

**KLİNİK ÖRNEKLERDEN İZOLE EDİLEN K. PNEUMONİA,
K.OXYTOCA, E.COLİ SUŞLARINDA GENİŞLEMİŞ SPEKTRUMLU
BETA LAKTAMAZ ENZİMİ VARLIĞININ ARAŞTIRILMASI**

Gülden VURAL ECE

**YÜKSEK LİSANS TEZİ
BİYOLOJİ**

**GAZİ ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**EYLÜL 2005
ANKARA**

Gülden VURAL ECE tarafından hazırlanan “KLİNİK ÖRNEKLERDEN İZOLE EDİLEN K.PNEUNOMİA, K.OXYTOCA, E.COLİ SUŞLARINDA GENİŞLEMİŞ SPEKTRUMLU BETA LAKTAMAZ ENZİMİ VARLIĞININ ARAŞTIRILMASI” adlı bu tezin yüksek lisans tezi olarak uygun olduğunu onaylarım.

Prof.Dr. Güven URAZ
Tez Yöneticisi

Bu çalışma, jürimiz tarafından Biyoloji Anabilim Dalında yüksek lisans tezi olarak kabul edilmiştir.

Başkan : _____

Üye : _____

Üye : _____

Bu tez, Gazi Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü tez yazım kurallarına uygundur.

**KLİNİK ÖRNEKLERDEN İZOLE EDİLEN K. PNEUMONİA,
K.OXYTOCA, E.COLİ SUŞLARINDA GENİŞLEMİŞ SPEKTRUMLU
BETA LAKTAMAZ ENZİMİ VARLIĞININ ARAŞTIRILMASI
(Yüksek Lisans Tezi)**

Gülden VURAL ECE

**GAZİ ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
Eylül 2005**

ÖZET

Genişlemiş Spektrumlu Beta Laktamaz (GSBL) 1980'li yıllardan beri "genişlemiş spektrumlu" sefalosporinlerin Gram negatif bakterilerin sebep olduğu infeksiyonlarda yaygın biçimde kullanımı sonucu ortaya çıkmış, sayı ve çeşit yönünden hızla artarak tüm dünyada özellikle hastanelerde önemli bir sorun haline gelmiştir.

Bu çalışmada Gazi Üniversitesi Hastanesinin değişik poliklinik ve kliniklerinde Mikrobiyoloji laboratuvarına gönderilen çeşitli klinik örneklerden izole edilen 100 E.coli ve 100 Klebsiella suşunda GSBL varlığı araştırılmıştır. GSBL varlığı Çift Disk Sinerji Yöntemiyle incelenmiştir. 100 Klebsiella suşunun 70'i Klebsiella pneumoniae, 30'u Klebsiella oxytoca olarak tanımlanmıştır.

E.coli suşlarının 19'unda (%19) GSBL varlığı saptanmıştır. Klebsiella suşlarının 34'ünde (%34) GSBL bulunmuştur. Yetmiş K.pneumoniae suşunun 30'unda (%43), 30 K.oxytoca suşunun 4'ünde (%13) GSBL varlığı bulunmuştur.

GSBL pozitif bulunan *Klebsiella* suşlarının en duyarlı oldukları antibiyotikler sırasıyla İmipenem (%94,1), Piperasillin/Tazobaktam (%61,8), Amikasin (%58,8), Gentamisin (%41,2), Sefepim (%23,5), Siprofloksasin (%17,6) olarak bulunmuştur. *Klebsiella* suşlarının en dirençli buldukları antibiyotikler sırasıyla Amoksisilin/Klavulanikasit, Trimetoprim/Sulfametoksazol (%94,1), Sulbaktam/Ampisillin, Seftazidim, Aztreonam, Seftriakson (%88,2) olarak bulunmuştur. GSBL pozitif bulunan *E.coli* suşlarının en duyarlı oldukları antibiyotikler sırasıyla İmipenem (%100), Piperasillin/Tazobaktam (%94,7), Amikasin (%78,9), Gentamisin (%36,8) ve Sefepim (%31,5) olarak bulunmuştur. *E.coli* suşlarının en dirençli oldukları antibiyotikler sırasıyla Amoksisilin/Klavulanikasit (%100), Trimetoprim/Sulfametoksazol (%94,7), Seftazidim, Siprofloksasin (%84,2), Sulbaktam/Ampisillin, Seftriakson (%78,9), Aztreonam (%73,6) olarak bulunmuştur.

Sonuç olarak, GSBL üreten mikroorganizmaların rutin laboratuarlarda araştırılması ve klinisyenlere bildirilmesi, bu mikroorganizmalara bağlı enfeksiyonlarda tedavi başarısı için gereklidir.

Basit, hızlı ve ekonomik bir yöntem olan çift disk sinerji yöntemi, mütevazı laboratuvarlarda bile kolaylıkla bu amaç için kullanılabilir. Hastane enfeksiyonları ile etkili bir mücadele için, GSBL sıklığının araştırılması ve klinisyenlerin doğru antibiyotiğe yönlendirilmesi en önemli önlemlerden biri olacaktır.

Bilim Kodu : 401.03.04
Anahtar Kelimeler : Çift disk sinerji testi, GSBL, *K.pneumoniae*, *K.oxytoca*, *E.coli*
Sayfa Adedi : 94
Tez Yöneticisi : Prof. Dr. Güven URAZ

**INVESTIGATION OF THE EXISTENCE OF EXTENDED SPECTRUM
BETA-LACTAMASES (ESBL) ENZYME IN THE K.PNEUNOMIA,
K.OXYTOCA AND E.COLI STRAINS ISOLATED FROM CLINICAL
SPECIMENS**

(M.Sc. Thesis)

Gülden VURAL ECE

GAZI UNIVERSITY

INSTITUTE OF SCIENCE AND TECHNOLOGY

September 2005

ABSTRACT

Extended Spectrum Beta-Lactamases (ESBL) have been existed due to frequent usage of the “extended spectrum” cephalosporins at the infections caused by gram negative bacteria, count and types of ESBL increased all over the world and became an important problem.

The existence of the ESBL has been investigated in 100 E.coli and 100 Klebsiella strains isolated from different clinical specimens sent to Hospital of Gazi University from various clinics and policlinics. The existence of the ESBL has been investigated by double disk synergy test. 70 of the 100 Klebsiella strains were identified as Klebsiella pneumoniae and 30 were identified as Klebsiella oxytoca.

The existence of ESBL has been observed at 19 (%19) of the E.coli strains. The existence of ESBL has been observed at 34 (%34) of the Klebsiella strains. ESBL has been detected in the 30 (43%) of the 70 K. pneumoniae strains and 4 (13%) of the 30 K. oxytoca strains.

The antibiotics which GSBL positive Klebsiella strains are more sensitive were found as Imipenem (%94,1), Piperacillin/Tazobactam (%61,8), Amikacin (%58,8), Gentamicin (%41,2), Cefepime (%23,5), Ciprofloxacin (%17,6). Klebsiella strains found to be most resistant to Amoxicillin/Clavulanate, Trimethoprim/Sulfamethoxazole, (%94,1), Sulbactam/Ampicillin, Ceftazidime, Aztreonam, Ceftriaxone (%88,2). The antibiotics which GSBL positive E.coli strains are more sensitive were found as Imipenem (%100), Piperacillin/Tazobactam (%94,7), Amikacin (%78,9), Gentamicin (%36,8) ve Cefepime (%31,5). E.coli strains found to be most resistant to Amoxicillin/Clavulanate (%100), Trimethoprim/Sulfamethoxazole (%94,7), Ceftazidime, Ciprofloxacin (%84,2), Sulbactam/Ampicillin, Ceftriaxone (%78,9), Aztreonam (%73,6).

As a result, the analysis and report of the microorganism which produces ESBL by the routine laboratory is important for the success of the treatment of the infections due to these microorganisms.

The double disk synergy method which is simple, quick and inexpensive may be used by any simple laboratory for this purpose. In the measure of the Hospital Diseases the most important is the investigation of the frequency of ESBL and guiding clinicians to the correct antibiotics.

Science Code : 401.03.04
Key Words : Double disk synergy test, ESBL, K.pneumoniae, K.oxytoca, E.coli
Page Number : 94
Adviser : Prof. Dr. Güven URAZ

TEŞEKKÜR

Çalıőmalarım boyunca kıymetli fikirlerinden faydalandığım yardım ve katkılarıyla beni yönlendiren değerli hocam Prof. Dr. Güven URAZ'a yine kıymetli tecrübelerinden faydalandığım ve maddi ve manevi desteğini esirgemeyen değerli hocam Prof. Dr. Nedim SULTAN'a , bana yol gösteren değerli hocam aynı zamanda amcam Mecit VURAL'a, ayrıca laboratuvarda görevli tüm çalışma arkadaşlarıma, maddi ve manevi destekleriyle beni hiçbir zaman yalnız bırakmayan eşim Ömer ECE ve kardeşim Aydın VURAL'a, sevgili annem Güler VURAL'a teşekkürü bir borç bilirim.

