32,07) | 18 (33,96) | 19 (35,8) | 6 (11,3) | | |
| <i>K.pneumoniae</i> n=30 | 8 (26,6) | 6 (20) | 6 (20) | 7 (23,3) | 2 (6,6) | | 1(3,3) |
| <i>K. oxytoca</i> n=3 | 1 (3,3) | 2 (66,6) | | 1 (33,3) | | | |
| <i>A. baumannii</i> n=12 | 1 (8,3) | 3 (25) | 3 (25) | 1 (8,3) | | | 1 (8,3) |
| <i>P. aeruginosa</i> n=5 | | | | | | 1 (20) | |

Çizelge 4.16. Suriyeli hasta izolatlarında *pap*, *aer*, *sfa*, *hly*, *cnf1*, *cnf2*, *afal* toksin genlerinin dağılımı

| İzolat Türleri | <i>Pap</i> Pozitiflik sayısı n(%) | <i>aer</i> Pozitiflik sayısı n(%) | <i>sfa</i> Pozitiflik sayısı n(%) | <i>hly</i> Pozitiflik sayısı n(%) | <i>cnf1</i> Pozitiflik sayısı n(%) | <i>cnf2</i> Pozitiflik sayısı n(%) | <i>afal</i> Pozitiflik sayısı n(%) |
|--------------------------------|---|---|---|---|--|--|--|
| <i>E. coli</i> n=53 | 9 (25) | 14 (38) | 14 (38) | 6 (16,6) | 10 (27,7) | 9 (25) | 6 (16,6) |
| <i>K.pneumoniae</i> n=30 | 3 (15) | 4 (20) | 10 (50) | 1 (5) | 2 (10) | 8 (40) | |
| <i>K. oxytoca</i> n=3 | 1 (33,3) | 2 (66,6) | | | 2 (66,6) | 1 (33,3) | |
| <i>A.baumannii</i> n=12 | 5 (26,3) | 3 (15,7) | 12 (63,1) | 5 (26,3) | | 4 (21,05) | |
| <i>P. aeruginosa</i> n=5 | | 1 (16,6) | 2 (33,3) | | 1 (16,6) | | |
| <i>Proteusmirabilis</i> n=3 | 1 (33,3) | 1 (33,3) | 2 (66,6) | | 2 (66,6) | 2 (66,6) | |

Çizelge 4.15 ve çizelge 4.16'da görüldüğü gibi Türk hasta izolatlarında *pap* geni pozitifliği en yüksek oranda *E. coli* suşlarında tespit edilirken (%32.1; 7/53), *P. aeruginosa* suşlarında bu gene rastlanmamıştır. Suriye uyruklu hastalarda ise *pap* geni yüksek düzeyde *E. coli* suşlarında tespit edilirken (%25; 9/36), *P. aeruginosa* kökenlerinde Türk uyruklu hastalarda olduğu gibi bu gene rastlanmamıştır. *E. coli* kökenlerinde *pap* geni varlığı açısından değerlendirildiğinde *pap* geni varlığı Türk hastalarda istatistiksel açıdan anlamlı düzeyde yüksek bulunmuştur ($p<0.05$).

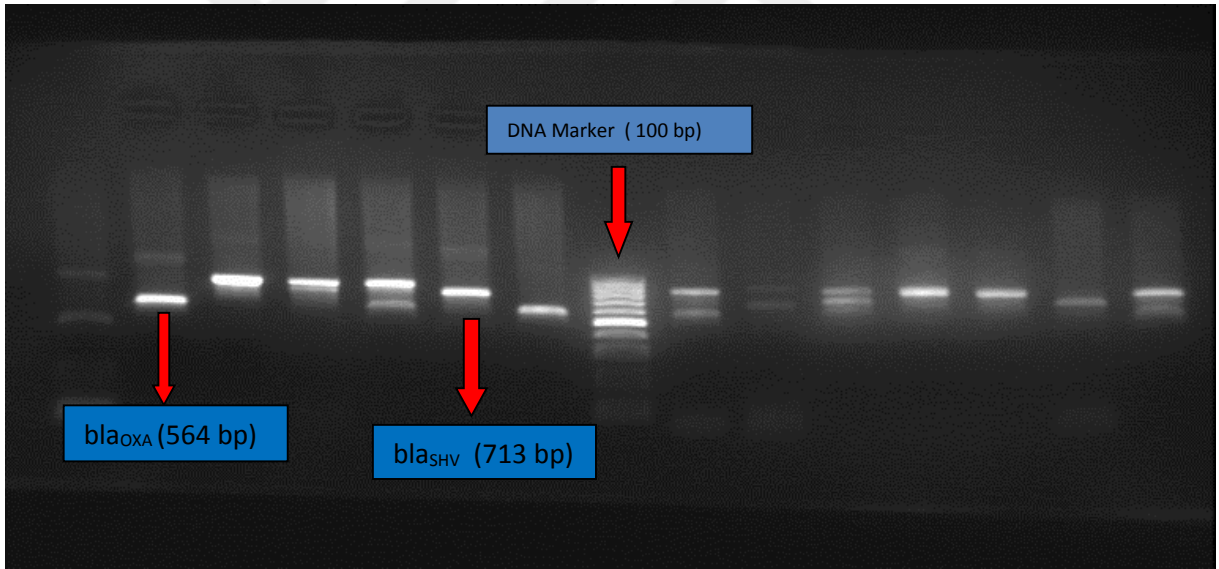
Bezer şekilde Türk hasta izolatlarında *aer* geni en yüksek oranda *E. coli* suşlarında (%32.07; 17/53) tespit edilirken, *K. oxytoca* ve *P. aeruginosa* kökenlerinde bu gene rastlanmamıştır. Suriye uyruklu hasta izolatlarında ise *E. coli* suşlarında bu gen varlığı %38.0 (14/36) oranında bulunurken, *P. aeruginosa* kökenlerinde %16.6 (1/6) oranında ve *Proteus mirabilis* kökenlerinde %33.3 (1/3) oranında bulunmuştur. *Aer* geni varlığı açısından değerlendirildiğinde *P. aeruginosa* ve *Proteus mirabilis* kökenlerinin daha toksijenik olduğu tespit edilmiştir ($p<0.01$). *Sfa* geni frekansı ise Türk hasta izolatlarında benzer şekilde en yüksek oranda *E. coli* suşlarında %33.9 (18/53) oranında bulunurken, *K. oxytoca*, *A. baumannii* ve *P. aeruginosa* suşlarında bu gene rastlanmamıştır. Suriye uyruklu hastalarda ise yüksek oranda bu gen varlığına yine *E. coli* suşlarında (%38; 14/36) rastlanırken, *K. oxytoca* kökenlerinde bu gen tespit edilememiştir. *E. coli* kökenlerinde *sfa* geni varlığı açısından bu iki grup arasında istatistiksel açıdan anlamlı düzeyde farkın olmadığı tespit edilmiştir.

Hly geni pozitifitesi Türk hasta *E. coli* izolatlarında (%35.8; 19/53) olarak tespit edilirken, Suriye uyruklu hasta izolatlarında daha düşük olarak (%16.6; 6/36) bulunmuştur. Bu gen varlığına *K. oxytoca*, *P. aeruginosa* ve *Proteus mirabilis* suşlarında rastlanmamıştır. Bu iki grup arasında *E. coli* kökenlerinde bu gen varlığı açısından istatistiksel açıdan anlamlı düzeyde farkın olduğu saptanmıştır ($p<0.01$).

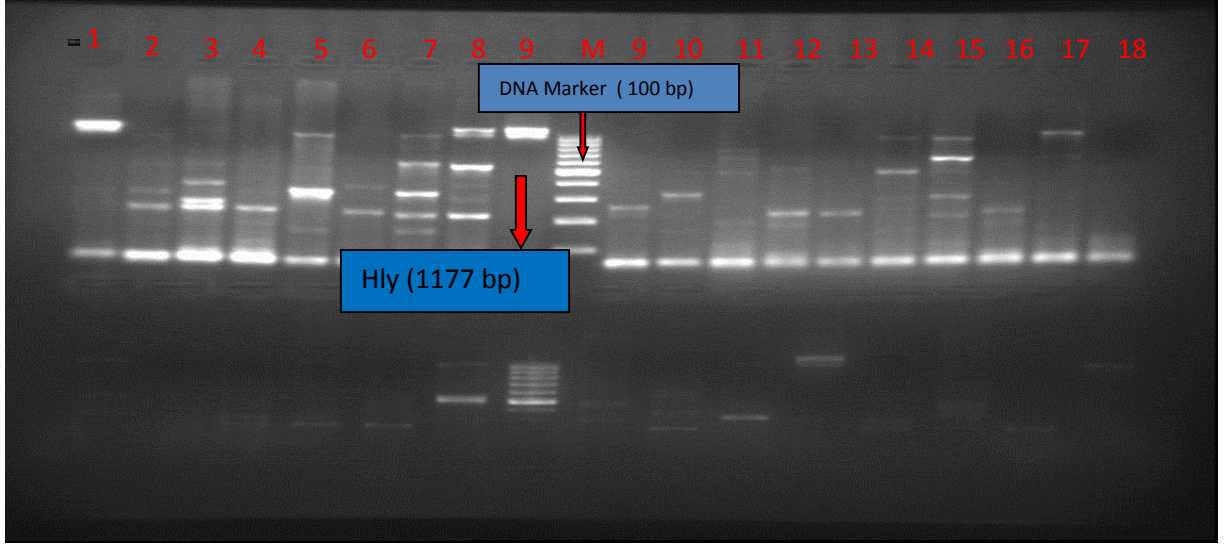
Cnf1 geni varlığı açısından bu iki grup hastalar değerlendirildiğinde Türk hasta örneklerinden izole edilen *E. coli* kökenlerinde %11.3 (6/53) oranında bulunurken, *K. oxytoca*, *Acinetobacter baumannii* ve *P. aeruginosa* bu gen pozitifitesi tespit edilmemiştir. Suriye uyruklu hasta izolatlarında ise bu gen varlığı en yüksek oranda *E. coli* suşlarında %27.7 (10/36) tespit edilirken, *Acinetobacter baumannii* kökenlerinde rastlanmamıştır.

Cnf2 geni varlığı ise Türk hasta izolatlarında sadece *P. aeruginosa* suşlarında tespit edilirken (%20; 1/5), Suriye uyruklu hastalarda tespit edilmemiştir ($p<0.01$). Bu gen pozitivitesi diğer gen pozitivitesinde olduğu gibi en yüksek oranda *E. coli*'de (%25; 9/36) suşlarında tespit edilmiştir.