İÇİNDEKİLER

	Sayfa
ÖZET	iii
ABSTRACT.....	v
TEŞEKKÜR.....	vii
İÇİNDEKİLER	viii
ÇİZELGELERİN LİSTESİ.....	xi
ŞEKİLLERİN LİSTESİ.....	xiii
RESİMLERİN LİSTESİ.....	xiv
SİMGELER VE KISALTMALAR.....	xv
1. GİRİŞ.....	1
2. GENEL BİLGİLER	3
2.1. Beta Laktamazların Genel Özellikleri.....	3
2.1.1. Beta laktamazların sentezi.....	3
2.1.2. Beta laktamazların hücredeki yeri.....	4
2.1.3. Beta laktamazların etki mekanizmaları	4
2.2. Beta Laktamazların Sınıflandırılması.....	5
2.2.1. Grup 1 (Ambler C Sınıfı) beta laktamazlar	5
2.2.2. Grup 2 (Ambler A Sınıfı) beta laktamazlar	6
2.2.3. Grup 3 (Ambler B Sınıfı) beta laktamazlar	10
2.2.4. Grup 4 beta laktamazlar.....	10
2.3. Beta Laktamazların İsimlendirilmesi	10
2.4. Genişlemiş Spektrumlu Beta Laktamazlar	11
2.4.1. Genel özellikleri	11

	Sayfa
2.4.2. GSBL tipleri.....	12
2.4.3. GSBL'lerin tanı yöntemleri	18
2.4.4. GSBL'lerin epidemiyolojik özellikleri	22
2.4.5. GSBL prevalansı	23
2.4.6. GSBL ile meydana gelen infeksiyonlarda tedavi yaklaşımı.....	26
2.4.7. GSBL direncinin sınırlandırılması	28
3. MATERYAL VE METOD.....	32
3.1. Örnek Toplama.....	32
3.2. Örneklerin Seçilmesi.....	32
3.3. İdentifikasyon.....	33
3.4. Antibiyotik Duyarlılık Testi	39
3.5. Çift Disk Sinerji Testi	40
3.6. Kullanılan Besiyerleri ve Ayıraçlar	40
3.6.1. EMB agar (Oxoid CM0069).....	40
3.6.2. TSI (Üç şekerli demirli agar) (Oxoid CM0277, UK)	41
3.6.3. İndol Besiyeri (Oxoid CM87) ve Kovacs ayırıcı	41
3.6.4. MR/VP Besiyeri, Metil Kırmızısı / Voges Proskauer Deneyi ve Ayıraçları.....	42
3.6.5. Sitrat Agar (Simons citrate agar) (Oxoid BO0379, UK)	43
3.6.6. Üreli Agar (Crystensen agar base)(Oxoid CM0053)	43
3.6.7. Mio (Motility Indole Ornithine) Medium (Difco TM 273520).....	44
3.6.8. Mueller-Hinton Agar (Oxoid CM0337).....	45

	Sayfa
4. BULGULAR	46
5. TARTIŞMA VE SONUÇ.....	64
KAYNAKLAR	70
ÖZGEÇMİŞ.....	78

ÇİZELGELERİN LİSTESİ

Çizelge		Sayfa
Çizelge 2.1.	Antibiyotiklerin kullanıma girmesi ve oluşan beta laktamazlar	7
Çizelge 2.2.	Beta laktamazların sınıflandırılması	8
Çizelge 2.3.	Doğrulama testleri uygulanması için NCCLS'in Önerdiği Değerler	19
Çizelge 2.4.	Bazı ülkelerde <i>K.pneumoniae</i> ve <i>E.coli</i> ' de GSBL prevalansı	24
Çizelge 2.5.	GSBL enzimlerinin coğrafi dağılımı.....	24
Çizelge 2.6.	GSBL üreten bakteri ile infeksiyon riski.....	25
Çizelge 3.1.	TSI agar besiyerinde bakterilerin reaksiyon sonuçları	34
Çizelge 3.2.	<i>E.coli</i> ve <i>Klebsiella</i> türleri için İMVİC test sonuçları	35
Çizelge 3.3.	Bakterilerin üreaz aktiviteleri	35
Çizelge 3.4.	Bakterilerin Mio medium besiyerindeki reaksiyonları	36
Çizelge 3.5.	API 20 E (bio-Merieux) test sisteminde yer alan biyokimyasal testler ve test sonuçlarının değerlendirilmesinde kullanılan kriterler.....	38
Çizelge 3.6.	API 20 E (bio-Merieux) test sisteminde kullanılan reaktifler	39
Çizelge 4.1.	200 hasta kültüründen izole edilen bakterilerin dağılımı	46
Çizelge 4.2.	100 <i>E.coli</i> izolatının klinik materyallere göre dağılımları	47
Çizelge 4.3.	100 <i>Klebsiella</i> izolatının klinik materyallere göre dağılımları	47
Çizelge 4.4.	G.S.B.L. enzimi üreten <i>E.coli</i> izolatları.....	49

Sayfa

Çizelge 4.5.	G.S.B.L. enzimi üreten <i>Klebsiella</i> izolatları.....	52
Çizelge 4.6.	<i>E.coli</i> izolatlarından G.S.B.L enzimi üreten suşların ve üretmeyen suşların hasta materyallerine göre dağılımı	55
Çizelge 4.7.	<i>Klebsiella</i> izolatlarından G.S.B.L enzimi üreten suşların ve üretmeyen suşların hasta materyalleri göre dağılımı	56
Çizelge 4.8.	G.S.B.L enzimi üreten <i>E.coli</i> izolatlarının çift disk sinerji testinde kullanılan antibiyotik disklerine dirençlilik ve duyarlılıkları	57
Çizelge 4.9.	G.S.B.L enzimi üreten <i>Klebsiella</i> izolatlarının çift disk sinerji testinde kullanılan antibiyotik disklerine dirençlilik ve duyarlılıkları	58
Çizelge 4.10.	İzole edilen 100 <i>E.coli</i> 'nin antibiyogram sonuçlarına göre direnç ve duyarlılık sonuçları	60
Çizelge 4.11.	İzole edilen 100 <i>Klebsiella</i> cinsi bakterinin antibiyogram sonuçlarına göre direnç ve duyarlılık sonuçları	61
Çizelge 4.12.	GSBL pozitif olan <i>Klebsiella</i> suşlarında antibiyogram sonuçları ve yüzde oranları	61
Çizelge 4.13.	GSBL pozitif olan <i>E.coli</i> suşlarında antibiyogram sonuçları ve yüzde oranları	62
Çizelge 4.14.	İzole edilen 200 <i>E.coli</i> ve <i>Klebsiella</i> cinsi bakterinin antibiyogram sonuçlarına göre direnç ve duyarlılık sonuçları	63

ŞEKİLLERİN LİSTESİ

Şekil	Sayfa
Şekil 4.1. 200 hasta kültüründen izole edilen bakterilerin yüzde oranları	46
Şekil 4.2. 100 <i>E.coli</i> izolatının klinik materyallere göre yüzde(%) dağılımları	47
Şekil 4.3. 100 Klebsiella izolatının klinik materyallere göre dağılımlarının yüzde(%) oranları	48
Şekil 4.4. G.S.B.L. enzimi üreten <i>E.coli</i> izolatlarının yüzde(%) dağılımları	49
Şekil 4.5. G.S.B.L. enzimi üreten Klebsiella izolatlarının yüzde(%) dağılımları.	52
Şekil 4.6. <i>E.coli</i> izolatlarından G.S.B.L enzimi üreten suşların ve üretmeyen suşların hasta materyallerine göre dağılımı.	55
Şekil 4.7. Klebsiella izolatlarından G.S.B.L enzimi üreten suşların ve üretmeyen suşların hasta materyallerine göre dağılımı	56
Şekil 4.8. G.S.B.L enzimi üreten <i>E.coli</i> izolatlarının çift disk sinerji testinde kullanılan antibiyotik disklerine dirençlilik ve duyarlılıkları	59
Şekil 4.9. G.S.B.L enzimi üreten Klebsiella izolatlarının çift disk sinerji testinde kullanılan antibiyotik disklerine dirençlilik ve duyarlılıkları.	59
Şekil 4.10. İzole edilen 200 <i>E.coli</i> ve Klebsiella cinsi bakterinin antibiyogram sonuçlarına göre direnç ve duyarlılık sonuçları.....	63

RESİMLERİN LİSTESİ

Resim	Sayfa
Resim 3.1. Mio medium (Difco TM 273520) besiyerinde <i>Klebsiella</i> cinsi bakterilerin reaksiyonlarının görünüşü	36
Resim 3.2. <i>E.coli</i> izolatlarının Mio medium (Difco TM 273520) besiyerindeki görünüşü.....	37
Resim 4.1. G.S.B.L. pozitif <i>E.coli</i> izolatu	50
Resim 4.2. G.S.B.L. pozitif <i>E.coli</i> izolatu	50
Resim 4.3. G.S.B.L. pozitif <i>E.coli</i> izolatu	51
Resim 4.4. G.S.B.L. pozitif <i>E.coli</i> izolatu	51
Resim 4.5. G.S.B.L. pozitif <i>Klebsiella</i> izolatu	53
Resim 4.6. G.S.B.L. pozitif <i>Klebsiella</i> izolatu	53
Resim 4.7. G.S.B.L. pozitif <i>Klebsiella</i> izolatu	54
Resim 4.8. G.S.B.L. pozitif <i>Klebsiella</i> izolatu	54

SİMGELER VE KISALTMALAR

Bu çalışmada kullanılmış bazı kısaltmalar, açıklamaları ile birlikte aşağıda sunulmuştur.

Simgeler

Açıklama

cm	Santimetre
g	Gram
ml	Mililitre
µg	Mikrogram
°C	Santigrat derece

Kısaltmalar

Açıklama

AK	Amikasin
AMC	Amoksisilin/klavulanikasit
ATM	Aztreonam
CAZ	Seftazidim
CİP	Siprofloksasin
CN	Gentamisin
CRO	Seftriakson
EMB	Eozin metilen blue
FEP	Sefepim
GSBL	Genişlemiş spektrumlu beta laktamaz
I	Orta Duyarlı
İMP	İmipenem
MHA	Mueller hinton agar
MİO	Motility Indole Ornithine

Kısaltmalar**Açıklama****MR**

Metil red

NCCLSNational Committee for Clinical Laboratory
Standarts**R**

Dirençli

S

Duyarlı

SAM

Sulbaktam/ampisillin

SXT

Trimetoprim/sulfametoksazol

TSI

Tri sugar iron

TZP

Piperasillin/tazobaktam

VP

Voges Proskauer

1. GİRİŞ

Genişlemiş spektrumlu beta laktamazlar, TEM-1, TEM-2, SHV-1 gibi enzimleri kapsarlar. Bu enzimler birkaç nokta mutasyonu ile gelişmiştir. Penisilinleri, 3. ile 4. kuşak sefalosporinleri ve monobaktamları inaktive edebilmektedirler (1).

Sadece TEM ve SHV tipinde (TEM 3,4,...69, SHV 2,3..24 olmak üzere) toplam 90 civarında GSBL bulunmaktadır. GSBL üreten suşlarla gelişen infeksiyonların tedavisinde genişlemiş spektrumlu beta laktamların kullanılması halinde tedavi başarısızlıkla sonuçlanmaktadır (1). Bu nedenle GSBL'lerin saptanabilmesi ve klinisyene varlığının bildirilmesi önemlidir.

Gram negatif bakterilerde beta laktam antibiyotiklere karşı direnç gelişiminde en önemli mekanizma beta laktamaz üretimidir (2). Her türde beta laktam antibiyotik günümüzde sayıları 350'yi aşan değişik beta laktamazlardan bir ya da daha fazlası tarafından hidrolize edilerek inaktive edilmektedir (3). Antibiyotik kullanımı ile direnç gelişimi arasındaki ilişkiyi gösteren en iyi örneklerden biri yeni beta laktam antibiyotiklerin geliştirilerek klinik kullanıma sunulması ve yaygın kullanımını takiben bakterilerin bu antibiyotiklere kısa sürede direnç geliştirmeleridir. 1980'li yıllarda klinik kullanıma giren "genişlemiş spektrumlu" sefalosporinlerin özellikle nozokomiyal kökenli Gram negatif infeksiyonlarda yaygın biçimde kullanımı bu antibiyotiklere karşı da bakterilerin etkili enzimler üretmelerine yol açmıştır. Direnç gelişen antibiyotikler içinde "oksiimino aminotiozil sefalosporinler" (sefotaksim, seftriakson ve seftazidim) ve aztreonam başta gelmektedir(4,5). Bu antibiyotiklerin etki spektrumlarının genişliği nedeniyle, bunların hidrolizine yol açan beta laktamazlar da "genişlemiş spektrumlu" ön adıyla adlandırılmışlardır (2).

Bilinen bir gerçek tüm dünyada GSBL sıklığının arttığıdır. Kuzey Amerikada *Klebsiella ssp.* için %4,2 ile %44 arasında oranlar verilirken *E.coli* için %3,3

ile %4,7 olarak belirtilmiştir. Güney Amerika'da ki oranlar *Klebsiella ssp.* için %40 ile %47, *E.coli* için %6,7 ile %25,4 olarak saptanmıştır. Pasifik ülkeleri ve Uzakdoğu ülkelerinde ise oranlar *Klebsiella ssp.* için %11,3 ile %51, *E.coli* için %7,9 ile %23,6 olarak bildirilmiştir(6,7,8,9). Avrupa ülkelerinde ise GSBL oranları açısından farklılıklar görülmektedir. Örneğin kuzey ülkelerinde GSBL prevalansı %1,5 civarında iken, Polonya, Rusya ve Türkiye gibi ülkelerde ise bu oran %39-47 civarındadır (10-15). Yapılan çalışmalarda bölgeye ve ülkeye göre GSBL oranları değişmektedir. Değişik ülkelerde yapılmış çalışmalar incelendiğinde *Klebsiella* türlerinde % 8 ile % 61 arasında değişen oranlarda GSBL varlığı tespit edilmiştir. *E.coli* izolatlarında ise bu oran %1,5 ile % 26,3 arasında değişmektedir (10,16-22).

Türkiye'de yapılan literatür taramalarında da değişik oranlarda GSBL varlığı tespit edildiği anlaşılmıştır. *E.coli*'lerde % 7.2 ile %39 arasında GSBL sıklığı saptanırken (23-29). *Klebsiella* türlerinde ise % 32,5 ile %45 arasında değişen oranlarda GSBL varlığı saptanmıştır (23-29).

Bu nedenlerle bu çalışmada, Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi hastanesinde yatan ya da çeşitli polikliniklere başvuran hastaların çeşitli klinik örneklerinden soyutlanan *E.coli* ve *Klebsiella* ' lar da genişlemiş spektrumlu beta laktamaz varlığının saptanması amaçlanmıştır. Böylece bu enzimlerin, bu bakterilerde bulunma sıklığı hakkında bilgi edinilecek ve uygun tedavi protokollerinin oluşturulmasına katkıda bulunulacaktır.

2. GENEL BİLGİLER

Antibiyotik direnci gerek toplum gerekse hastane kökenli infeksiyonların tedavisinde başarısızlığa yol açmakta ve giderek büyüyen bir sorun olarak karşımıza çıkmaktadır. Yeni antibakteriyel ilaçların klinik tedavide uygulanması bu ilaçlara karşı dirençli mikroorganizmaların ortaya çıkması ile sonuçlanmaktadır(30).

Bakterilerin antimikrobik ilaçlara karşı gösterdiği dirençte en sık kullandıkları mekanizmalardan biri, sentezledikleri enzimleri aracılığıyla ilacı etkisiz hale getirmeleridir. Beta laktam grubu antibiyotikleri hidroliz eden beta laktamaz enzimleri bu tip dirence en iyi örnektir (31).

Penisilin bağlayan proteinlerden türediği düşünülen beta laktamaz enzimlerinin doğada (yarı) sentetik beta laktam ilaçlar kullanıma girmeden önce de var olduğu bilinmekteydi. Mikroorganizmaların bu enzimleri ekolojik ortamlarını koruma amacıyla ürettiği sanılmaktadır. Günümüzde, büyük olasılıkla beta laktam antibiyotiklerin çok yaygın kullanılmalarının sonucu olarak yeni beta laktamaz enzimleri saptanmaya devam etmektedir ve bu antibiyotiklere karşı direnç de giderek artmaktadır (30-32).

2.1. Beta Laktamazların Genel Özellikleri

2.1.1. Beta laktamazların sentezi

Beta laktamazlar kromozomal veya plazmidlere bağlı olarak sentezlenebilirler. Plazmidler antimikrobiyal direncinin yayılmasında en önemli kaynaklardan biridir. Plazmidler Gram negatif bakteriler arasında konjugasyon, Gram pozitif bakteriler arasında transdüksiyon ile yayılabilmektedirler (32).

2.1.2. Beta laktamazların hücredeki yeri

Gram pozitif bakterilerde, beta laktamazlar ekzoenzimler olarak hücre membranından dışarıya salgılanırlar ve bu nedenle ilaç inaktivasyonu için gereken enzim miktarı fazladır. Gram negatif bakterilerde ise enzim periplazmik alanda bulunur ve bu nedenle az miktarda enzim bile, antibiyotiklerin sitoplazmik membrana bağlı penisilin bağlayan proteinlere ulaşmalarından önce etkisiz hale getirilmesine neden olur (30,31,33,34).

2.1.3. Beta laktamazların etki mekanizmaları

1975'te Spratt beta laktam antibiyotiklerin hedef molekülünün penisilin bağlayan proteinler (PBP) olduğunu tanımladı. PBP' ler peptidoglikan sentezinde görev yapan çeşitli enzimlerdir ve transpeptidaz, karboksipeptidaz veya glikozil transferaz yapısında olabilirler. Beta laktam antibiyotikler kovalan bağlarla bu moleküllere bağlanırlar, peptidoglikan sentezini inhibe ederler ve böylece bakteri üremesini engeller (35,36).

Beta laktamazlar, antibiyotik hedef bölgesine erişmeden beta laktam halkasını hidrolize ederek etkisiz hale getirirler (33,34,35). Beta laktamazlar, beta laktam halkasındaki amid bağlarını parçalarlar. Substratları olan antibiyotik ile karşılıklı etkileşerek kompleks bir ara ürün oluşturular. Daha sonra bu kompleks su ile hidrolize olur. Aktif enzim tekrar serbestleşir ve yeni beta laktam molekülleriyle etkileşime girer. Açığa çıkan beta laktam antibiyotiklerin asidik deriveleri etkisiz hale gelir ve antibakteriyel özelliklerini kaybederler (36-38).

En sık görülen beta laktamazların aktif bölgelerinde serin aminoasiti bulunmaktadır. Bu enzimler A, C, D grubunda yer almaktadır. B grubundaki beta laktamazların aktif bölgesinde farklı olarak çinko bulunur (33,34).

2.2. Beta Laktamazların Sınıflandırılması

Beta laktam antibiyotiklerin yaygın kullanımı sonucu farklı substrat özgüllüğü gösteren çok çeşit ve sayıda beta laktamaz enzimi saptanmıştır. Penisilinin geliştirilmesinden sonraki yirmi yıl içinde penisilinaz sentezleyen stafilkoklar tüm dünyada yayılmış, 1960' lardan sonra yarı sentetik penisilinler ve birinci kuşak sefalosorinlerin çıkması ile gram negatif basillerde bulunan beta laktamazlar önemli bir direnç mekanizması haline gelmiştir. Yirmibeş yıl boyunca gram negatif basillerde bulunan beta laktamazlar bir kaç çeşit ile sınırlı kalmış, ancak 1978'ten sonra birçok yeni beta laktam antibiyotiğin kullanıma girmesi ile eş zamanlı olarak beta laktamazların sayı ve çeşidinde ani bir artış gözlenmiştir (Çizelge 2.1.). Buna bağlı olarak bu enzimlerin gruplandırılması gerekli görülmüş ve farklı zamanlarda bir çok sınıflandırma şeması önerilmiştir (30,39,40).

Yaygın kabul gören ilk şema 1960' larda Richmond ve Sykes tarafından önerilmiştir. Ancak zamanla bu şemada hatalar ve eksiklikler görülünce 1989' da Karen Bush tarafından değiştirilmiştir. Günümüzde en sık kullanılan şemalardan birisi olan sınıflama substrat profilleri ve beta laktamaz inhibitörlerine duyarlılık temel alınarak 1995 yılında Bush-Jacoby- Medeiros tarafından yapılmıştır. Nükleotid dizilerine dayalı moleküler düzeydeki sınıflamanın ilk temellerini ise 1980 yılında Ambler yapmıştır (30,34,37,39,40). (Çizelge 2.2.)

2.2.1. Grup 1 (Ambler C Sınıfı) beta laktamazlar

Bu gruptaki enzimler beta laktamaz inhibitörlerine dirençlidir ve çoğunlukla kromozomal genler tarafından kodlanırlar. Kromozomal olarak kodlanan enzimlerin sentezi, bakteri beta laktam antibiyotikle karşılaştığı zaman çok fazla artabilir. Bu tür enzimlere indüklenebilen beta laktamazlar da denmektedir. Birinci grup enzimler daha sık *Enterobacter spp.*, *Serratia spp.*,

Citrobacter spp. ve *Pseudomonas aureginosa'* da bulunmaktadırlar (1,38,40,41).

2.2.2. Grup 2 (Ambler A Sınıfı) beta laktamazlar

Bu gruptaki enzimler plazmid tarafından taşınan genler tarafından kodlanmaktadır. Plazmidler bakteriden bakteriyeye geçebildikleri için enzimler yayılabilmektedir. Grup 2 enzimler klavulonik asit, sulbaktam, tazobaktam gibi beta laktamaz inhibitörleri tarafından etkisiz hale getirilebilir. Grup 2 enzimleri TEM ve SHV enzimlerini içerirler. TEM-1 enzimi 1965 yılında *Enterobacteriaceae* de saptanmıştır ve daha sonra *Haemophilus spp.*, *Neisseriae spp.* ve *Vibrio spp.*' ye yayılmıştır. SHV-1 1979' da saptanmıştır. Genellikle *Klebsiella spp.* de bulunur (38,40,41).