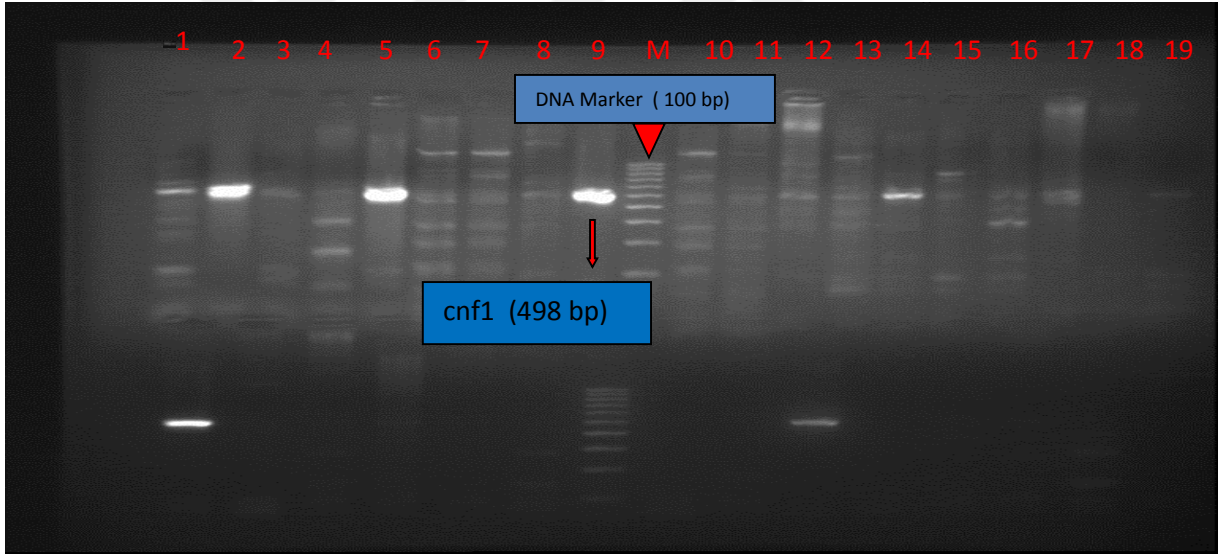
AfaI genine Türk hasta izolatlarından *K. pneumoniae* suşlarında %3.3 (1/30) ve *A. baumannii* suşlarında %8.3 (1/12) oranında rastlanırken, *E. coli*, *K. oxytoca* ve *P. aeruginosa* kökenlerinde bu gen varlığı tespit edilmemiştir. Benzer olarak Suriye uyruklu hasta izolatlarında ise sadece *E. coli* kökenlerinde %16.6 (6/36) oranında *afaI* geni pozitifliği tespit edilmiştir.



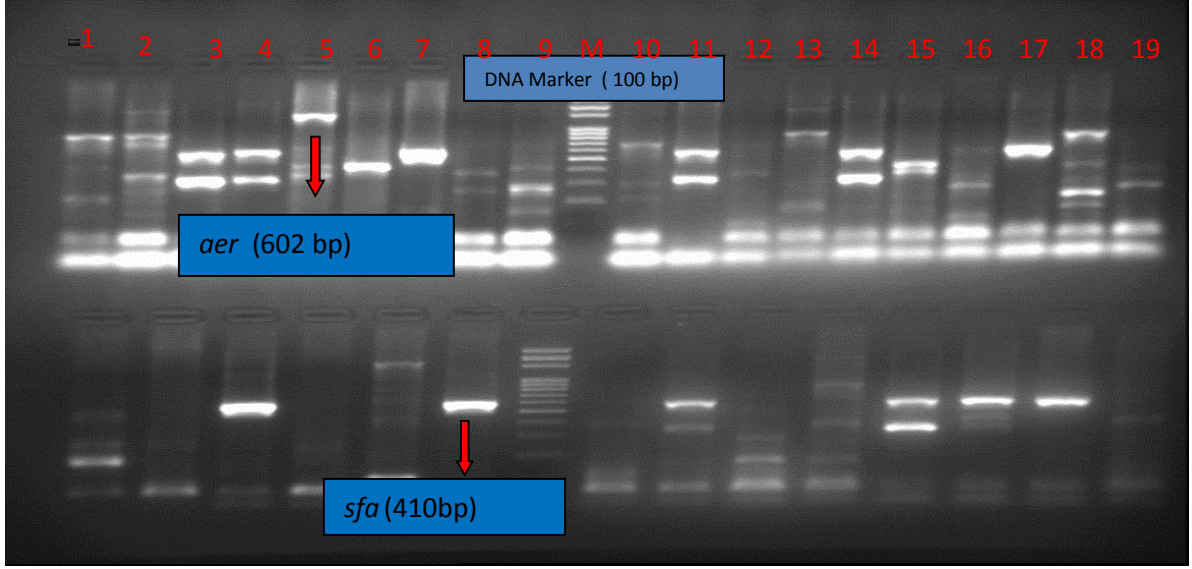
Şekil 4.2. *bla_{SHV}* ve *bla_{OXA}* genlerinin PCR amplifikasyon ürünlerinin agaroz jel elektroforezi görüntüsü M: 100 bp DNA Ladder. *bla_{SHV}* (713 bp) 3-6 ve 8,11,12,14 pozitif örnekler ve *bla_{OXA}* (564 bp) 2 ve 7 pozitif örnekler



Şekil 4.3. *hly* geninin PCR amplifikasyon ürünlerinin agaroz jel elektroforezi görüntüsü M: 100 bp DNA Ladder. *hly* (1177 bp) 1,8,9 pozitif örnekler.



Şekil 4.4. *Cnf1* geninin PCR amplifikasyon ürünlerinin agaroz jel elektroforezi görüntüsü M: 100 bp DNA Ladder. *cnf* (498 bp) 2,5,9 pozitif örnekler



Şekil 4.5. *aer* ve *sfa* genlerinin PCR amplifikasyon ürünlerinin agaroz jel elektroforezi görüntüsü M:100 bp DNA Ladder. *aer* (602 bp) 5 pozitif örnek ve *sfa* (410 bp) 22,25,27,30,31,32 pozitif örnek

5.TARTIŞMA

ÜSİ'ye sebep olan en önemli bakteriyel ajanların Gram negatif bakteriler olduğu ve çoğunlukla etken olarak vakaların büyük kısmından *E. coli* (%40-60) ve *K. pneumoniae* (%25-35)'nin sorumlu olduğu bildirilmektedir. Bu mikroorganizmaları takiben *C. freundii*, *E. aerogenes* ve *P. miribalis* gibi mikroorganizmaların etken olduğu bildirilmektedir. (Gupta K ve ark. 2011, Flores-Mireles AL ve ark. 2015, Mazzariol A ve ark. 2017, Aljanaby AAJ ve Alhasnawi HMRJ 2017). Son yıllarda *K. pneumoniae*, *E. coli* gibi ve birçok Gram negatif bakterinin *Bla-TEM*, *Bla-SHV* ve *Bla-CTX-M* gibi *GSBL* genleri sebebiyle çeşitli antibiyotiklere ve üçüncü kuşak sefalosporinlere yüksek oranda dirençli oldukları bildirilmektedir (Mazzariol A ve ark. 2017, Moghaddam MN ve ark. 2014, Sarikhani Z ve ark. 2017). Bugün dünya genelinde 200'den fazla *GSBL* tipi tanımlanmıştır. Bu genlerin çoğunluğunun *Enterobacteriaceae* ailesinde özellikle de *K. pneumoniae* türünde bulunduğu bildirilmektedir (Bradford PA. 2001). *TEM* ve *SHV* *GSBL* üretiminden en çok sorumlu olan genlerdir (Jacoby GA ve Medeiros AA. 1991, Bush K ve ark.). *CTX-M* geni ilk izole edildiği yıllardan bugüne kadar birçok mikroorganizmada antibiyotik direncinden sorumlu olup en çok *K. pneumoniae* ve *E. coli* türlerinde saptanmaktadır (Bradford PA. 2001, Walther-Rasmussen J ve Høiby N. 2004).

Genişletilmiş spektrum beta laktamaz enzimlerinin üçüncü ve dördüncü nesil sefalosporinleri hidrolize edebilme yetenekleri varken karbapenemler ve sefamisinleri hidrolize etme yetenekleri yoktur. Bu enzimler hem hastane hem de toplum kökenli *E. coli* ve *K. pneumoniae* gibi *Enterobacteriaceae* ailesi üyelerinde yüksek insidansta seyretmesi sebebiyle önemli bir halk sağlığı problemidir (Aljanaby AAJ ve Alhasnawi HMRJ. 2017, Mazzariol A ve ark. 2017, Aljanaby AAJ ve Aljanaby IAJ 2017). *E. coli* ve *K. pneumoniae* gibi Gram negatif bakterilerden bazı yüksek virulanslılar ÜSİ ile ilişkilendirilmekte olup tedavi edilmediklerinde bu suşlar insanlarda üriner sistemde adezyon ve kolonizasyon yaparak mesaneye göç edebilmekte ve sistit ve akut piyelonefrit ve sonuçta böbrek hasarı ve kronik böbrek hastalığına kadar ciddi sonuçlar doğurabilmektedir.

ÜSİ dünyada en yaygın görülen infeksiyonların başında gelmektedir (Kattel HP ve ark. 2008). ÜSİ gelişimi konağa ait; immunsupresyon, diyabet, hiperadrenokortisizm,

anatomik anormallikler (polipler/tümörler, gömülü vajina), kalıcı kateterler, böbrek ve idrar yolu taşları veya üretral sfinkter mekanizmasındaki bozukluklar gibi sistemik veya lokal bağışıklık zafiyetleri faktörler ile yakından ilişkilendirilmektedir. *E. coli* gastrointestinal ve distal ürogenital normal florasında bulunan bir bakteri olsada, üretradan yukarı yönde asendan yayılım göstererek üriner sistemde kolonize olabilmektedir. *E. coli*'ye ait spesifik virulans faktörleri mikroorganizmanın girdiği bölgedeki konak hücrelere yapışma ve istilasına olanak sağlayarak toksinlerini salgılamakta, bu bölgedeki hücrelerde beslenme bozukluklarına neden olarak konak savunma sisteminde defektlere yol açabilmektedir (Kate SK 2011, Asadi S ve ark. 2014)

Üriner sistem infeksiyonları konusunda yapılan bir çalışmada kadın cinsiyette olmanın üriner sistem infeksiyonlara yatkınlığı arttırdığı bildirilmektedir. Bir çalışmada üriner sistem infeksiyonlardan izole edilen patojenlerin %52'sinin kadın hastalardan, %48'inin ise erkek hastalardan izole edildiği bildirilmiştir (Thakur S ve ark. 2013, Yadav K ve Prakash S 2016 Bomjan R 2005, Gupta S 2010, Livermore DM ve Hawkey PM 2005). Ayrıca akut semptomatik infeksiyonların çok büyük bir çoğunluğunun genç kadınlar arasında meydana geldiği bildirilmektedir. Ancak bunun yanında yaşlı erkeklerde de ÜSİ prevalansının yüksek oranlarda seyredebileceği bildirilmiş olup, prostatit, diyabet, immünsüpresyon ve antibiyotik kullanımının hastalığın oluşması ile ilişkilendirilebileceği bildirilmiştir. ÜSİ'nin yaş ve cinsel aktivite ile yakından ilişkili olabileceğini göstermektedir (Thakur S ve ark. 2013).

Mikroorganizmalar arasında ÜSİ'nin en başta gelen etkeninin *E. coli* olduğu bildirilmektedir. Bir çalışmada bakteriüri hastaların %84'ünden sorumlu patojenin *E. coli* olduğu bildirilirken, *Citrobacter diversus*, *Klebsiella pneumoniae* ve *Staphylococcus aureus* türlerinin neden olduğu bakteriüri oranının ise toplamda sadece %16 olduğu bildirilmiştir (Yadav ve ark. 2014). Benzer şekilde başka bir çalışmadan üriner sistem infeksiyonlu hastaların dahil edildiği bir çalışmada 356 *E. coli*, 123 *Pseudomonas* spp, 73 *Klebsiella* spp ve 54 *Proteus* türlerinin izole edildiği bildirilmiştir (Nalini K ve Sumathi P 2012). Yine benzer olarak 367 idrar örneğinin dahil edildiği bir çalışmada numunelerin 96'sında *E. coli* en sık izole edilen patojen olurken, 58'inde *Klebsiella* türleri ikinci en sık izole edilen bakteri grubu olmuştur (Kulkarni DM ve ark. 2016). Üriner etkenlerin sıklığının araştırıldığı bir başka çalışmada da yine en yüksek frekansda izole edilen patojenin *E. coli* olduğu saptanmıştır. Bir çalışmada ÜSİ'den izole edilen patojenlerin %66'sının *E. coli*, %12'sinin

Klebsiella spp., %8'inin *Enterococcus* spp., %6'sının *Pseudomonas* spp., %5'inin *Acinetobacter anitratus* ve %3'ünün de *Proteus* spp. olduğu tespit edilmiştir (Chaudhari KB ve ark. 2016). Benzer şekilde metabolik rahatsızlıkları olan hastalarda da yine en yüksek frekansta izole edilen türün *E. coli* olduğu bildirilmiştir. Diyabetikler arasında 2015 yılında yapılan bir çalışmada ÜSİ etkeni olarak en yüksek oranda izole edilen patojenin *E. coli* olduğu bildirilmiştir (Yadav K v e Prakash S 2016). Aynı şekilde 2016 yılında yapılan iki çalışma ile 2017 yıllarında yapılan çalışmalarda üriner sistem infeksiyonlarından en sık izole edilen mikroorganizmanın *E. coli* olduğu bildirilmiştir. Bu çalışmalardan ikisinde *E. coli*'den sonra en yüksek oranda etken olarak izole edilen mikroorganizmanın *Klebsiella* türleri olduğu tespit edilirken, bir çalışmada ise Staphylococcal türlerin olduğu saptanmıştır (Shrestha A ve ark. 2016, Chaudhary V ve ark. 2016, Mishraa PM ve ark. 2016, Parajuli PN ve ark. 2017).