İlk saptanan Grup 2 enzimleri ampisilin ve birinci kuşak sefalosporinlere etkili iken ikinci ve üçüncü kuşak sefalosporinlere etkisizdi. Ancak zamanla bu enzimlerde meydana gelen mutasyonlar sonucu monobaktam ve üçüncü kuşak sefalosporinlere de etkili olan genişlemiş spektrumlu beta laktamazlar ortaya çıkmıştır (38,40,41).

Çizelge 2.1. Antibiyotiklerin kullanıma girmesi ve oluşan beta laktamazlar

Antibiyotik dönemi	Antibiyotik	Ortaya çıkan beta laktamaz	Üreten mikroorganizma
Penisilin dönemi (1940-1960) -Penisilin G	-Penisilin G	-Penisilnaz	<i>S.aureus</i> <i>E.faecalis</i>
Geniş spektrumlu penisilinler ve sefalosporinlerin yeni ortaya çıkışı (1960-1978)	-Metisilin -Okasasilin -Ampisilin -Nafsilin -Sefalotin -Karbenisilin -Sefazolin -Tikarsilin	-AmpC sefalosporinazlar -Plazmidle kodlanan geniş spektrumlu beta laktamazlar	<i>Enterobacteriaceae</i> <i>P. aureginosa</i>
Sefamisinler 3. kuşak Sefalosporinler Aztreonam (1978- 1986)	-Sefamandol -Sefoksitin -Sefotaksim -Piperasilin -Sefaperazon -Seftizoksim -Sefuroksime -Seftriakson -Seftazidim -Sefotetan -Aztreonam	-Dereprese Ampc -GSBL (1983-Almanya)	<i>Enterobacteriaceae</i> <i>P. aureginosa</i> Özellikle <i>K.pneumoniae</i> ve <i>E. coli</i>
Karbapenemler (1985)	İmipenem	Metallo beta laktamazlar Serin karbapenem hidroliz eden enzimler	<i>S. maltophilia</i> <i>B.fragilis</i> <i>S. marcescens</i>
1984-1993	Amoksisilin/ klavulonat Tikarsilin/ klavulonat Ampisilin/ sulbaktam Piperasilin / tazobaktam	İnhibitör dirençli TEM beta laktamazlar	<i>K.pneumoniae</i> <i>E. coli</i>

Çizelge 2.2. Beta laktamazların sınıflandırılması

Bush Jacoby Medeiros	Ambler	Tercih Edilen Substrat	Klavulonik Asit Reaksiyonu	Özellikler
1	C	Sefalosporinler	-	Gram negatif bakterilerde bulunan çoğunlukla kromozomal, bazen plazmid kaynaklı Amp-C enzimleri
2a	A	Penisilinler	+	Stafilokok ve enterekoklara ait penisilinazlar
2b	A	Sefalosporinler Penisilinler	+	Gram negatif bakterilerde bulunan geniş spektrumlu beta laktamazlar: TEM-1, TEM-2, SHV-1
2be	A	Penisilinler Sefalosporinler Monobaktamlar	+	GSBL : TEM-3, TEM-26, SHV-2, SHV-6 <i>Klebsiella oxytoca</i> K1
2br	A	Penisilinler	+/-	İnhibitöre dirençli TEM beta laktamazlar: TEM-30, TEM-36
2c	A	Penisilinler Karbenisilin	+	Karbenisilini hidrolize eden enzimler PSE-1, PSE-3, PSE-4
2d	D	Penisilinler Kloksasilin	+/-	Kloksasilini hidrolize eden enzimler OXA-1, OXA-11

Çizelge 2.2. Beta laktamazların sınıflandırılması (devamı)

2e	A	Sefalosporinler	+	<i>Proteus vulgaris</i> 'in indüklenebilir sefalosporinazları
2f	A	Penisilinler Sefalosporinler Karbapenemler	+	Karbapenemleri hidrolize eden enzimler <i>Serratia marcescens</i> , Sme-1
3	B	Bir çok beta laktam Karbapenemler	-	Monobaktamlar dışındaki beta laktamazları hidrolize eden metallo beta laktamazlar: <i>S. maltophilia</i> , L-1
4	Belirlenmemiş	Penisilinler	-	Diğer gruplara dahil edilmeyen beta laktamazlar: <i>Burkholderia cepacia</i> 'nın penisilinazı

2.2.3. Grup 3 (Ambler B Sınıfı) beta laktamazlar

Grup 3 beta laktamazlar karbepenemleri inaktive eden metallo beta laktamazlardır (42). Aktiviteleri için çinko iyonlarına gereksinimleri vardır, EDTA ile inhibisyona uğrarlar ve klavulonik aside direnç gösterirler. Bu grup enzimler *Stenotrophomonas maltophilia*, *Bacteroides fragilis* ve *Pseudomonas aureginosa*'da bulunmaktadır (38,40,41).

2.2.4. Grup 4 beta laktamazlar

Diğer gruplara dahil edilemeyen *Burkholderia cepacia*'nın penisilinazı gibi enzimleri içerirler (38,40,41).

2.3. Beta Laktamazların İsimlendirilmesi

Beta laktamazların isimlendirilmesindeki farklı yaklaşımlar, bu enzimleri gördüklerinde daha fazla karmaşık bir hale getirmiştir. Bazı enzimler tercih ettikleri substralara göre (CARB, FUR, IMP, OXA), bazıları biyokimyasal özelliklerine göre (SHV, NBC), bazıları genlerine göre (Amp-C, CepA), bazıları izole edildikleri bakterilere göre (AER, PSE), suşlara göre (P99), hasta isimlerine (TEM, ROB), hastaneye, eyaletlere, bazıları da bulan kişilere göre isim almışlardır. Bunlardan bazıları geçerliliklerini yitirmiştir. Örneğin, SHV, sülfidril variable' dan kısaltılmıştır, buna karşın artık SHV-1 enziminin aktif bölgesinin sülfidril değil, serin hidroksil olduğu anlaşılmıştır. Benzer şekilde, ilk kez psödomonas'lardan izole edilmiş olan PSE enziminin artık enterobakterilerde de bulunabildiği bilinmektedir.

Son yıllarda büyük bir hızla artmakta olan TEM enziminden türeyen enzimlere ise CAZ (seftazidimaz), CTX (sefotaksimaz) veya IRT (inhibitor rezistan) gibi tanımlayıcı isimler verilmiş ve bu da bir karmaşaya yol açmıştır. Bu konuda önerilen ise ,TEM' den köken alan tüm enzimlerin TEM26, TEM43 gibi numara ile belirtilmesidir (30).

2.4. Genişlemiş Spektrumlu Beta Laktamazlar

2.4.1. Genel özellikleri

Genişlemiş spektrumlu beta laktamazlar, oksiminio sefalosporinleri hidrolize edebilen, klavulanik asit tarafından inhibe olabilen enzimler olarak tanımlanmaktadır(4). GSBL'ler oksiminio sefalosporinler ve aztreonamın yanısıra birinci kuşak sefalosporinleri ve geniş spektrumlu olanlar dahil penisilinleri de hidrolize uğrattırır. Ancak bu enzimlerin sefamisin grubu sefalosporinlere (sefoksitin ve sefotetan) karşı etkisi yoktur. Sefamisinlere etkili olmamaları, GSBL'leri AmpC tipi beta laktamazlardan ayıran önemli karakteristik özellikleridir (2,4,5). Ancak yine de istisnai durumların söz konusu olabileceği unutulmamalıdır. Örneğin TEM-52'nin moksalaktam ve sefotetanı hidrolize uğratabildiği gösterilmiştir (43). GSBL'lerin büyük çoğunluğu, özellikle de TEM ve SHV kökenli olanlar, plazmidler tarafından sentez edilmekle birlikte, kromozomlar aracılığıyla sentezlenen veya integron kökenli çok sayıda GSBL de mevcuttur. Şimdiye dek tanımlanan GSBL'lerin sayısı 200'ü aşmış durumdadır (2,40,44).

Günümüzde tüm beta laktamazlar içinde sayıları en hızla artan beta laktamaz gruplarının başında GSBL'ler gelmektedir (45). Yapısal özellikler ve evölüsyon açısından GSBL'ler 9 farklı grup içinde sınıflandırılmaktadırlar (2,46,47). Bu gruplar TEM, SHV, CTX-M, PER, VEB, GES/IBC, TLA, BES, ve OXA'dır. GSBL'lerin büyük çoğunluğu aktif bölgesinde bir serin molekülü içerir ve Ambler'in moleküler sınıflamasına göre A sınıfında yer alır (48). OXA grubu enzimler ise D moleküler sınıfında yer almaktadırlar. Beta laktamazların biyokimyasal özelliklerinin ön planda tutulduğu Bush-Jacoby Medeiros sınıflamasına göre ise GSBL'ler 2be, 2e ve 2d alt gruplarına sokulmaktadır (44,48,49). Grup 2b' de yer alan ve penisilin türevleri ile dar spektrumlu sefalosporinleri parçalayan enzimlere göre daha geniş spektrumlu oldukları için bu şekilde adlandırılmaktadırlar. GSBL' ler klavulonik asit, tazobaktam ve daha az oranda sulbaktam gibi beta laktamaz

inhibitörlerine duyarlıdır. GSBL'ler sefamisin ve karbapenemleri etkilememektedirler (2,40,44,48).

Ancak son yıllarda GSBL kategorisinde değerlendirilen bazı enzimlerin tam olarak bu tanıma uymadıkları gözlenmektedir. Çoğu GSBL, enterik Gram negatif bakterilerin klasik plazmid kökenli beta laktamazları olan TEM-I, TEM-2 ve SHV-I' den köken alır. Köken alınan ana enzimin aktif bölgesinin moleküler yapısındaki aminoasitlerden bir ile dördünün bazı araştırmacılara göre 7 aminoasidin yerine farklı aminoasitlerin gelmesi sonucu GSBL'ler oluşur(2,40,42,44). Enzimin yapısında meydana gelen bu değişiklik ile enzimin aktif bölgesi genişlemekte ve oksiminin yan zinciri taşıyan beta laktam antibiyotikleri bu enzimlerin substratı haline getirmektedir. Böylece enzim-substrat ilişkisinin sağlandığı aktif bölgede yeni bir modellenme oluşmakta ve geniş spektrumlu sefalosporinler (seftazidim, sefotaksim, seftriakson, sefuroksim) ve aztreonamın da bu enzimlerin etki spektrumuna girmesi sağlanmaktadır. Yani enzimi kodlayan gen yapısında oluşan değişime bağlı olarak peptid yapısında bazı aminoasit değişiklikleri meydana gelmesi GSBL'lere farklı substrat özgüllüğü sağlamaktadır. Bu enzimler çoğunlukla bakteri suşları ve türleri arasında yayılabilen büyük plazmidlerde kodlanmaktadır (40,44).