Bizim çalışmamızda da literatürle uyumlu olarak en yüksek frekansta etken olarak izole edilen mikroorganizma %46.8'i *E. coli* olurken, bunu %29.4'ü *Klebsiella* türleri takip etmiştir. Çalışmamızda etken olarak izole edilen tür dağılımında idrar örneklerinin %55.1'i *E. coli*, %48'i *K. pneumoniae*, %66.6'sı *K. oxytoca*, %22.5'i *Acinetobacter baumannii*, %27.2'si *P. aeruginosa*, %66.6'sı *Proteus mirabilis* idi.

E. coli sahip olduğu benzersiz özellikleri ile insan üriner sisteminde üroepitelyal hücrelerde Gal alfa 1-4 Gal reseptörüne bağlanmakta, tek başına infeksiyon meydana getirebilen dünya genelinde üriner sistem infeksiyonlarının en önemli etkeni durumundadır (Ko KS ve ark. 2007). *Proteus* türleri üroepitelyal hücrelere bağlanarak mukozal endotelyal hücrelerde interlökin 6 ve interlökin 8 sekresyonunu uyarmakta ve bu durum apoptozisi ve epitelyal hücre deskuamasyonunu tetiklemektedir. Bakteriyal hareketlilik ve fimbria ile uyum içerisinde üreaz enziminin üretimi ile *Proteus* türleri üst üriner sistem infeksiyonlarına sebep olabilmektedir (<http://emedicine.medscape.com/article/226434-overview#a5>).

Günümüzde özellikle Gram negatif bakterilerde görülen antibiyotik direnci giderek artan global bir problem olarak değerlendirilmektedir (Slama TG 2008). ÜSİ çoğunlukla beta-laktam antibiyotiklerle tedavi edilmektedir. Ancak üriner sistem patojenlerinin bu antibiyotiklere karşı kazanmış oldukları direnç bakteriyal enzimler ile artmakta ve GSBL tehdidini doğurmaktadır (Pitout JDD ve Laupland KB 2007). Bir çalışmada 123 *E. coli* izolatu antibiyotik duyarlılık profillerini ortaya koymak amacıyla 12 farklı antibiyotik ile test edilmiş, izolatların sefalekssin direncinin %78.9, nalidiksik asit direncinin %74.0,

kotrimoksazol direncinin %71.5, seftriakson direncinin %67.5 ve sefazidim direncinin %63.4 gibi yüksek oranlarda olduğu tespit edilmiştir. Bir başka çalışmada ise *E. coli* seftriakson direncinin %94 olarak bulunduğu bildirilmiştir. Bu durum muhtemelen antibiyotik kullanım politikalarındaki hatalar ve hastanelerde özellikle seftriakson başta olmak üzere üçüncü kuşak sefalosporinlerin uygun olmayan kullanımlarından kaynaklanmaktadır (Shobha KL ve ark. 2007). Benzer olarak yapılan bir başka çalışmada da *E. coli* siprofloksasin direncini oldukça yüksek oranlarda (%81) seyrettiği bildirilmiştir. (Haque R ve Salam MA 2010). Benzer şekilde bizim çalışmamızda *E. coli* kökenlerinde gerek üçüncü kuşak sefalosporin direnci ve gerekse de kinolon direncinin oldukça yüksek olduğu bulunmuştur.

Geniş spektrumlu sefalosporinlere karşı *E. coli* ve *Klebsiella* türlerinin giderek artan direnç profilleri çeşitli ülkelerde GSBL üretimine bağlı olduğu gösterilmiştir (Bouchillon SK ve ark. 2004, Khanfar HS ve ark. 2009) *E. coli* suşları arasında görülen ve giderek artan ilaç direncinin beta laktam halkasını hidrolize ederek antibiyotik maddenin inaktivasyonuna sebep olan beta laktamazlarca ortaya çıkmakta olduğu belirlenmiş olup, klasik TEM-1, TEM-2 ve SHV-1 enzimlerinin gram negatif basillerin plazmid aracılı öncü beta laktamazları oldukları bilinmektedir (Yadav K ve Prakash S 2016, Pitout JDD ve Laupland KB 2007). Ayrıca toplumun bilinçsizce kendi kendini tedavi etmeye çalışması, eczanelerden ilaçlara çok kolay ve reçetesiz ulaşabilmesi ve bölgesel idarelerce ilaç kullanım politikalarının sınırlarının tam olarak çizilmemesi antibiyotik direncini tetikleyen faktörler arasında sayılabilir.

Enterobacteriaceae üyeleri arasında oldukça yüksek amikasin duyarlılığı prevalansı bilinmektedir. Üçüncü nesil sefalosporinlerin ve monobaktamların tedavide aşırı kullanılmasına bağlı olarak GSBL üreten *E. coli* izolasyon sıklığının yükselmesine ÜSİ’de giderek artan sorunlar olarak ortaya çıkmaktadır (Paterson DL ve Yu VL 1999) 2006 yılında yapılan bir çalışmada GSBL üreten *E. coli* izolasyon oranı %37 olarak tespit edilirken, 2011 yılında yapılan bir başka çalışmada da *E. coli* kökenlerinde GSBL oranının hayli yüksek oranlarda olduğu bulunmuştur (Kumar MS ve ark. 2006, Shila J 2011). Bir başka çalışmada ise *E. coli* GSBL pozitiflik oranının % 24 olduğu bildirilmiştir (Ibukun A ve ark. 2003, Shafiq M ve ark. 2013). Bu sonuçlar farklı coğrafi bölgelerde antibiyotik direnç oranlarının farklı olabileceği savı ile açıklanabilir.

Üriner sistem infeksiyonları en yaygın bakteriyel infeksiyonlardandır (Hassan S ve ark. 2011). Bu infeksiyonlar en önemli morbidite kaynağı olarak gösterilmekte olup hastane infeksiyonları arasında en önemli ikinci infeksiyonlar olarak değerlendirilmektedir (Kolawale AS ve ark. 2009). Üriner sistem infeksiyonları tek başına en önemli hastane infeksiyonlarından olup totalde ise nozokomiyal infeksiyonların %40-50'sini oluşturmaktadır. Üriner sistem infeksiyonlarından en sık izole edilen bakteriler Enterobakter ailesinde yer almaktadır. Üriner sistem infeksiyonlarının ise %80'inin üzerinde bir oranda Enterobacter ailesinin sorumlu olduğu bildirilmektedir (Wada T ve Iwamoto T 2009, Gales 1998). Bu aile içerisinde ise *E. coli*'nin tartışılmaz bir ağırlığı söz konusudur (Manikandan C ve Amsath A 2014).

ÜSİ vakalarında *E. coli* izolasyon oranının %70'lere kadar çıkabileceğini gösteren çalışmalar mevcuttur (Islam MS ve Yusuf MA 2014, Farzana R ve ark. 2013, Jakobsen L ve ark. 2012, Agarwal J ve ark. 2012, Gautam 2013).

Antibiyotik direnç sorunu infeksiyonların tedavisi önündeki en önemli sorunların başında gelmektedir. Üriner sistem infeksiyonlarına neden olan bakterilerde rutin klinikte yaygın olarak kullanılan antibiyotiklere karşı görülen direnç oranları hem gelişmekte olan hem de gelişmiş ülkelerde giderek artmaktadır. Antibiyotik direnci en etkili antibiyotiklerde dahi ortaya çıkmaktadır (Thiraviam M ve ark. 2014). Çalışmamızda gerek *E. coli* ve gerekse de diğer enterobacter ailesi üyeleri arasında ÜSİ tedavisinde sık kullanılan antibiyotiklere karşı yüksek direnç oranları göze çarpmaktadır. Tedavide yaygın olarak kullanılan antibiyotiklerden ampisilin, sefalotin, nalidiksik asit, norfloksasin, trimetoprim-sülfametaksazol ve nitrofurantoina karşı önemli direnç oranları saptanmıştır. Bu sonuçlar literatürde yapılan çoğu çalışma ile benzerlik göstermektedir.

Çalışmamızda izolatların özellikle *E. coli* ve *Klebsiella* kökenlerinin ampisilin direncinin oldukça yüksek olduğu tespit edilmiş olup bu sonuçlarımız Hassan ve arkadaşları (%94), Manikandan ve Amsath (%88.7) ve Sharma ve arkadaşları (%81.7) nın çalışma sonuçları ile benzerlik göstermektedir (Gales 1998, Manikandan C ve Amsath A 2014, Sharma AR ve ark. 2013).

Genişletilmiş spektrum beta laktamazlar enterobakterler gibi bazı mikroorganizmalar tarafından sentezlenen enzimlerdir (Bradford 2001). GSBL üreten enterobakterler insan sağlığını tehdit eden önemli hususlardan biridir. Gram negatif bakterilerde GSBL varlığı

aynı zamanda florokinolonlar, trimetoprim sülfametoksazol, tetrasiklin ve aminoglikozid antibiyotiklere karşı direnci arttırdıklarından dolayı terapötik alternatifleri de azaltmaktadır. Dolayısıyla bu bakteriler çoklu ilaç direncine sahip patojenler olarak değerlendirilmektedir (Paterson DL ve Bonomo RA 2006). Bu enzimlerin varlığı araştırılırken karşılaşılan sorunlardan biri kontrolsüz dağılımları ve tedavi başarısızlığını doğurmasıdır (Thomson KS ve Moland ES 2001).

Bir çalışmada GSBL pozitif *E. coli* suşlarının tamamının (% 100) ampisiline dirençli olduğu, GSBL negatif *E. coli* suşlarının ise ampisilin direnç oranı % 92.2 olduğu belirlenmiştir (Islam MS ve Yusuf MA 2014). Ayrıca penisilin direnci %100, amoksisilin direnci ise %80.8 olarak kaydedilmiştir. Bizim çalışmamızda da benzer olarak GSBL pozitif *E. coli* suşlarının tamamının ampisiline dirençli olduğu, GSBL negatif *E. coli* suşlarının ise ampisilin direncinin daha düşük olarak tespit edildiği saptanmıştır.

Çalışmamızda *E. coli* kökenlerinde kinolon direnci oldukça yüksek bulunurken (%64), literatürde *E. coli* kökenlerinden kinolon direncinin %11-59 arasında değiştiğini gösteren çalışmalar mevcuttur (Shakya 2013, Sabir S ve ark. 2014).

Kinolonlar ve florokinolonlara direncin, üriner sistem infeksiyonlarının tedavisinde bu iki antibiyotik grubunun yoğun kullanımından ileri geldiği düşünülmektedir (Shakya 2013, Saleh AA ve ark. 2009). Bir diğer düşünceye göre özellikle kümes hayvanlarında florokinolonların yetiştiricilikte kullanılması, suşlar arası direnç aktarımı ve dirençli tavuk suşlarının insanlara geçmesinden kaynaklandığı düşünülmektedir (Miller LG ve Tang AW 2004).

Çalışmamızda *E. coli* izolatlarında trimetoprim/sülfametoksazol direnci %72 olarak bulunurken, literatürde GSBL pozitif *E. coli* suşlarında trimetoprim/sülfametoksazol direncinin %62.5-86.4 arasında değiştiğini gösteren çalışmalar bulunmaktadır (Islam MS ve Yusuf MA 2014). Öte yandan kotrimoksazol direncinin GSBL pozitif suşlarda %95'lere kadar çıktığı bildirilirken, bu oranın GSBL negatif kökenlerde %53'lere kadar düşebildiği bildirilmektedir (Farzana R ve ark. 2013). Bunun aksine 2013 yılında yapılan bir çalışmada ise GSBL pozitif suşlarda kotrimoksazol direncinin %29, GSBL negatif suşlarda ise %49 olduğu da bildirilmiştir (Shakya 2013). Çalışmamızda izolatların en duyarlı olduğu antibiyotiklerden birinin de gentamisin olduğu tespit edilmiştir. Beta laktamaz direncinin oldukça az görüldüğü karbapenemlere bakıldığında Gram negatif bakterilerin imipenem ve

meropenem direncinin *E. coli* kökenlerinden %11, Klebsiella kökenlerinde ise %25 olduğu saptanmıştır. Bu değerler literatürdeki birçok çalışma sonuçlarından daha yüksek olarak bulunmuştur (Hassan S ve ark. 2011). Öte yandan Jafri ve arkadaşların yaptıkları çalışmada karbapenem direnci % 43.3, Sabir ve arkadaşlarının yaptıkları çalışmada ise % 32.5 olarak bildirilmiştir (Sabir S ve ark. 2014, Jafri SA ve ark. 2014).

Antibiyotik direnç profilleri bölgeden bölgeye farklılıklar göstermekte olup birçok faktörden etkilenebilmektedir. Artan direnç oranlarının en büyük sebepleri arasında; antibiyotiklerin gerek klinisyen tarafından reçetelenmesi gerekse raf üstü antibiyotiklerin halk tarafından reçetesiz temin edilmesi ve herhangi bir duyarlılık testi yapılmadan gelişmiş kullanımını sayılabilir. Uygun olmayan antimikrobiyal ajanın kullanılması, uygun olmayan dozda ve yanlış antibiyotik kullanım süresi toplumda antimikrobiyal direncin artmasına yol açan diğer önemli sebepler arasında yer almaktadır.

Balık çiftliklerinde ve diğer hayvansal üretimin yapıldığı noktalarda antibiyotik kullanımının yanı sıra hem çiftlik hayvanlarında hem de kümes hayvanlarında bakteriyel direnci arttırmakta olup, dirençli suşların insanlara bulaşması ile tehdit doğurabilmektedir. Uygun olmayan sanitasyon yöntemleri ve hatalı hijyen uygulamaları da antibiyotik direncinin artmasına neden olan diğer sebeplerdir. Hastanede tedavi gören hastalar arasında izolatlarda görülen yüksek oranda antimikrobiyal direnç profilleri de infeksiyon önleme ve kontrol zaaflarının bir sonucu olarak ortaya çıkabilmektedir.

Antibiyotik direncinin belirli eşik değerlerin üzerine çıkması çoğunlukla çoklu ilaç direncini kodlayan aktarılabilen plazmidler ve bu plazmidlerin enterobakterler arasında yayılmasının bir sebebidir (McPherson P ve Gealt M 1986).

Bir çalışmada plazmid DNA analizlerinin sonuçlarına göre her 100 izolattan 68'inde plazmid aracılı direncin meydana geldiği bildirilirken, antibiyotik direnci tespit edilen diğer 32 izolattın ise plazmid taşımadığı görülmüştür. Plazmidler moleküler ağırlığı 1-33 kb arasında değişen kromozom dışı yapılar olup, her izolatta 1-6 arasında plazmid bulunabileceği tespit edilmiştir. Plazmid taşımayan izolatlarda da antibiyotiklere direnç görülmesi antibiyotik direncinin her zaman plazmit varlığı ile doğrusal bir korelasyon göstermeyebileceği bildirilmiştir (Walia S ve ark. 1988, Pardesi KR v e ark. 2007, Farshad S ve ark. 2012)

GSBL üreten mikroorganizmalar klinik mikrobiyologlar, araştırmacılar ve enfeksiyon kontrol uzmanlarını yeni antibakteriyal moleküller geliştirmeye zorlamaktadır. GSBL üreten *E. coli* genellikle antibiyotik kullanımının yoğun olduğu ve sağlık durumları kritik olan hasta gruplarının tedavi gördüğu hastanelerde sıkça izole edilen bir bakteridir. Nozokomiyal bakteriyal enfeksiyonlar özellikle az gelişmiş ve gelişmekte olan ülkelerde önemli morbidite ve mortalite nedenleridir.

E. coli hem nozokomiyal enfeksiyonlardan hem de toplum kökenli enfeksiyonlardan izole edilen en önemli etkenlerden biridir (Kwon-Sam P. 2013, Woodford N ve ark. 2004).

Sağlık kuruluşlarında enfeksiyon kontrolü GSBL üreten mikroorganizmaların çoğalması ve yayılmasının önlenmesi ile mümkündür. Çalışmamızda GSBL pozitif suşların *CTX-M*, *TEM* ve/veya *SHV* genleri yönünden pozitif olduğu tespit edildi. *CTX-M* gen pozitifliği *TEM* ve *SHV* gen frekansına oranla daha yüksek bulunmuştur. Benzer sonuçlar Mirzaee ve arkadaşlarının ile Memeriani ve arkadaşlarının yaptıkları çalışmalarda bildirilmiştir (Mirzaee M ve ark. 2009, Memariani M ve ark. 2015). Çalışmamızda GSBL pozitif *E. coli* suşlarında *SHV* ve *OXA* genleri varlığı sırasıyla %75.4 ve 50.9 olarak tespit edilmiştir. Son 20 yıl içerisinde birçok GSBL pozitif *E. coli* suşunda ve genel olarak Gram negatif basillerde *TEM* ve *SHV* pozitif kökenler oldukça önemli oranlarda izole edilir olmuştur. Son zamanlarda *TEM* ve *SHV* tipleri *CTX-M*-tip GSBL'ın yerini almıştır (Bradford PA. 2001) (Livermore DM. 2007). *CTX-M*-tip GSBL dünyanın birçok bölgesinde *Enterobacteriaceae* ailesi üyeleri arasında yayılmıştır (Ambler RP ve ark. 1991, Pinet E ve ark. 2015, Hawkey PM. 2008). Ortadoğuda *E. coli* suşlarında *CTX-M* geninin baskın GSBL olduğu bildirilmiştir (Al-Agamy MH. 2013, Moubareck C ve ark. 2005). Farklı GSBL arasında dünya genelinde prevalansı giderek artan *CTX-M* geni dikkate alınmalıdır. Çalışmamızda gerek *E. coli* (%50.9) ve gerekse de *Klebsiella* (%43.3) kökenlerinden bu genin yüksek frekansı dikkat çekicidir.

Dünya genelinde GSBL pozitif bakterilerin insidensinde ciddi farklılıklar görölmektedir. Bir diğer çalışmada GSBL pozitif suşların en önemli kaynağının solunum sistemi olduğu gösterilmiş olup baskın suşun ise *Klebsiella* spp olduğu bildirilmiştir (%67) (Sharma M ve ark. 2013). Başka bir çalışmada ise *Enterobacter cloacae* türünün GSBL üreten en yüksek frekansa sahip mikroorganizma olduğunu bildirilmiştir (Ali AM ve ark. 2009, <http://pafmj.org/showdetails.php?id=241&t=o>). Üriner sistem enfeksiyonlarına yol

açan GSBL pozitif mikroorganizmalar ile ilgili bir çalışmada *E. coli* (% 64.0) ve *Klebsiella* spp (% 17.9) en yaygın türler olduğu bildirilmiştir (Thakur S ve ark. 2013).

Üriner sistem infeksiyonlarından ve piyojenik infeksiyonlardan izole edilen kökenler üzerinde yapılan çalışmalarda GSBL pozitifliğinin %18-62 arasında değiştiği bildirilmiştir (Thakur S ve ark. 2013, Shrestha S ve ark. 2011, Poudyal S ve ark. 2011). GSBL pozitif mikroorganizmaların prevalansının Türkiye ve tüm dünya üzerinde her geçen gün arttığı çeşitli çalışmalarda gösterilmiştir (Sasirekha B ve ark. 2010, Sharma S ve ark. 2012, Ullah F ve ark. 2009, Yusha'u M ve ark. 2010, Wiegand I ve ark. 2007).

GSBL pozitif *Klebsiella* spp prevalansı Latin Amerika'da %42, Avrupa'da %21 ve Kuzey Amerika'da %5.8 olduğu bildirilmiştir (Biedenbach DJ ve ark. 2004). Amerika Birleşik Devletleri'nde yapılan bir çalışmada ise GSBL pozitif Enterobacteriaceae prevalansı 0-%25 arasında değişebildiği, genel ülke ortalamasının ise %3 dolaylarında olduğu tespit edilmiştir (CDC National Nosocomial Infections Surveillance 2010 Available from: <http://www.cdc.gov/ncidod/hip/surveill/nnis.htm>). Avrupa ve Amerika Birleşik Devletlerinden katı antibiyotik politikaları uygulandığı için GSBL prevalansının düşük oranlarda olduğu bildirilmektedir.

Beta laktam inhibitörleri ile her türlü kombinasyon arasında GSBL pozitif bakterilere karşı en etkili kombinasyonun sefepim + tazobaktam ikilisi olduğu bildirilmektedir (Sharma S ve ark. 2012). GSBL pozitif bakterilerin sebep olduğu infeksiyonların tedavisinde alternatif ilaçlardan karbapenemlere kadar farklı kombinasyonların etkileri ile ilgili çalışmalara ihtiyaç duyulmaktadır. Antibakteriyal ajanlar ve rasyonel kullanımlarının önemi hakkında birçok çalışma mevcuttur. Ayrıca etkin infeksiyon yönetimi ve yeni antibiyotik ajanlara ihtiyaç öncelikli gereksinimler olarak ortaya çıkmaktadır (Paterson DL ve Bonomo RA. 2005). Günümüzde bakterilerde direnç gelişimi en ciddi halk sağlığı tehditleri arasında yer almaktadır (Ghatole M ve ark. 2004).

6.SONUÇ

1. Çalışmaya 190 Gram negatif bakteri dahil edilmiştir.
2. Çalışmaya dahil edilen suşların %46.8'i (89/190) idrar, %13.6'sı (26/190) solunum yolu, %15.2'si (29/190) kan, %23.6'sı (45/190) yara örneklerinden izole edilmiştir.
3. Çalışmaya dahil edilen izolatların %54.2'si (103/190) Türk hastalardan, %45.7'si (87/190) ise yabancı uyruklu hastalardan izole edilen kökenler idi.
4. Çalışmada idrar yolu örneklerinden en yüksek oranda izole edilen tür *E. coli* (% 55) türü olmuştur.
5. Yara örneklerinden en yüksek oranda izole edilen tür *Acinetobacter baumannii* (%32) türü olmuştur.
6. Kadınlardan izole edilen mikroorganizma tür çeşidi erkeklere göre daha yüksek oranda bulunmuştur. Bu sonuç kadınların erkeklere göre özellikle üriner infeksiyonlara yatkınlığınının erkek cinsiyete göre daha duyarlı olduğu görüşüyle açıklanabilir.
7. Çalışmada izole edilen Gram negatif bakterilerin çoğunluğunun (%30) yoğun bakım ünitelerinde yatan hastalardan izole edildiği tespit edilmiştir.
8. Çalışmada izolatların hemen tamamında ampsilin direncinin çok yüksek olduğu saptanmıştır.
9. Kolistin direncinin hastanemizde *E. coli* ve *Klebsiella* kökenlerinde sırasıyla %33.7 ve %12 olarak tespit edilmesi, kaygı verici olarak değerlendirilmiştir.
10. Ülkemizde yaşayan yabancı uyruklu hastalardan izole edilen mikroorganizmalarda direnç profilinin özellikle bazı antibiyotik gruplarında (Ampisilin, Ampisilin/Klavulonikasin, Siprofloksasin, Seftazidim, Sefepim, Sefuroksim Aksetil, Trimetoprim/sülfometaksazol, Kolistin) anlamlı derecede yüksek oranda olduğu tespit edilmiştir.
11. Türk hastalar ve Suriyeli hastalardan izole edilen *E. coli*, *Klebsiella*, *Acinetobacter baumannii*, *P. aeruginosa* ve *Proteus mirabilis* suşlarında antibiyotik direnç profilleri yanında beta laktamaz genlerinin varlığının kıyaslandığı çalışmamızda Türk hasta izolatlarında bla_{SHV} geninin en yüksek oranda tespit edildiği mikroorganizma türünün *E. coli* olduğu tespit edilmiştir. Yabancı uyruklu

hasta izolatlarında ise bu genin en yüksek oranda direnç tespit edildiği tür *K. pneumoniae* olmuştur.