GSBL' ler başta *K. pneumoniae* olmak üzere, *Escherichia coli*, *Enterobacter spp.*, *Salmonella spp.*, *Proteus spp.*, *Citrobacter spp.*, *Morganella morganii*, *Shigella dysenteriae*, *Serratia marcescens*, *Pseudomonas aureginosa*, *Burkholderia cepacia* gibi birçok gram negatif bakteride bulunabilmektedir (40,44,50).

2.4.2. GSBL tipleri

Son yıllarda beta laktamazlarının sayısının hızla arttığı ve klinik açıdan önemli yeni enzim tipleri tanımlandığı görülmektedir. Günümüzde TEM türevi

beta laktamazların sayısı 130'u, SHV türü beta laktamazların sayısı 60' ı geçmiştir (40,44,51).

GSBL'ler iki gruba ayrılabilir:

1-TEM ve SHV türevleri

2-TEM ve SHV dışı GSBL' ler

TEM ve SHV türevi enzimler, TEM-1, TEM-2, SHV-1 gibi enzimlerden 1-4 nokta mutasyonu ile köken almış, geniş spektrumlu beta laktamları hidrolize edebilen enzimleridir.

TEM grubu

TEM-1 gram negatif bakterilerde en sık bulunan enzimdir ve ampisiline dirençli *E.coli*'lerin %90' ında dirençten bu sorumludur. Plazmid kökenli olarak bilinen en eski enzimdir. TEM-1 ve onun kimyasal benzeri TEM-2 enzimleri dar spektrumlu enzimlerdir; penisilin ve birinci kuşak sefalosporinleri hidrolize edebilir ancak oksimino-sefalosporinlere karşı aktiviteleri yoktur. GSBL fenotipi gösteren ilk TEM türevi TEM-3' tür ve 1987 yılında bildirilmiştir. O günden başlayarak TEM grubu beta laktamazların sayı ve çeşidinde büyük bir artış gözlenmiştir. TEM enziminde oluşan aminoasit değişiklikleri sonucunda GSBL' lerin fenotiplerinde önemli değişiklikler olmakta, örneğin belirli oksimino-sefalosporinleri hidroliz etme özellikleri veya izoelektrik noktaları değişebilmektedir (4, 40,44,50,52).

TEM-1 'in yapısındaki bir aminoasit değişikliği (39. pozisyondaki glutamin yerine lizinin geçmesi sonucu) oluşan TEM-2'nin substrat yapısı TEM-1 ile aynıdır. Bu nedenle bu enzim bir GSBL olarak kabul edilmez. Ancak 12 farklı pozisyonda oluşan aminoasit değişiklikleri günümüzde 100'ün üzerinde TEM kökenli GSBL'nin ortaya çıkmasına neden olmuştur. Bu enzimlerin bir kısmı 'inhibitör dirençli TEM (IRT)' türünde enzimler olup, geniş spektrumlu sefalosporinleri inhibe etmediklerinden ötürü gerçek anlamda GSBL olarak kabul edilmezler(4). Bu son sayılan enzimler adlarından da anlaşılacağı

üzere, klasik GSBL'lerin aksine beta laktamaz inhibitörlerinin etkilerine (özellikle sulbaktam ve klavulanat) karşı dirençlidirler. Ancak, tazobaktam bu enzimleri inhibe edebilmektedir(45,53). Günümüzde 20'den fazla IRT tanımlanmış durumdadır. TEM kökenli GSBL'ler en sık *E. coli* ve *K. pneumoniae*'de tanımlanmış olmakla birlikte, enterik ve non-enterik pek çok bakteride de bulunabilecekleri bildirilmiştir. TEM grubu beta laktamazlar, *E. coli* ve *K. pneumoniae* başta olmak üzere *Enterobacter aerogenes*, *Morganella morganii*, *Proteus mirabilis*, *Proteus rettgeri* ve *Salmonella spp.* gibi *Enterobacteriaceae* üyelerinde sık bulunmaktadır. Bu enzim daha nadir olarak *Capnocytophaga ochracea* ve *P. aureginosa* 'da bulunmaktadır (4,40,44,50).

SHV grubu

SHV grubu enzimlerin öncüsü olan SHV-1 enzimi en sık *K. pneumoniae*'de bulunmaktadır ve bu türde plazmid kökenli ampisilin direncinin %20' sine neden olmaktadır. SHV kökenli GSBL'lerin sayısı TEM kökenli olanlara kıyasla daha az olup, günümüzde sayıları yaklaşık 50 civarındadır. SHV türü enzimlerin geniş spektrumlu ilk türevi 1983 yılında bulunmuş ve SHV-2 olarak tanımlanmıştır. SHV grubu enzimler *K. pneumoniae*'dan başka *Citrobacter diversus*, *E. coli* ve *P. aureginosa*'da bildirilmiştir. Bu enzimlerden sadece bir tanesi (SHV-10) 'inhibitör dirençli' özellik göstermektedir(2,4,44,50).

CTX-M grubu

Son yıllarda GSBL'lerin arasına yeni bir grup katılmıştır. CTX-M olarak tanımlanan bu grup beta laktamazlar substrat olarak sefotaksimi tercih etmektedir. Seftazidimi bir miktar hidroliz etmekle birlikte klinikte dirence yol açacak kadar önemli değildir. Bu enzimlerin önemli bir özelliği de bunlara karşı tazobaktamın inhibitör etkisinin klavulonik asit ve sulbaktama göre fazla olmasıdır (2,40,44,50,54).

İlk CTX-M beta laktamaz 1989 yılında Almanya'da *E. coli*' de bildirilmiş, o tarihten bugüne kadar *Salmonella spp.* başta olmak üzere bir çok *Enterobacteriaceae* türünde saptanmış ve 1995 yılından itibaren büyük bir artış göstermiştir. Günümüzde CTX-M ailesinde 40 enzim bulunmaktadır. CTX-M-14, CTX-M-3, CTX-M-2 bu grupta en yaygın olan enzimlerdir. Bu enzimler hem insanlarda hem de sağlıklı hayvanlarda izole edilmişlerdir. Yayılmaları hem plazmid hem de hareketli genetik elementlere bağlıdır. CTX-M enzimleri çoğunlukla hastane infeksiyonlarından izole edilen mikroorganizmalarda bulunmaktadır, ancak SHV ve TEM enzimlerinden farklı olarak *V. cholerae*, tifo dışı *Salmonella* ve *Shigella spp.* gibi toplumdaki infeksiyon etkenlerinde de bildirilmektedir (2,40,44,50,54).

TEM ve SHV kökenli enzimlerle en fazla % 40 civarında benzerlik göstermektedirler. Bu grup enzimlerin en önemli özelliği sefotaksi seftazidime kıyasla çok daha iyi hidrolize edebilmeleridir(4,5). Benzer şekilde 1. kuşak sefalosporinlere benzilpenisiline kıyasla daha yüksek afinite gösterirler. Bu enzimi taşıyan mikroorganizmalar seftazidime klinik açıdan anlamlı direnç göstermezler. CTX-M türü enzimler yakın zamanda ülkemizde de gösterilmiştir (55).

OXA grubu

OXA grubu enzimler Ambler grup D' de yer alan ve daha çok *P. aureginosa*'da bulunan GSBL' lerdir. Oksasiline yüksek afinite göstermeleri nedeniyle bu adı almışlardır. Bu enzimlerin OXA-1' den OXA-10' a kadar olanları dar spektrumlu enzimleridir(52,56). TEM ve SHV türevlerinde olduğu gibi aminoasit dizilerindeki nokta mutasyonları sonucu oksiminosefalosporinleri hidroliz edebilen geniş spektrumlu enzimler haline gelmişlerdir (2,4,40,44,46,50,52,57).

Geniş spektrumlu OXA enzimlerinden ilki OXA-11 enzimidir ve Türkiye'de izole edilen bir *P. aureginosa* suşunda bulunmuştur. Daha sonra yine

dünyada ilk kez OXA-14, OXA-15, OXA-16, OXA-17 beta laktamazları Türkiye'de izole edilen *P. aeruginosa* suşlarında tanımlanmıştır (44,50).

Bu enzim genlerinin çoğunluğu plazmid, transpozon veya integron kontrolündedir. OXA enzimleri içinde OXA-20, OXA-23, OXA-24 gibi yeni tanımlanan enzimler karbapenemaz aktivitesi göstermektedir, bunlar GSBL değildir (40,44,50).

Beta-laktamaz inhibitörleri tarafından zayıf bir biçimde inhibe edilirler. Bu tipteki enzimlerin birçoğu ülkemizden elde edilen *P. aeruginosa* izolatlarında tanımlanmıştır(58,59,60). Bu enzimleri taşıyan psödomonasların en önemli özelliği seftazidime yüksek direnç göstermeleridir(52). Bu durumun tek istisnası OXA-17 olup, sefotaksim ve seftriaksona direnç sağlar(58). OXA türü enzimler *P. aeruginosa* dışında *A. baumannii* izolatlarında da tanımlanmıştır. Bu enzimlerden bazıları GSBL özelliği taşımamaktadır(4).