12. Çalışmada toksin genlerinden olan *cnf2* geni varlığına Türk hasta izolatlarında rastlanmazken Suriyeli kökenli hasta izolatlarında ise sadece *E. coli*'de %16.6 oranında bu gen varlığı tespit edilmiştir.
13. Çalışmada Türk hasta izolatlarında toksin genlerinden afal genine sadece *K. pneumoniae* ve *Acinetobacter baumannii*'de sırasıyla %3.3 ve %8.3 oranlarında rastlanılmıştır.
14. Çalışmamızda toksin genlerinin varlığı tespit edilen izolatlarda antimikrobiyal direnç oranlarının yüksekliği tespit edilmiştir.

Çoklu ilaç dirençli infeksiyon etkenlerinin tedavisi için yakın bir gelecekte yeni antibiyotiklerin üretilmesi zor görünmektedir. Antibiyotiklerin rasyonel kullanımı ile birlikte geliştirilen infeksiyon kontrol stratejileri GSBL pozitif suşların yayılmasını azaltmaya yönelik önemli tedbirlerdendir.

Karbapenemler GSBL infeksiyonlarında antibiyotik ilaç seçiminde uygun ajanlardır. Az gelişmiş ve/veya gelişmekte olan ülkelerdeki insanların bu tedavilere maddi olarak imkan sağlaması zordur. Ayrıca karbapenemler akılcı kullanılması gereken ve rezerve grupta yer alan antibiyotiklerdir.

Ülkemizde GSBL pozitif izolat oranlarının alarm düzeyine çıkmış olması muhtemelen yakın bir geçmişe kadar reçetesiz olarak eczanelerde satılan rastgele ve geniş spektrumlu antibiyotiklerin özellikle de beta laktam antibiyotiklerin yoğun olarak kullanılmasından kaynaklanabilir. Antibiyotiklerin hatalı kullanımı GSBL pozitif izolatların ortaya çıkması ile ilişkilendirilebilir. Çalışmamızda antimikrobiyal duyarlılık sonuçlarına göre izolatların çoğunun en az bir üçüncü nesil sefalosporine dirençli olduğu kaygı verici olarak değerlendirilmiştir.

Türkiye'de GSBL pozitif suşların prevalansı oldukça yüksektir. Klinisyenler ve diğer sağlık çalışanlarının GSBL pozitif mikroorganizmalar konusunda bilinçli olmalıdır. Ülkemizde GSBL pozitif suşlar ile ilgili bir veritabanı oluşturulması tedavide başarının artmasında önemli olup uygun infeksiyon kontrolü tedbirlerinin alınmasında da yol gösterici olacaktır.

7.KAYNAKLAR

1. **Abrahamand EP.** Chain, “An enzyme from bacteria able to destroy penicillin”. *Nature*, **1940**, vol.146, no.3713, p.837
2. **Agarwal J, Srivastava S, Singh M** Pathogenomics of uropathogenic *Escherichia coli*. *Indian J Med Microbiol* **2012**, 30: 141-149.
3. **Al-Agamy M H M, Ashour M S E D and Wiegand I.** First description of CTX-M β -lactamase-producing clinical *Escherichia coli* isolates from Egypt. *International Journal of Antimicrobial Agents*, **2006**, vol.27, no.6, pp.545–548
4. **Al-Agamy MH.** Phenotypic and molecular characterization of extended-spectrum beta-lactamases and AmpC beta-lactamases in *Klebsiella pneumoniae*. *Pak J Pharm Sci.* **2013**, 26 (2): 291-8.
5. **Ali AM, Rafi S, Qureshi AH** Frequency of Extended Spectrum β -Lactamases (ESBL) producing nosocomial isolates in a tertiary care hospital in Rawalpindi. *Pak Armed Forces Med J.* **2009**, (03).
6. **Aljanaby AAJ, Alhasnawi HMRJ.** Phenotypic and molecular characterization of multidrug resistant *Klebsiella pneumoniae* isolated from different clinical sources in Al-Najaf province-Iraq. *Pak J Biol Sci* **2017**, 20(5):217232.
7. **Aljanaby AAJ, Aljanaby IAJ.** Profile of antimicrobial resistance of aerobic pathogenic bacteria isolated from different clinical infections in Al-Kufa central hospitalIraq during period from 2015 to 2017. *Res J Pharm Tech* **2017**, 10(10):3264-3270).
8. **Ali T, Rahman S Ur, Zhang L, Shahid M, Zhang S et al.** ESBL-producing *Escherichia coli* from cows suffering mastitis in Chinacontain clinical class 1 integrons with CTX-M linked to ISCR1. *Frontiers in Microbiology*, **2016** vol.7, articleno, 1931
9. **Ali T, Rahman S Ur, Zhang L, Shahid M, Han D et al.** Characteristics and genetic diversity of multidrug resistant extended-spectrum beta-lactamase (ESBL)-producing *Escherichia coli* isolated from bovine mastitis. *Oncotarget*, **2017**, vol. 8, no. 52, pp. 90144– 90163
10. **Alsterlund R, Carlsson B, Gezelius L, Hægman S and B Olsson-Liljequist,** “Multiresistant CTX-M-15 ESBL-producing *Escherichia coli* in southern Sweden: description of an outbreak. *Infectious Diseases*, **2009**, vol.41, no.6-7, pp. 410–415
11. **Ambler RP, Coulson AF, Frere JM, Ghuysen JM, Joris B ve ark.** A standard numbering scheme for the class A beta-lactamases. *Biochem J*, **1991**, 276 (Pt 1): 269-70
12. **Anderson PAM.** Urinary tract infection. *Curr Opin Urol* **1996**, 6: 100–103
13. Antimicrobial Resistance Global Report on Surveillance. Geneva: *World Health Organization*; **2014**, 256
14. **Biedenbach DJ, Moet GJ, Jones RN.** Occurrence and antimicrobial resistance pattern comparisons among bloodstream infection isolates from the SENTRY Antimicrobial Surveillance Program (1997–2002). *Diagn Microbiol Infect Dis.* **2004**, 50:59–69.
15. **Bindayna KM, Senok AC, Jamsheer AE.** Prevalence of extended- spectrum beta- lactamase- producing Enterobacteriaceae in Bahrain. *J Infect Public Health* **2009**; 2:129- 35).
16. **Bien J, Sokolova O, Bozko P.** Role of Uropathogenic *Escherichia coli* Virulence Factors in Development of Urinary Tract Infection and Kidney Damage. *Int J Nephrol.* **2012**, 681473.
17. **Bomjan R** Prevalence of multidrug resistant strains with reference to Extended-spectrum β -lactamase producing strains among the bacterial pathogens isolated from different clinical samples at Tribhuvan University Teaching Hospita. *M.Sc. Dissertation submitted to the Central Department of Microbiology, Tribhuvan University, Kathmandu, Nepal*, **2005**.
18. **Bouchillon SK, Johnson BM, Hoban DJ, Johnson JL, Dowzicky MJ, et al.** Determining incidence of extended spectrum beta-lactamase producing Enterobacteriaceae, vancomycin-resistant *Enterococcus faecium* and methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in 38 centres from 17 countries: the PEARLS study 2001-2002. *Int J Antimicrob Agents*, **2004**, 4: 119-124.
19. **Bradford PA, Urban C, Mariano N, Projan S J, Rahal J J ve ark.** Imipenem resistance in *Klebsiella pneumoniae* is associated with the combination of ACT-1, aplasmid-mediated AmpC β -lactamase, and the loss of an outer membrane protein. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, **1997**, vol.41, no.3, pp.563–569
20. **Bonnedahl J, Stedt J, Waldenström J, Svensson L, Drobni M ve ark.** Comparison of extended-spectrum β -lactamase (ESBL) CTX-M genotypes in franklin gulls from Canada and Chile. *PLoS One* 10: e0141315, **2015**.

21. **Bradford PA.** Extended-spectrum β -lactamases in the 21st century: characterization, epidemiology, and detection of this important resistance threat. *Clin Microbiol Rev*, **2001**, 14(4):933-951.
22. **Bush K and Jacoby G A.** Updated functional classification of β -lactamases. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, **2010**, vol. 54, no.3, pp. 969–976
23. **Bush K, Jacoby GA, Medeiros AA.** A functional classification scheme for β -lactamases and its correlation with molecular structure. *Antimicrob Agents Chemother*, **1995**, 39(6):1211-1233.
24. CDC National Nosocomial Infections Surveillance. **2010**. Available from: <http://www.cdc.gov/ncidod/hip/surveill/nmis.htm>
25. **Canton R, Novais A, Valverdeetal A.** Prevalence and spread of extended-spectrum β -lactamase-producing Enterobacteriaceae in Europe. *Clinical Microbiology and Infection*, **2008**, vol. 14, supplement1, pp.144–153
26. **Canton R and Coque TM.** The CTX-M β -lactamase pandemic. *Current Opinion in Microbiology*, **2006**, vol. 9, no.5, pp. 466– 475
27. **Canton R, Gonzalez-Alba J M and Galan J C.** CTX-M enzymes: origin and diffusion. *Frontiers in Microbiology*, **2012**, vol. 3
28. **Castanon JIR.** History of the use of antibiotic as growth promoters in European poultry feeds. *Poultry Science*. **2007**, 86: 2466-2471
29. **Chaudhary V, Sharma G, Chaudhary N, Raghuvanshi RK.** High prevalence of multiple drug resistance among pediatric Escherichia Coli infections. *Int J Med Res Health Sci*, **2016**, 5: 166-169
30. **Cohen AE, Lautenbach E, Morales KH, Linkin DR.** Fluoroquinolone-resistant Escherichia coli in the long-term care setting. *Am J Med*, **2006**, s.119:958-63.
31. **Coque T M, Novais A, Carattoli A, Poirel L, Pitout J et al.** Dissemination of clonally related Escherichia coli strains expressing extended spectrum β -lactamase CTX-M-15. *Emerging Infectious Diseases*, **2008**, vol.14, no.2, pp. 195–200
32. **Cox D.** Antibiotic resistance: the race to stop the silent tsunami facing modern medicine. *The Guardian*. **2015**, Aug 21.
33. **Coudron PE, Moland ES, Thomson KS.** Occurrence and detection of AmpC -lactamases among Escherichia coli, Klebsiella pneumoniae and Proteus mirabilis isolates at a veterans medical Center. *J Clin Microbiol*, **2000**, s:38, 1791-6
34. **DAndrea M M, Arena F, Pallecchi L, and Rossolini G M.** CTX-M-type β -lactamases: a successful story of antibiotic resistance. *International Journal of Medical Microbiology*, **2013**, vol. 303, no.6-7,pp.305–317
35. **Delcour A H.** Outer membrane permeability and antibiotic resistance. *Biochimica et Biophysica Acta—Proteins and Proteomics*, **2009**, vol.1794, no.5, pp. 808–816
36. **Erişim:** <http://emedicine.medscape.com/article/226434-overview#a5>.
37. **Erişim:** <https://ecdc.europa.eu/>
38. **Erişim:** <https://www.lahey.org/Studies/>
39. **Erişim:** <http://www.lahey.org/Studies/other.asp/table1>
40. **Exner M, Bhattacharya S, Christiansen B, Gebel J, Bermes PG ve ark.** Antibiotic resistance: What is so special about multidrug-resistant Gram-negative bacteria? *GMS Hygiene and Infection Control*, **2017**, Vol. 12
41. **Farshad S, Ranjbar R, Japoni A, Hosseini M, Anvarinejad M, et al.** Microbial susceptibility, virulence factors and plasmid profiles of uropathogenic Escherichia coli strains isolated from children in Jahrom Iran *Arch Iran Med* **2012**, 15: 312-316.
42. **Farzana R, Shamsuzzaman SM, Mamun KZ, Shears P** Antimicrobial susceptibility pattern of extended spectrum b-lactamase producing gram-negative bacteria isolated from wound and urine in a tertiary care hospital Dhaka city, Bangladesh. *Southeast Asian J Trop Med Public Health*. **2013**, 44: 96-103
43. **Fedarovich A, R A Nicholas, and C Davies.** The role of the β 5- α 11 loop in the active-site dynamics of acylated penicillinbinding protein A from Mycobacterium tuberculosis. *Journal of Molecular Biology*, **2012**, vol.418, no.5, pp.316–330
44. **Finch R, Davey P, Wilcox MH, and Irving W.** Antimicrobial Chemotherapy, *Oxford University Press*, **2012**
45. **Foxman B, Zhang L, Palin K, Tallman P, Marrs S.** Bacterialvirulence characteristics of Escherichia coliisolates fromfirst-time urinary tract infection. *J Infect Dis*, **1995**,171:1514–1521
46. **Fu Y, Zhang W, Wang H, Zhao S, Chen Y et al.** Specific patterns of gyrA mutations determine the resistance difference to ciprofloxacin and levofloxacin in *Klebsiella pneumoniae* and *Escherichia coli*. *BMC Infect. Dis*, **2013**, s. 13, 8
47. **Flores-Mireles AL, Walker JN, Caparon M, Hultgren SJ.** Urinary tract infections: epidemiology, mechanisms of infection and treatment options. *Nat Rev Microbiol*, **2015**, 13(5):269-284.