PER tipi enzimler

Bu enzimlerden PER-I ülkemizde önce *S.typhimurium*, takiben *P.aeruginosa* ve *A.baumannii* izolatlarında tanımlanmıştır(61,62,63). Yapılan epidemiyolojik çalışmalarda *P.aeruginosa* izolatlarının % 10'u, *A. baumannii* izolatlarının % 40'ı bu enzimi taşıyarak seftazidime direnç göstermektedir (63). Bu bakterilerle nozokomiyal infeksiyon geliştiren hastalarda, bakterinin PER-I enzimini taşıyor olması mortalite açısından istatistiksel olarak anlamlı ölçüde belirleyici olarak saptanmıştır(64). PER-I ülkemiz dışında Fransa (Türkiye'den giden bir hastadan elde edilen bir izolatta) ve İtalya'da *P.aeruginosa* izolatlarında tanımlanmış ve yakın zamanda Güney Kore'den bildirilen bir raporda asinetobakter izolatlarının % 56'sında bulunduğu gösterilmiştir (4,65). Bu grubun diğer üyesi PER-2 Arjantin'de *S.typhimurium* izolatlarında tanımlanmıştır(4). PER grubu enzimler özellikle seftazidim olmak üzere aminotiazolil sefalosporinlere direnç sağlarlar(42). Penisilinler bu enzimler için zayıf birer substrat olup, piperasilin in-vitro olarak PER

enzimlerine karşı aktivitesini korur. Beta-laktamaz inhibitörleri, sefamisinler ve karbapenemler de bu enzimlere karşı aktivite gösterirler.

Beta laktam inhibitörlere dirençli beta laktamazlar

Beta laktamaz inhibitörleri klinikte kullanılmaya başlandıktan sonra 1997 yılından itibaren bazı amoksisilin-klavulonik asite dirençli *E. coli*'ler bildirilmeye başlanmıştır. İnhibitörlere dirençli olan beta laktamazaların 3. kuşak sefalosporinleri hidrolize edememelerine karşın TEM ve SHV türü enzimlerden köken aldıkları için GSBL'lerle birlikte ele alınmaktadırlar. Günümüzde inhibitörlere dirençli enzimlerin (IRT) sayısı 22 civarındadır. IRT'ler en sık olarak *E. coli* de bulunmakla birlikte *K. pneumoniae*, *K. oxytoca*, *P. mirabilis* ve *Citrobacter freundii*'de de bildirilmektedir.

İnhibitörlere dirençli TEM türevleri klavulonik asit ve sulbaktama dirençli olmalarına karşın tazobaktama duyarlıdırlar (40,44,50).

Diğer GSBL'ler

Bu enzimler içinde yapısal olarak PER-I ile ilişkili olan VEB-I Güneydoğu Asya'da tanımlanmıştır. İsimleri yukarıda sayılan diğer enzimler dünyanın farklı ülkelerinde tek tek bakteri suşlarında tanımlanmıştır. Bunlar içinde PER-I, PER2, VEB-I, CME-I ve TLA-I birbirleriyle ilişkili olup, yaklaşık % 40-50 civarında homoloji gösterirler(4,46). Hepsi oksimino sefalosporinlere, özellikle de seftazidime ve aztreonama karşı direnç gelişimini sağlarlar. Bu enzimlerin bir kısmı bakteroides türlerinin kromozomal beta laktamazı ile kısmi bir homoloji gösterdikleri ve bu türden köken almış olabilecekleri düşünülmektedir(4).

Son yıllarda genişlemiş spektrumlu enzimlerden olup TEM, SHV, OXA veya CTX-M beta laktamazlardan köken almamış bazı enzimler bildirilmeye başlanmıştır. Bu enzimlerden biri PER-1 enzimidir. Bu enzim ilk kez

Fransa'da bir Türk hastadan izole edilen bir *P. aeruginosa* suşunda bulunmuş, kromozomal bir enzim olarak bildirilmiştir. Kısa bir süre sonra Türkiye'de 14 *P. aeruginosa* suşunda bulunan GSBL'nin PER-1 olduğu belirlenmiş ve ilk kez plazmid kontrolünde olduğu gösterilmiştir. Daha sonra İstanbul'da *Salmonella spp*'lerde de gösterilmiştir. PER-1 enzimi içeren *P. aeruginosa*'nın en belirgin özellikleri, izolatların seftazidime çok dirençli olmalarına karşın piperasilin için daha düşük bir direnç göstermeleridir. Bu enzimler klavulonik asit ve tazobaktama duyarlıdır. VEB-1 enzimi ilk kez Vietnam'da bir *E.coli* suşundan daha sonra Tayland' da bir *P. aeruginosa* suşundan elde edilmiştir(45,53). CME-1 enzimi bir *Chryseobacterium meningosepticum* suşundan, TLA-1 bir *E.coli* suşundan elde edilmiştir. PER-1, PER-2, VEB-1, CME-1, TLA-1 enzimleri % 50 homoloji göstermektedir ve oksiiimino-sefalosporinlere özellikle seftazidime ve aztreonama etkilidirler (40,44,50,66,67).

2.4.3. GSBL'lerin tanı yöntemleri

GSBL üreten etkenlerle infekte hastalara geniş spektrumlu beta laktam ajanların uygulanması genel olarak tedavi başarısızlığıyla sonuçlanmaktadır. Bu nedenle klinik mikrobiyoloji laboratuvarlarının bu tip enzimleri saptamak için geliştirilmiş standart tarama ve doğrulama testlerini uygulanması ve sonuçları doğru yorumlaması gerekmektedir.

NCCLS, GSBL üreten suşlar rutin antibiyotik duyarlılık testlerinde sefalosporinlere duyarlı görünseler bile bütün sefalosporinler, penisilinler ve aztreonama dirençli olarak bildirilmesini önermektedir(68).

Yanlış GSBL pozitif bildirimler , günümüzde en etkili ve en önemli tedavi seçeneği olan karbapenemlere karşı direnç gelişimine ve maliyet artışına , yanlış negatif bildirimler ise tedavi başarısızlığına yol açacaktır.

GSBL'si bulunan ve bulunmayan bakterilerle gelişen infeksiyonlar mortalite, morbidite ve sağlık giderleri açısından karşılaştırıldığında, ilk tedavi olarak karbepenemlerin kullanıldığı hastalar hariç GSBL üreten suşlarla gelişen infeksiyonlarda mortalitenin daha yüksek, yatış süresinin daha uzun ve sağlık giderlerinin daha yüksek olduğu belirlenmiştir (40,54,68,69).

Rutin laboratuvarlar için tanımlanmış GSBL saptama yöntemleri, tarama ve doğrulama testleri olarak iki kısımda incelenebilir. Bunlar dışında GSBL tiplerinin belirlenmesi için araştırma laboratuvarlarında uygulanan tanımlama yöntemleri de bulunmaktadır (40,54,69).

GSBL tarama testleri

NCCLS, *E. coli*, *K. pneumoniae*, *K. oxytoca* izolatlarında GSBL üretiminin taranması ve doğrulanması için standartlar geliştirmiştir (68). NCCLS önerilerine göre; disk difüzyon veya dilüsyon yöntemleriyle sefotaksim, seftriakson, seftazidim, aztreonam veya sefpodoksime karşı duyarlılığın azaldığının saptanması halinde doğrulama testleri uygulanmalıdır. İnhibisyon zonlarının daraldığı veya MİK değerlerinin yükseldiği durumlarda doğrulama testleri yapılmaktadır (Çizelge 2.3).

Çizelge 2.3. Doğrulama testleri uygulanması için NCCLS'in önerdiği değerler

Antibiyotik	İnhibisyon zonu(mm)	MİK(µg/ml)
Sefotaksim	≤27	≥2
Seftriakson	≤25	≥2
Seftazidim	≤22	≥2
Sefpodoksime	≤17	≥2
Aztreonam	≤27	≥2

GSBL doğrulama testleri

Fenotipik doğrulama testleri klavulonik asit ve indikatör sefalosporin ve/veya monobaktam arasındaki sinerjinin gösterilmesi temeline dayanmaktadır. Bu

testler, GSBL'leri beta laktamaz inhibitörlerinden etkilenmeyen Amp-C tipi enzimlerden ayırt etmektedir.

Doğrulama amacıyla değişik yöntemler tanımlanmıştır. Bunlardan en sık kullanılanları; klavulonik asit içeren kombinasyon disklerinin kullanımı , çift disk sinerji yöntemi, MİK'in saptandığı dilüsyon yöntemleri, E-test stripleri'dir (40,44,54,68,69).

Klavulonik asit içeren kombinasyon disklerinin kullanımı

Klavulonik asit içeren diskler ticari olarak bulunmakta ya da NCCLS önerilerine göre laboratuvarında hazırlanabilmektedir. Bu amaçla klavulonik asit içeren ve içermeyen seftazidim ve sefotaksim diskleri kullanılır. Agar disk difüzyon yöntemi uygulandıktan sonra klavulonik asit içeren ve içermeyen disklerin etrafındaki inhibisyon zonları ölçülerek karşılaştırılır. Kombinasyon diskleri etrafındaki zon, klavulonik asit içermeyen disk etrafındaki zona kıyasla ≥ 5 mm daha genişse, izolat GSBL üretimi açısından pozitif kabul edilir (40,44,54,68,69).

Çift disk sinerji yöntemi

Bu yöntemde test edilecek izolat, agar disk difüzyon kurallarına göre agar yüzeyine yayılır. Plağın ortasına bir amoksisilin klavulonik asit (AMC) diski ile etrafına disk merkezleri arasındaki uzaklık 30 mm olacak şekilde seftazidim, seftrakson, sefotaksim, aztreonam veya sefpodoksim diskleri yerleştirilir. İnkübasyondan sonra sefalosporin veya aztreonam etrafındaki inhibisyon zonunun AMC diskine doğru genişlemesi veya arada bakteri üremediği bir sinerji alanının bulunması, GSBL varlığını gösterir (57,60,61,63,66,76).

Kromozomal ve indüklenebilir Amp-C enzimi üreten türlerde, doğrulama testleri ile güçlükler bulunmaktadır. Klavulonik asit Amp-C tipi beta laktamazları indüklediği için, klavulonik asit yanındaki beta laktamazın

etkinliğini arttırmak yerine azaltmaktadır. Bu durumda GSBL varlığına bağımlı sinerji ortadan kalkmaktadır. Sulbaktam ve tazobaktam gibi sülfonlarla indüksiyon olmadığı için, Amp-C üreten türlerde klavulonik asit yerine bu ajanlar kullanılabilir. Sefepim, üçüncü kuşak sefalosporinlere kıyasla Amp-C tipi beta laktamazlardan minimal düzeyde etkilendiği için bu tip enzimleri üreten suşlarda GSBL saptanmasında daha güvenlidir. Yine Amp-C tipi beta laktamaz üreten suşlarda sefoksitine direnç görülmesi GSBL ayırımında kullanılabilecek bir parametredir (40,44,54,68,69).