48. Gales Activity and spectrum of 22 antimicrobial agents tested against urinary tract infection pathogens in hospitalized patients in Latin America: Report from the second year of the SENTRY Antimicrobial Surveillance Program. *J Antimicrob Chemother*, **1998**, 45: 295-303
49. Gupta P, Kumar N, Gautam P. Antibiotic resistance and its detection: role of specific proteins of multidrug resistance (mdr) strains. *Biotechnology International*, **2013**, 6(3): 31-47.
50. Ghatole M, Manthalkar P, Kandle S, Yemul V, Jahagirdar V Correlation of extended spectrum β -lactamases production with cephalosporin resistance in gram negative bacilli. *Indian J Pathol Microbiol*, **2004**; 47:82-84
51. Gupta K, Hooton TM, Naber KG, Wullt B, Colgan R et al. International clinical practice guidelines for the treatment of acute uncomplicated cystitis and pyelonephritis in women: a 2010 update by the infectious diseases society of America and the European society for microbiology and infectious diseases. *Clin Infect Dis*, **2011**, 52(5):e103-120.
52. Gupta S. Prevalence of multidrug resistant uropathogens isolated from Ohm hospital Nepal. M.Sc. Dissertation submitted to the Central Department of Microbiology, Tribhuvan University, Kathmandu, Nepal, **2010**.
53. Harrison PF and Lederberg J. Antimicrobial Resistance: Issues and Options, *National Academies Press*, Washington, **1998**.
54. Haque R, Salam MA Detection of ESBL producing nosocomial gram negative bacteria from a tertiary care hospital in Bangladesh. *Pak J Med Sci*, **2010**, 26: 887-891.
55. Hassan S, Jamal SA, Kamal M. Occurrence of multidrug resistant and esbl producing *E. coli* causing urinary tract infections. *Australian Journal of Basic and Applied Sciences*. **2011**, 7: 39-43.
56. Hawkey PM. Prevalence and clonality of extended-spectrum betalactamases in Asia. *Clin Microbiol Infect*. **2008**, 14 Suppl 1: 159-65.
57. Hirakata Y, Matsuda J, Miyazaki et al. Regional variation in the prevalence of extended-spectrum β -lactamase-producing clinical isolates in the Asia-Pacific region (SENTRY 1998-2002). *Diagnostic Microbiology and Infectious Disease*, **2005**, vol. 52, no.4, pp.323–329.
58. Hassan S, Jamal SA, Kamal M Occurrence of multidrug resistant and esbl producing *E.coli* causing urinary tract infections. *Australian Journal of Basic and Applied Sciences*, **2011**, 7: 39-43.
59. Ibukun A, Tolu O, Brian JM Extended-spectrum β -lactamases in isolates of *Klebsiella spp* and *Escherichia coli* from Lagos, Nigeria. *Nig J Health Biomed Sci*, **2003**, 2: 53-60.
60. Islam MS, Yusuf MA Extended spectrum beta lactamase producing uropathogenic *E. coli* infection in Dhaka Bangladesh. *Journal Of Bacteriology Research*, **2014**, 7: 1-7
61. Jabeen K, Zafar A, and Hasan R. Frequency and sensitivity pattern of extended spectrum beta lactamase producing isolates in tertiary care hospital laboratory of Pakistan. *Journal of the Pakistan Medical Association*, **2005**, vol.55, no.10, pp.436–439
62. Jacoby GA, Munoz-Price LS. The new beta-lactamases. *The New England Journal of Medicine*, vol. **2005**, 352, no. 4, pp. 380– 391
63. Jacoby GA, Medeiros AA. More extended-spectrum β lactamases. *Antimicrob Agents Chemother* **1991**, 35(9): 1697-1704.
64. Jafri SA, Qasim M, Masoud MS. Antibiotic resistance of *E. coli* isolates from urine samples of urinary tract infection (UTI) patients in Pakistan. *Bioinformation*, **2014**, 10: 419-422.
65. Jakobsen L, Garneau P, Bruant G, Harel J, Olsen SS, et al. Is *Escherichia coli* urinary tract infection a zoonosis? Proof of direct link with production animals and meat. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis*, **2012**, 31: 1121-1129.
66. Jarlier V, Nicolas MH, Fournier G, Philippon A, Extended broad-spectrum beta-lactamases conferring transferable resistance to newer beta-lactam agents in Enterobacteriaceae: hospital prevalence and susceptibility patterns. *Rev Infect Dis*, **1988**, s.10: 867
67. Jostins L, Ripke S, Weersma et al RK. Host-microbe interactions have shaped the genetic architecture of inflammatory bowel disease. *Nature*, **2012** vol.491, pp.119–124
68. Kainthola A, Uniyal A, Srivastava N, Bhatt AB. Electric stimulations mediated beta lactam resistance reversal and correlation with growth dynamics of community acquired methicillin resistant *Staphylococcus aureus*. *Indian J Exp Biol*, **2015** s.53: 530
69. Kassis-Chikhani N, Vimont S, Asselat K, Trivalle C, Minassian B et al. CTXM beta-lactamase-producing *Escherichia coli* in long-term care facilities, France. *Emerg Infect Dis*. **2004**; 10 (9): 1697-8
70. Karim A, Poirel L, Nagarajan S, and Nordmann P. Plasmid mediated extended-spectrum β -lactamase (CTX-M-3 like) from India and gene association with insertion sequence ISEcp1. *FEMS Microbiology Letters*, **2001** vol. 201, no.2, pp.237–241

71. **Kate SK (2011)** Managing the E coli UTI. **Consultant Call NAVC Clinician's Brief 61-66. Asadi S, Kargar M, Solhjo K** The association of virulence determinants of uropathogenic escherichia coli with antibiotic resistance, Jundishapur. *J Microb*, **2014**, 7: 1-5.
72. **Kattel HP, Acharya J, Mishra SK, Rijal BP, Pokhrel BM** Bacteriology of urinary tract infection among patients attending Tribhuvan University Teaching Hospital, Kathmandu, Nepal. *J Nepal Assoc Med Lab Sci*, **2008**, 9: 25-2.
73. **Khanfar H S, Bindayna K M, Senok A C, and G. A. Botta.** Extended spectrum beta-lactamases (ESBL) in Escherichia coli and Klebsiella pneumoniae: trends in the hospital and community settings. *The Journal of Infection in Developing Countries*, **2009**, vol.3, no.4, pp.295–299
74. **Kolawale AS, Kolawole OM, Kandaki-Olukemi YT, Babatunde SK, Durowade KA, et al.** Prevalence of urinary tract infections (UTI) among patients attending Dalhatu Araf Specialist Hospital Lafia Nasarawa State Nigeria. *Int J Med Med Sci*, **2009**, 1: 163-167).
75. **Ko KS, Suh JY, Peck KR, Lee MY, Oh WS, et al.** In vitro activity of fosfomycin against ciprofloxacin-resistant or extended-spectrum β lactamase-producing Escherichia coli isolated from urine and blood. *Diagn Microbiol Infect Dis*, **2007**, 58: 111-115.
76. **Kumar P, Ranothkar S, Zutshi S, Mangala Lahkar, Phukan C ve ark.** Prevalence and identification of extended spectrum β -lactamases (ESBL) in Escherichia coli isolated from a tertiary care hospital in North-East India. *Indian Journal of Experimental Biology*, February **2016**, Vol. 54, , s. 108-114
77. **Kumar MS, Lakshmi V, Rajagopalan R** Occurrence of extended spectrum β -lactamases among Enterobacteriaceae ssp. isolated at a tertiary care institute. *Ind J Med Microbiol*, **2006**, 24: 208-211
78. **Kwon-Sam P.** Antimicrobial Resistance and Virulence Genes Presence in Escherichia coli Strains Isolated from Gomso Bay, Korea. *Fish Aquat Sci*. **2013**, 16 (4): 221-7.
79. **Lal P, Kapil A, Das BK, Sood S.** Occurrence of TEM & SHV gene in extended spectrum beta-lactamases (ESBLs) producing Klebsiella sp. isolated from a tertiary care hospital. *Indian J Med Res*, **2007**, s.125: 173.
80. **Laxminarayan R, Duse A, Wattal C, Zaidi AKM, Wertheim HFL ve ark.** Antibiotic resistance–The need for global solutions. *Lancet Infectious Diseases*. **2013**, 13: 1057-1098.
81. **Le Bouguéne C.** Adhesins and invasins of pathogenic Escherichia coli. *Int J Med Microbiol*. **2005**, 295(6-7): 471-8.
82. **Levy S B.** Antibiotic resistance: consequences of inaction. *Clinical Infectious Diseases*, **2001**, vol.33, supplement 3, pp. 124–129.
83. **Levy S B.** Factors impacting on the problem of antibiotic resistance. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, vol 49, no. 1, pp.25–30, **2002**
84. **Lewis JS, Herrera M, Wickes B, Patterson JE, Jorgensen JH.** First report of the emergence of CTX-M-type extended- spectrum beta-lactamases (ESBLs) as the predominant ESBL isolated in a U.S. health care system. *Antimicrob Agents Chemother*, **2007**, s: 51: 4015.
85. **Li X Z and Nikaido H.** Efflux-mediated drug resistance in bacteria: an up date. *Drugs*, **2009**, vol.69, no.12, pp. 1555–1623
86. **Livermore DM.** Current epidemiology and growing resistance of gram negative pathogens. *Korean J Intern Med*, **2012**, 27:128-142
87. **Livermore DM.** Introduction: the challenge of multiresistance. *Int J Antimicrob Agents*. **2007**, 29:3:1-7
88. **Livermore DM, Hawkey PM** CTX-M: changing the face of ESBLs in the UK. *J Antimicrob Chemother* **2005**, 56: 451-454.
89. **Lockhart SR, Abramson MA, Beekmann SE, Gallagher G, Riedel S ve ark.** Antimicrobial resistance among Gram-negative bacilli causing infections in intensive care unit patients in the United States between 1993 and 2004. *J Clin Microbiol*, **2007**, 45 (10): 3352-9
90. **Los FC, Randis TM, Aroian RV, Ratner AJ.** Role of pore-forming toxins in bacterial infectious diseases. *Microbiol Mol Biol Rev*, **2013**, 77(2): 173-207
91. **McPherson P, Gealt M.** Isolation of indigenous wastewater bacterial strains capable of mobilizing plasmid pBR325. *Appl Environ Microbiol*, **1986**, 51: 904-909.
92. **Manikandan C, Amsath A.** Antibiotic susceptibility pattern of Escherichia coli isolated from urine samples in Pattukkottai Tamilnadu. *International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences*, **2014**, 2(8): 330-337
93. **Mazzariol A, Bazaj A, Cornaglia G.** Multi-drug-resistant Gram-negative bacteria causing urinary tract infections: a review. *J Chemother*, **2017**, 9(sup1):2-9.
94. **Madigan MT, Martinko JM, Bender KS, Buckley FH, Stahl DA.** Brock Biology of Microorganisms. 14th ed. Illinois: *Pearson International*, **2014**, p. 1006
95. **Marshall BM, Levy SB.** Food animals and antimicrobials: Impacts on human health. *Clinical Microbiology Reviews*, **2011**, 24: 718-733

96. **Massova I and Mobashery S.** “Kinship and diversification of bacterial penicillin-binding proteins and β -lactamases”. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, **1998**, vol. 42, no.1, pp. 1–17
97. **Mathew AG, Liamthong S, Lin J.** Evidence of Int 1 transfer between Escherichia coli and Salmonella typhi. *Food Biology*, **2009**, 6(8):959-964
98. **Mazel D.** Integrons: agents of bacterial evolution. *Nature Reviews Microbiology*, **2006**, vol.4, no.8, pp.608–620
99. **Medeiros AA.** Evolution and dissemination of beta-lactamases accelerated by generations of beta-lactam antibiotics. *Clin Infect Dis*, **1997**, 24 Suppl 1: s.19-45
100. **Memariani M, Najar Peerayeh S, Zahraei Salehi T, Shokouhi Mostafavi SK.** Occurrence of SHV, TEM and CTX-M beta-Lactamase Genes Among Enteropathogenic Escherichia coli Strains Isolated From Children With Diarrhea. *Jundishapur J Microbiol*, **2015**, 8 (4): e15620
101. **Mirzaee M, Owlia P, Mansouri S.** Distribution of CTX-M β lactamase Genes Among Escherichia coli Strains Isolated from Patients in Iran. *Lab Med*, **2009**, 40 (1):724-27.
102. **Mohanty S, Gaind R, Ranjan R, Deb M.** Use of the cefepime-clavulanate ESBL Etest for detection of extended-spectrum beta-lactamases in AmpC co-producing bacteria. *J Infect Dev Ctries*, **2009**, s. 4: 24
103. **Moghaddam MN, Beidokhti MH, Jamehdar SA, Ghahraman M.** Genetic properties of blaCTX-M and blaPER β -lactamase genes in clinical isolates of Enterobacteriaceae by polymerase chain reaction. *Iran J Basic Med Sci*, **2014**, 17(5):378-383.
104. **Miller LG, Tang AW.** Treatment of uncomplicated urinary tract infections in an era of increasing antimicrobial resistance. *Mayo Clin Proc*, **2004**, 79: 1048-1053.
105. **Mills M, Meysick KC, O'Brien AD.** Cytotoxic necrotizing factor type 1 of uropathogenic Escherichia coli kills cultured human uroepithelial 5637 cells by an apoptotic mechanism. *Infect Immun*, **2000**, 68(10): 5869-80
106. **Mirzaee M, Pourmand M, Chitsaz M, Mansouri S.** Antibiotic Resistance to Third Generation Cephalosporins Due to CTX-M Type Extended-Spectrum β -Lactamases in Clinical Isolates of Escherichia coli. *Iran J Publ Health*, **2009**, 38 (1): 10-7
107. **Mishraa PM, Sarangib R, Padhya NR** Prevalence of multidrug resistant uropathogenic bacteria in pediatric patients of a tertiary care hospital in Eastern India. *J Infec Pub Health*, **2016**, 9: 308-314.
108. **Momtaz H, Karimian A, Madahi M, Safarpoor Dehkordi F, Ranjbar R ve ark.** Uropathogenic Escherichia coli in Iran: Serogroup distributions, virulence factors and antimicrobial resistance properties. *Ann Clin Microbiol Antimicrob*, **2013**, 12: 8
109. **Moubareck C, Daoud Z, Hakime NI, Hamze M, Mangeney N et al.** Countrywide spread of community- and hospital-acquired extended-spectrum beta-lactamase (CTX-M-15)-producing Enterobacteriaceae in Lebanon. *J Clin Microbiol*, **2005**, 43 (7): 3309-13
110. **Mulvey MA.** Adhesion and entry of uropathogenic Escherichia coli. *Cell Microbiol*, **2002**, 4(5): 257- 71
111. **Munday CJ, Xiong J, Li C, D Shen and PM Hawkey.** Dissemination of CTX-M type β -lactamases in Enterobacteriaceae isolates in the People's Republic of China. *International Journal of Antimicrobial Agents*, **2004**, vol. 23, no.2, pp.175–180
112. **Naseer U and Sundsfjord A.** The CTX-M conundrum: dissemination of plasmids and Escherichia coli clones. *Microbial Drug Resistance*, **2011**, vol.17, no.1, pp. 83–97
113. **Normark B and Normark S.** Evolution and spread of antibiotic resistance. *Journal of Internal Medicine*, **2002**, vol.252, no. 2, pp.91–106
114. **Oliver A, Perez-Diaz J C, Coque T M, Baquero F, and Canton R.** Nucleotide sequence and characterization of a novel cefotaxime-hydrolyzing β -lactamase (CTX-M-10) isolated in Spain. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, **2001**, vol. 45, no. 2, pp.616–620
115. **O'Neill J.** *Review on Antimicrobial Resistance. Tackling a global health crisis: initial steps.* **2014.**
116. **Parajuli PN, Maharjan P, Parajuli H, Joshi G, Paudel D, et al.** High rates of multidrug resistance among uropathogenic Escherichia coli in children and analyses of ESBL producers from Nepal. *Antimicrob Resist Infect Control*, **2017**, 6: 1-7.
117. **Pardesi KR, Yavankar SP, Chopade BA** () Plasmid distribution and antimicrobial susceptibility patterns of Acinetobacter genospecies from healthy skin of a tribal population in Western India. *Indian J Med Res*, **2007**, 125: 79-88.
118. **Parija S C.** Textbook of Microbiology & Immunology, *Elsevier HealthSciences*, **2014**
119. **Paterson DL, Bonomo RA.** Extended-spectrum beta-lactamases: a clinical update. *Clin Microbiol Rev*, **2005**, s. 18: 657-86. <https://doi.org/10.1128/CMR.18.4.657-686.2005> PMID: 16223952
120. **Paterson DL, Yu VL** Extended spectrum beta lactamases: a call for improved detection and control. *Clin Infect Dis*. **1999**, 29: 419-422

121. **Paterson DL, Bonomo RA** Extended-spectrum betalactamases: A clinical update. *Clin Microbiol Rev*, **2006**, 18: 657-686
122. **Peirano G, Van Der Bij AK, Gregson DB, and Pitout JDD**. Molecular epidemiology over an 11-year period (2000 to 2010) of extended-spectrum β -lactamase-producing *Escherichia coli* causing bacteremia in a centralized Canadian region. *Journal of Clinical Microbiology*, **2012**, vol.50, no.2, pp. 294–299
123. **Perilli M, Segatore B, Mugnaioli et al. C**. Persistence of TEM52/TEM-92 and SHV-12 extended-spectrum β -lactamases in clinical isolates of enterobacteriaceae in Italy. *Microbial Drug Resistance*, **2011**, vol.17, no. 4, pp. 521–524
124. **Piet JR, Van Ulsen P, Rahman S Ur, Bovenkerk S, Bentley S D et al.** Meningococcal two-partner secretion systems and their association with outcome in patients with meningitis. *Infection and Immunity*, **2016**, vol. 84, no.9, pp.2534–2540
125. **Pinet E, Franceschi C, Davin-Regli A, Zambardi G, Pages JM**. Role of the culture medium in porin expression and piperacillin-tazobactam susceptibility in *Escherichia coli*. *J Med Microbiol*, **2015**, 64 (11): 1305-14.
126. **Pitout J D D**. Infections with extended-spectrum betalactamase-producing enterobacteriaceae: changing epidemiology and drug treatment choices. *Drugs*, **2010**, vol.70, no.3, pp.313– 333
127. **Pitout J D D, Laupland KB** Extended spectrum beta lactamase producing Enterobacteriaceae: an emerging public health concern. *Lancet Infect Dis*, **2007**,8: 159-166.
128. **Poudyal S, Bhatta DR, Shakya G, Upadhyaya B, Dumre SP et al.** ESBL producing multi drug resistant clinical bacterial isolates at NPHL, Nepal. *Nepal Med Coll J*, **2011**, 13:34-38
129. **Queenan A M, Foleo B, Gownley C, Wira E, and Bush K**. Effects of inoculum and β -Lactamase activity in AmpC- and extended-Spectrum β -Lactamase (ESBL)-producing *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae* clinical isolates tested by using NCCLS ESBL methodology. *Journal of Clinical Microbiology*, **2004**, vol.42, no.1, pp.269–275
130. **Rahman S Ur, Arenas J, Ozturk H, N Dekker and P Van Ulsen**. The polypeptide transport-associated (POTRA) domains of TpsB transporters determine the system specificity of two-partner secretion systems. *The Journal of Biological Chemistry*, **2014**, vol.289, no.28, pp.19799–19809
131. **Rahman S Ur, Ali T, Ali I, Khan N A, Han B et al.** The Growing Genetic and Functional Diversity of Extended Spectrum Beta-Lactamases. *BioMed Research International*. Volume **2018**, Article ID 9519718, s. 14
132. **Rahman S Ur and P van Ulsen**. System specificity of the TpsB transporters of coexpressed two-partner secretion systems of *Neisseria meningitidis*. *Journal of Bacteriology*, **2013**, vol. 195, no. 4, pp.788–797
133. **Randall LP, Clouting C, Horton R A, Coldham N G, Wu G et al.** Prevalence of *Escherichia coli* carrying extended-spectrum β -lactamases (CTX-M and TEM-52) from broiler chickens and turkeys in Great Britain between 2006 and 2009. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, **2011**, vol.66, no.1, Article ID dkq396, pp. 86–95
134. **Rawat D, Nair D.** Extended-spectrum β -lactamases in Gram Negative Bacteria. *Journal of Global Infectious Diseases*, **2010**, 2: 263-274. <https://doi.org/10.4103/0974-777X.68531> PMID: 20927289
135. **Rice L B, Willey S H, G A Papanicolaou, Medeiros AA, Eliopoulos G M et al.** Outbreak of ceftazidime resistance caused by extended-spectrum β lactamases at a Massachusetts chronic-care facility. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, **1990**, vol. 34, no. 11, pp. 2193–2199
136. **Ryoo N H, Kim E.-C, Hong S G, Park Y J, Lee K et al.** Dissemination of SHV-12 and CTX-M-type extended-spectrum β -lactamases among clinical isolates of *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae* and emergence of GES-3 in Korea. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, **2005**, vol. 56, no.4, pp. 698–702.
137. **Sabir S, Anjum AA, Ijaz T**. Isolation and antibiotic susceptibility of *E. coli* from urinary tract infections in a tertiary care hospital. *Pak J Med Sci*, **2014**, 30(2): 389–392.
138. **Saleh AA, Ahmed SS, Ahmed M, Sattar ANI, Miah Md.R A et al.** Changing trends in uropathogens and their antimicrobial sensitivity pattern. *Bangladesh J Med Microbiol*, **2009**; 3: 9-12
139. **Shafiq M, Rahman H, Qasim M, Ayub N, Hussain S, et al.** Prevalence of plasmid-mediated ampC β -lactamases in *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae* at tertiary care hospital of Islamabad, Pakistan. *Euro J Microbiol Immunol*, **2013**, 4: 267-271.
140. **Shakya M, Quince C, Campbell JH**. Comparative metagenomic and rRNA microbial diversity characterization using archaeal and bacterial synthetic communities. *Environ Microbiol*, **2013**, 15: 1882-189.