Sulandırım yöntemleri

GSBL üretiminin belirlenmesi amacıyla, beta laktamaz inhibitörleri varlığında sefalosporin direnç düzeylerindeki azalmanın gösterilmesi için ayrıca standart mikrodilüsyon yöntemi de kullanılabilir. Bu durumda sefotaksim ve seftazidim MİK değerleri, hem tek başlarına, hem de klavulonik asit (4µm/ml) varlığında saptanır. Klavulonik asit varlığında MİK değerlerinde $\geq 3\log 2$ (8 kat) azalma, GSBL göstergesi olarak kabul edilir (40,44,54,69).

GSBL E-Test stripleri

Klavulonik asit varlığında MİK değerlerinde azalmayı gösteren diğer bir yöntem de GSBL E-test stripleridir. Stripler bir ucunda seftazidim, diğer ucunda seftazidim ve klavulonik asit içerecek şekilde hazırlanmıştır. Seftazidim/sefotaksim ve seftazidim/sefotaksim klavulonik asit MİK değerleri birbiriyle oranlandığında MİK değerinde ≥ 8 kat azalma olması GSBL varlığını gösterir (40,44,54).

Moleküler yöntemler

Enzimlerin tanımlanmasında araştırma amacıyla yaygın olarak kullanılmaktadır. Bu amaçla, DNA problemleri, PCR, oligotiplendirme, PCR-RFLP, PCR-SSCP, LCR, izoelektrik odaklama ve nükleotid dizi analizi gibi

yöntemler kullanılmaktadır. Ancak bu yöntemlerin çoğunda sadece enzim ailesi gösterilebilmektedir. Enzimin kesin olarak tanımlanması bu konuda altın standart yöntem olarak kabul edilen nükleotid dizi analizi ile mümkün olmaktadır. Bu yöntemle farklı enzim tipleri ve mutasyonlar saptanabilmektedir (40,44,50,54,69,70).

2.4.4. GSBL'lerin epidemiyolojik özellikleri

GSBL enzimleri tüm dünyada hastane infeksiyonlarında önemli bir problem haline gelmiştir ve ayaktan tedavi edilen hastalarda da görülme sıklığı artmaya başlanmıştır, GSBL diğer beta laktamazlar ile de birlikte bulunabilir (50,55).

GSBL prevalansı özellikle genişlemiş spektrumlu sefalosporinlerin klinik tedaviye girme zamanı ve yaygın kullanımı ile ilişkili olduğu için GSBL üreten suş sayısı ülkeden ülkeye, şehirden şehire, hastaneden hastaneye hatta aynı hastanedeki servisler arasında değişmektedir(40,50,69).

GSBL üreten bakteri ilk olarak 1983 yılında Almanya'dan, ilk hastane kaynaklı salgın da 1985 yılında Fransa'dan bildirilmiştir. Daha sonra Amerika Birleşik Devletleri'nden ve tüm dünyadan GSBL üreten suşlarla oluşan infeksiyonlar ve salgınlar rapor edilmiştir(50,69).

GSBL *Enterobacteriaceae* üyelerinin bir çoğunda görülse de en sık *K.pneumoniae*, *K. oxytoca*, *E.coli* de saptanır(40,54,69,70).

Klebsiella spp. kapsülleri olması nedeniyle kuruluğa daha dirençlidirler, cilt ve eşyalar üzerinde uzun süre kalarak çapraz infeksiyonlara neden olabilirler. Bu bakteriler arasında değişik yollarla veya GSBL kodlayan plazmidler aracılığıyla farklı suşlar arasında direnç genleri transfer edilerek yayılabilir.

GSBL taşıyan plazmidler 100 kb veya daha büyük plazmidlerdir. GSBL genleri taşıyan genler aynı zamanda aminoglikozid, kloramfenikol, tetrasiklin ve sülfonamid direnç genlerini de taşıyabilir. Birçok merkezde bu plazmidlerin yayılması veya klonun yayılması ile oluşan GSBL salgınları bildirilmiştir. GSBL' yi kodlayan genler bazen de transpozon ve integronlara yerleşip bakteriler arasında kolayca yayılabilirler. Bazen bu yayılma o kadar yoğun olabilir ki hastanede yatan hastaların üçte biri GSBL üreten suşlarla infekte veya kolonize olurlar. Salgınlar sırasında GSBL üreten suşlar hastaların alt gastrointestinal sisteminde yoğun bir şekilde kolonize olur ve hastalar arasında sağlık personelinin elleri ile nakledilirler. Bazı salgınlar ise termometre ve ultrason jeli gibi tıbbi araçlar ve gereçler aracılığıyla olmaktadır (40,44,54,69,70).

2.4.5. GSBL prevalansı

GSBL saptama ve rapor etme yöntemlerinin yetersizliği nedeniyle GSBL üreten mikroorganizmaların sıklığını belirlemek zordur. GSBL epidemiyolojisi hasta, hastanın bulunduğu ünite ve hastane ile coğrafik bölge ve ülke gibi değişik seviyelerde değerlendirilmelidir. Diğer yandan hastaneler arasındada farklılıklar olduğundan prevalans belirlenirken seçilen hastanelerde önem kazanmaktadır. Ancak bilinen bir gerçek tüm dünyada GSBL sıklığının arttığıdır. Avrupa ülkelerinde GSBL oranları açısından ciddi farklılıklar görülmektedir. Örneğin kuzey ülkelerinde GSBL prevalansı %1,5 civarında iken, Polonya, Rusya ve Türkiye gibi ülkelere ise bu oran %39-47 civarındadır (Çizelge 2.4). GSBL tipleri de farklı dağılım özellikleri göstermektedir. GSBL tipleri ve coğrafi dağılım özellikleri Çizelge 2.5'de sunulmuştur.(10-15)

GSBL üreten mikroorganizmalarla gelişen infeksiyonlarda bağımsız risk faktörlerini belirlemek için bir çok çalışma yapılmıştır. En sık belirlenmiş olan risk faktörleri uzun süreli hastanede kalma, yoğun bakım ünitesinde yatma veya daha önceden de hastanede kalma ve uzun süreli 3. kuşak sefalosprin

kullanımıdır. GSBL üreten suşlarla infeksiyon için tanımlanmış risk faktörleri Çizelge 2.6'da verilmiştir (44,54,69,70).

Çizelge 2.4. Bazı ülkelerde *K.pneumoniae* ve *E.coli*' de GSBL prevalansı

ÜLKE	ÇALIŞMA/YILI	<i>K.pneumoniae</i> GSBL(%)	<i>E. Coli</i> GSBL(%)
Avrupa	SENTRY 1997 1999	22,6	5,3
İtalya	2002	20,5	1,2
İspanya	EARSS 2001	-	1,5
Fransa	1996 2000	11,4	-
Hollanda	1997	< 1	< 1
Uzakdoğu ülkeleri	2002	25,2	10,1
Türkiye	Leblebicioğlu:1999 Durmaz 2001 Özakın 2003	55,5 48,8 73,3	15,5 1,1 12,4

Çizelge 2.5. GSBL enzimlerinin coğrafi dağılımı

GSBL türleri	Coğrafi dağılımı
TEM ve SHV	Tüm dünyada yaygın
İnhibitör dirençli TEM	Tüm dünyada yaygın
PER	Türkiye, Güney Amerika
OXA	Türkiye
CTX-M	Tüm dünyada yaygın

Çizelge 2.6. GSBL üreten bakteri ile infeksiyon riski

Risk Faktörleri	
<p><u>Hastanın yattığı ünite</u></p> <p>Yoğun bakım Cerrahi ünite Pediatrik ve yenidoğan üniteleri Rehabilitasyon üniteleri Bakım evleri Onkoloji üniteleri</p>	<p><u>Yabancı materyal ve invaziv girişimler</u></p> <p>Santral venöz katater Sonda Entübasyon ve mekanik ventilasyon Trakeostomi Gastrostomi, jejunostomi tüpü Nazogastrik tüp</p>
<p><u>Aldığı tedavi ve süre</u></p> <p>Uzun süreli antibiyotik 3.kuşak sefalosporin kullanımı Aminoglikozid kullanımı Uzun süreli hastanede kalış Uzun süreli yoğun bakımda kalış</p>	<p><u>Hasta ve altta yatan hastalık</u></p> <p>İleri yaş Yaş 12 haftadan küçük olması Düşük doğum ağırlığı Malign hastalık Kalp yetmezliği Diabet Acil abdominal cerrahi girişim Bağırsak kolonizasyonu Safra yolu hastalığı</p>

2.4.6. GSBL ile meydana gelen infeksiyonlarda tedavi yaklaşımı

GSBL direnci sonucu beta laktam antibiyotiklerin hidrolize edilmesi, GSBL pozitif mikroorganizmalarda ek olarak aminoglikozid, trimetoprim sulfometoksazol ve kinolonlara karşı görülen direnç de antibiyotik seçimini kısıtlamaktadır. Kısıtlayıcı bir diğer faktör ise mikroorganizmaların GSBL ile birlikte farklı direnç mekanizmalarına da sahip olmasıdır.

Üçüncü kuşak sefalosporinler

Üçüncü kuşak sefalosporinler (seftazidim, sefotaksim , seftirakson) GSBL pozitif mikroorganizmalara karşı etkili değildir. Antibiyotik duyarlılık testlerinde mikroorganizma inokulumunun 10^5 koloni/ml' den 10^7 koloni/ml' ye artırılması ile bir çok sefalosporinin minimal inhibitör konsantrasyonunda belirgin artış görülmektedir. Ciddi sistemik infeksiyonlarda bakteri yoğunluğunun bu düzeye çıkabilmesi nedeniyle tedavide başarısızlık olabilir. GSBL pozitif mikroorganizmalar antibiyotik duyarlılık testinde sefalosporinlere duyarlı olsa bile, bu mikroorganizmaların neden olduğu infeksiyonlarda üçüncü kuşak sefalosporinler kullanılmamalıdır (40,52,57).

Dördüncü kuşak sefalosporinler

Sefepim özellikle SHV türü bir çok GSBL'ye in vitro etkilidir. Bununla birlikte bakteri inokulumunun artırılması ile sefepim duyarlılığında azalma görülebilir. GSBL pozitif mikroorganizmalarla gelişen infeksiyonlarda sefepim kullanımı sonucu tedavi başarısızlığı veya GSBL pozitif suşların seleksiyonu görülebilir. GSBL pozitif mikroorganizmalarla oluşan infeksiyonlarda kullanılması önerilmemektedir (54,66,71).