141. **Sharma AR, Bhatta DR, Shrestha J, Banjara MR** Antimicrobial susceptibility pattern of escherichia coli isolated from urinary tract infected patients attending bir hospital. *Nepal Journal of Science and Technology*, **2013**, 14: 177-184.
142. **Shila J** Survey frequency of extended spectrum beta-lactamases (ESBLs) in Escherichia coli and Klebsiella pneumonia strains isolated from urinary tract infection in Iran. *Afr J Microbiol Res*, **2011**, 5: 3711-3715
143. **Samaha-Kfoury J N and Araj G F**. Recent developments in β lactamases and extended spectrum β lactamases. *British Medical Journal*, **2003**, vol.327, no.7425, pp.1209–1213
144. **Sarikhani Z, Nazari R, Nateghi Rostami M**. First report of OXA-143-lactamase producing Acinetobacter baumannii in Qom, Iran. *Iran J Basic Med Sci*, **2017**, 20(11): 1282-1286).
145. **Sasirekha B, Manasa R, Ramya P, Sneha R** Frequency and Antimicrobial Sensitivity Pattern Of Extended Spectrum β -Lactamases Producing E. coli and K. pneumoniae Isolated In A Tertiary Care Hospital. *Al Ameen J Med Sci*, **2010**, 3: 265271.
146. **Slama TG** Gram-negative antibiotic resistance: there is a price to pay. *Crit Care*, **2008**, 12: 1-7.
147. **Sharma S, Gupta A, Arora A**. Cefepime Tazobactam: A new β -lactam/ β -lactamase inhibitor combination against ESBL producing gram negative bacilli. *Int J Pharm Biomed Sci*, **2012**, 3:35-38
148. **Sharma M, Pathak S, Srivastava P**. Prevalence and antibiogram of Extended Spectrum β -Lactamase (ESBL) producing Gram negative bacilli and further molecular characterization of ESBL producing Escherichia coli and Klebsiella spp. *J Clin Diagn Res*, **2013**, 7:2173-2177
149. **Sharma VK, Johnson N, Cizmas L, McDonald TJ and Kim H**: A review of the influence of treatment strategies on antibiotic resistant bacteria and antibiotic resistance genes. *Chemosphere*, **2016**, s.150: 702-714
150. **Shobha KL, Gowrish RS, Sugandhi R, Sreeja CK**Prevalence of extended spectrum beta lactamases in urinary isolates of Escherichia coli, Klebsiella and Citrobaacter species and their antimicrobial susceptibility pattern in tertiary care hospital. *Ind J Pract Doct*, **2007**, 3: 1-2.
151. **Shrestha S, Amatya R, Dutta R**. Prevalence of extended spectrum β -lactamase (ESBL) production in gram negative isolates from pyogenic infection in tertiary care hospital of eastern Nepal. *Nepal Med Coll J*, **2011**, 13:186-189.
152. **Singh N, Sit MT, Chung DM, Lopez AA, Weerackoon R ve ark**. How often are antibiotic-resistant bacteria said to ‘evolve’ in the news? *PLoS One* 11: e0150396, **2016**.
153. **Soto SM, Guiral E, Bosch J, Vila J**. Prevalence of the set-1B and astA genes encoding enterotoxins in uropathogenic Escherichia coli clinical isolates. *Microb Pathog*. **2009**, 47(6): 305-307
154. **Spelberg B, Guidos R, Gilbert D, Bradley J, Boucher HW ve ark**. Infectious Diseases Society of America. The epidemic of antibiotic-resistant infections: a call to action for medical community from the Infectious Diseases Society of America. *Clin Infect Dis*, **2008**, 46: 155
155. **Shrestha A, Manandhar S, Pokharel P, Panthi P, Chaudhary KD** Prevalence of Extended Spectrum Beta-Lactamase (ESBL) producing multidrug resistance gram-negative isolates causing urinary tract infection. *EC Microbiol*, **2016**, 4: 749-755.
156. **Steward C D, Wallace D, Hubert S K, Lawton R, Fridkin S K** Ability of laboratories to detect emerging antimicrobial resistance in nosocomial pathogens: a survey of Project ICARE laboratories. *Diagnostic Microbiology and Infectious Disease*, **2000**, vol.38, no.1, pp. 59–67
157. **Tamang MD, Nam HM, Gurungetal M**. Molecular characterization of CTX-M β -lactamase and associated addiction systems in Escherichia coli circulating among cattle, farm workers, and the farm environment. *Applied and Environmental Microbiology*, **2013**, vol.79, no.13, pp.3898–3905
158. **Thakur S, Pokhrel N, Sharma M** Prevalence of multidrug resistant Enterobacteriaceae and extended spectrum β lactamase producing Escherichia coli in urinary tract infection. *Res J Pharm Biol Chem Sci*, **2013**, 4: 1615-1624.
159. **Thiraviam M, Yadesa D, Adugna T** Antibiotic resistant pattern of urinary tract infection causing Escherichia coli isolated from diabetic mellitus and non-diabetic mellitus patients with special reference to Rifampicin resistance. *Int J Curr Microbiol App Sci*, **2014**, 3: 668-674
160. **Thomson KS, Moland ES**. Cefepime, piperacillin-tazobactam, and the inoculum effect in tests with extended-spectrum β -lactamase-producing Enterobacteriaceae. *Antimicrob Agents Chemother*, **2001**, 45: 3548-3554.
161. **Ullah F, Malik SA, Ahmed J**. Antimicrobial susceptibility pattern and ESBL prevalence in K. pneumoniae from urinary tract infections in the North West of Pakistan. *Afr J Microbiol Res*, **2009**, 3:676-680.

162. **Ulsen P Van, S U Rahman, W S P Jong, M H Daleke Schermerhorn, and Luirink J.** Type V secretion: from biogenesis to biotechnology. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) Molecular Cell Research*, **2014**, vol.1843, no.8, pp.1592–1611
163. **Valenza G, Nickel S, Pfeifer Y, Pietsch M, Voigtländer E ve ark.** Prevalence and genetic diversity of extended-spectrum β -lactamase (ESBL)-producing *Escherichia coli* in nursing homes in Bavaria, Germany. *Vet Microbiol*, **2017**, s.200: 138-141
164. **Van Boeckel TP, Brower C, Gilbert M, Grenfell BT, Levin SA ve ark.** Global trends in antimicrobial use in food animals. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, **2015**, s:112:5649-5654
165. **Vazquez MF, Bellido JLM, Garcia MI and Garcia-Rodriguez JA.** *Salmonella enterica* serovar Enteritidis producing a TEM-52 β -lactamase: first report in Spain. *Diagnostic Microbiology and Infectious Disease*, **2006**, vol.55, no.3, pp. 245-246
166. **Wada T, Iwamoto T** Allelic diversity of variable number of tandem repeats provides phylogenetic clues regarding the *Mycobacterium tuberculosis* Beijing family. *Infect Genet Evol*, **2009**, 9: 921926.
167. **Walia S, Madhavan T, Williamson T, Kaiser A, Tewari R, et al.** Protein patterns, serotyping and plasmid DNA profiles in the epidemiologic fingerprinting of *Pseudomonas aeruginosa*. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis*, **1988**, 7: 248.
168. **Walther-Rasmussen J, Høiby N.** Cefotaximases (CTXM-ases), an expanding family of extended-spectrum β lactamases. *Can J Microbiol*, **2004**, 50(3):137-165.
169. **Wiegand I, Geiss HK, Mack D, Stürenburg E, Seifert H** Detection of Extended Spectrum β -Lactamases among Enterobacteriaceae by use of semi-automated Microbiology Systems and Manual Detection Procedures. *J Clin Microbiol*, **2007**, 45:1167-1174
170. **Wright A.J.** The penicillins. *Mayo Clinic Proceedings*, **1999** vol.74, no.3, pp.290–307
171. **Wei J, Wenjie Y, Ping L, NA W, Haixia N ve ark.** Antibiotic resistance of *Klebsiella pneumoniae* through β -arrestin recruitment-induced β -lactamase signaling pathway. *Experimental And Therapeutic Medicine*, **2018**, s.15: 2247-2254
172. **Woodford N, Ward ME, Kaufmann ME, Turton J, Fagan J.E. et al.** Community and hospital spread of *Escherichia coli* producing CTXM extended-spectrum beta-lactamases in the UK. *J Antimicrob Chemother*, **2004**, 54 (4): 735-43
173. **Yadav K, Prakash S.** Antimicrobial resistance pattern of uropathogens causing Urinary Tract Infection (UTI) among diabetics. *Biomed Res Int*, **2016**, 1: 7-15.
174. **Yadav K, Prakash S, Serayi RC, Shilpkar T, Shrestha S ()** Antimicrobial susceptibility test of pathogens isolated from urinary tract infection suspected cases. *Janaki Med Coll J Med Sci*, **2014**, 2: 28-34.
175. **Yadav K, Prakash S** Antimicrobial resistance (AMR): A global problem. *Glob J Publ Health Epidemiol*, **2016**, 3: 120-138
176. **Yagi T, Kurokawa H, Shibata N, Shibayama K, and Arakawa Y.** A preliminary survey of extended-spectrum β lactamases (ESBLs) in clinical isolates of *Klebsiella pneumoniae* and *Escherichia coli* in Japan. *FEMS Microbiology Letters*, **2000**, vol. 184, no.1, pp.53–56
177. **Yusha'u M, Aliyu HM, Kamurya AS and Suleiman K.** Prevalence of Extended spectrum β -lactamases among Enterobacteriaceae in Murtala Mohammed Specialist Hospital, Kano, Nigeria. *Bayero Journal of Pure and Applied Sciences*, **2010**, 3: 169172.
178. **Zapun A, Contreras-Martel C, and Vernet T.** “Penicillin binding proteins and β -lactam resistance”. *FEMS Microbiology Reviews*, **2008**, vol. 32, no.2, pp. 361–385
179. **Zhang L, Kinkelaar D, Huang Y, Li Y, Li X ve ark.** Acquired antibiotic resistance: are we born with it? *Appl. Environ. Microbiol*, **2011**, 77, s.7134–7141
180. **Zhao WH and Hu ZQ,** “Epidemiology and genetics of CTXM extended-spectrum β -lactamases in Gram-negative bacteria. *Critical Reviews in Microbiology*, **2013**, vol. 39, no. 1, pp. 79–101

ÖZGEÇMİŞ

1989 yılında Hatay’da doğdu. 2008 yılında Ege Üniversitesi Fen Fakültesi Biyoloji Bölümü’nü kazandı ve 2013 yılında mezun oldu. 2013 Eylül ayında Mustafa Kemal Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Tıp Mikrobiyoloji Anabilim Dalı’nda yüksek lisansa başladı.