Sefamisinler

Sefoksitin ve sefotetan diğer sefalosporinlere göre GSBL'lerden daha az etkilenirler ve in vitro olarak bu antibiyotiklere duyarlıdırlar. Bununla birlikte GSBL pozitif mikroorganizmalarla oluşan ciddi infeksiyonlarda tedavi sırasında porin mutasyonuna bağlı hızla direnç gelişmesi nedeniyle tedavi başarısızlığı görülebilir. Ülkemizde yakın zamana kadar kullanımda olan sefoksitin artık kullanımda değildir (54,66,71).

Beta laktam / beta laktamaz inhibitörleri

GSBL'ler genellikle, klavulonik asit, sulbaktam ve tazobaktam ile inhibe olurlar. İn vitro ve in vivo yapılan çalışmalarda beta laktam/beta laktamaz inhibitörlerinin GSBL pozitif mikroorganizmalara karşı etkili olduğu gösterilmiştir.

Mikroorganizmalarda yüksek oranda yapılan beta laktamaz enzimi, diğer beta laktamazların özellikle inhibitor dirençli beta laktamazların yapılması veya porin defekti olması gibi durumlarda etkisiz kalabilirler. AmpC indüklenebilir beta laktamazlara beta laktamaz inhibitörleri etkili değildir. Klavulonik asit beta laktamaz indüksiyonuna neden olabilir. Ciddi sistemik infeksiyonlarda beta laktam/beta laktamaz inhibitor kombinasyonlarının aminoglikozidlerle birlikte kullanılması tedavi başarısını arttırabilir (54,66,71).

Aminoglikozidler

Aminoglikozidler GSBL pozitif mikroorganizmalarla oluşabilen infeksiyonların tedavisinde kullanılabilirler. Bununla birlikte GSBL taşıyan plazmidler aminoglikozid direnç genlerini de taşıyabilirler. GSBL pozitif suşlar sıklıkla aminoglikozidlere de dirençlidirler (63,64,72).

Kinolonlar

Kinolonlar GSBL pozitif mikroorganizmalarla gelişen infeksiyonların tedavisinde kullanılabilecek antibiyotiklerdir. Bununla birlikte GSBL direnci ve kinolon direncinin birlikte görülme sıklığı artmaktadır. GSBL pozitif suşlarda % 10- 40 arasında değişen kinolon direncinin görülmesi, kinolonların kullanımını kısıtlamaktadır (54,66,71).

Karbepenemler

İmipenem ve meropenem GSBL pozitif mikroorganizmalarla gelişen infeksiyonların tedavisinde ilk seçenek antibiyotiklerdir. Tedavide tek başına kullanılabilirler (54,66,71).

2.4.7. GSBL direncinin sınırlandırılması

GSBL üreten bakterilerin oluşturduğu infeksiyonları sınırlandırma çalışmaları aşağıdaki başlıklar altında toplanabilir:

- 1-Sürveyans programlarının uygulanması
- 2-Antibiyotik kullanımının kontrolü
- 3-Dirençli suşların hastalara taşınmasının engellenmesi.

Sürveyans

Sürveyans terimi infeksiyonların ve antibiyotik direncinin izlenmesi anlamında kullanılmaktadır. Sürveyans programları antimikrobiyal duyarlılık oranlarını, çeşitli mikroorganizma topluluklarında direncin artışını, aktarılmasını ve direnç genlerinin ekspresyonunu gözlemek için uygulanırlar. İnfeksiyonların ve antibiyotik direncinin izlenmesi anlamında sürveyans, infeksiyon sağaltım politikalarının kuruma özgü profesyonel bir karakter kazanmasında ilk aşamadır.

Yapılan öncül sürveyans çalışmaları, lkemizde GSBL retiminin Avrupa lkeleri arasında en yüksek düzeylere ulaştığını göstermektedir.

Sorunun kontrol edilebilmesi için sağlık kurumları kendi kapasitlerinin izin verdiği ölçüde teknik alt yapı oluşturmak zorundadır. Sağlık kurumları kendilerine en uygun GSBL saptama yöntemini uygulamalıdır(44,54,69).

Antibiyotik Kullanımının Kontrolü

Uygun olmayan dozlarda ve kısa süreli ya da aralıklı antibiyotik kullanımı dirençli mikroorganizmaların artmasına neden olmaktadır. Dirençli mikroorganizmalarla oluşan infeksiyonların mortalitesi yüksektir ve hastanede yatış süresini uzatarak tedavi maliyetinin de yükselmesine yol açarlar. Hastaneye yatırılan olguların yaklaşık üçte birinde antibiyotik kullanılmakta ve bu antibiyotik kullanım oranı yoğun bakımlarda iki katına çıkmaktadır.

Geniş spektrumlu sefalosporinlerin özellikle seftazidimin yaygın kullanımı dirençli suşların seleksiyonuna ve GSBL yayılımına neden olmaktadır. Seftazidim kullanımının kısıtlandığı durumlarda tazobaktam /piperasilin ve GSBL üreten mikroorganizmalarda ilk seçenek olan karbapenemlere karşı direnç oranlarını arttırabilmektedir. Bu nedenle antibiyotik kullanım politikaları değiştirilmeden önce iyice dşnlmeli ve etkileri dikkatlice hesaplanmalıdır(44,54,69).

İzolasyon nlemleri

İzolasyon ve bariyer nlemleri; GSBL üreten mikroorganizmaların yayılmasını sınırlamada ve salgınların kontrolünde önemli yer işgal etmektedir.

Hastalıkları kontrol ve nleme merkezi GSBL üreten bakterilerinde içinde bulunduğu çoklu dirençli mikroorganizmalar için bu konuda önerilerde bulunmuştur(44,54,69).

GSBL üreten mikroorganizmalarla infekte veya kolonize hastalar için temas kontrol önlemleri

Kayıt sistemi

Hastaya ait tıbbi kayıtlara ve yatak başı kartlarına GSBL uyarısı eklenmelidir.

Eğitim

Hastaların, hastane personelinin ve ziyaretçilerin, korunma önlemleri ve uygulamaları konusunda eğitilmeleri gerekmektedir.

Temas önlemleri

GSBL üreten suşlarla infekte hastalarla mümkünse diğer hastalarla ilgilenildikten sonra ilgilenilmelidir.

Hastayla temastan önce sonra eller dezenfektan ile yıkanmalıdır.

Hastaya dokunurken veya ilgilenirken koruyucu önlük ve eldiven kullanılmalıdır.

İmha edilmeden önce tüm klinik materyal ayrı bir bölmede muhafaza edilmelidir.

Eller yıkanmadan, koruyucu giysiler değiştirilmeden hastadan hastaya geçiş yapılmamalıdır.

Eğer mümkünse GSBL üreten mikroorganizmalarla infekte ve kolonize hastalar için ayrı tıbbi cihazlar kullanılmalıdır veya diğer hastalar için kullanmadan önce dezenfekte edilmelidir.

Diğer bölümlere ve hastanelere nakil durumlarında yapılması gerekenler

Mümkün olduğunca hasta nakilleri ve hareketleri önlenmelidir. Nakil gerekliyse hastayı kabul edecek bölüm çapraz kontaminasyonu en aza

indirmek amacıyla gerekli önlemleri almaları için uyarılmalıdır. Eğer mümkünse hastayı bir an önce taburcu edilmelidir.

Hastanın yerleşimi

Eğer şartlar uygunsa hasta tek kişilik odaya yerleştirilmelidir yada aynı mikroorganizma ile meydana gelen aktif infeksiyonlu hastaları aynı odaya yerleştirilmelidir(54,69,70).

3. MATERYAL ve METOD

3.1. Örnek Toplama

Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Klinik Mikrobiyoloji Laboratuvarına 01.02.2005-01.06.2005 tarihleri arasında başvuran, yatan hastalar ve poliklinik hastalarından çeşitli kültür örnekleri toplanmıştır.

İdrar kültürü için hastalara steril kaplar verilmiş, hastanın bu kaplara idrar vermesi istenmiştir. Hastadan alınan idrarın EMB (Oxoid CM0069) agara ekilmiştir.

Kan kültürü örnekleri, yara yerinden alınan kültür örnekleri, bronş lavaşından alınan kültür örneği, safra sıvından alınan kültür örneği, kataterden alınan kültür örnekleri, ameliyat sonrası dokudan alınan kültür örneği steril şartlarda klinisyen tarafından hastadan alınıp laboratuvara ulaştırıldıktan sonra EMB agara (Oxoid CM0069) ekilmiştir.

3.2. Örneklerin Seçilmesi

İdrardan, kandan, yara yerinden, kataterden, dokudan, boğaz ve balgamdan alınan örnekler, EMB (Oxoid CM0069) agara ekildikten sonra 37°C' lik etüvde 24 saat inkübasyona bırakılmıştır. EMB (Oxoid CM0069) agarda üreyen kolonilerin koloni morfolojileri ve koloni sayıları incelenmiştir.

EMB (Oxoid CM0069) agarda laktoz pozitif metalik yeşil parlaklık veren koloniler şüpheli kabul edilmiş *E.coli* şüphesiyle biyokimyasal testlere alınmıştır. Özellikle idrar kültürlerinde koloni sayısı 50 000 den fazla olan örnekler çalışmaya dahil edilmiştir. Gram boyamaları yapılmış gram (-) basil oldukları görülmüştür.

EMB (Oxoid CM0069) agarda gri kahverengi merkezli mukoid koloniler ise Klebsiella oldukları şüphesiyle biyokimyasal testlere alınmıştır. Gram boyamaları yapılmış gram (-) basil oldukları görülmüştür.

3.3. İdentifikasyon

Şüpheli koloniler tek koloni oluşturmaları için EMB (Oxoid CM0069) agara pasajlanmıştır. 24 satlik enkübasyondan sonra saf koloniler TSI (Oxoid CM0277, UK) agara ekilmiş ayrıca İMVİC testine alınmışlardır. Daha sonra üreli agara (Christensen agar base, Oxoid CM0053) ve Mio medium (Difco™ 273520) besiyerine ekilerek adlandırılmışlardır. İzole edilen bakteriler manuel yöntemlere ek olarak API 20 E (bio-Merieux) ticari kitleri kullanılarak adlandırılmışlardır.

TSI (Oxoid CM0277, UK) agara iğne öze yardımıyla alınan saf koloni besiyerinin dik kısmına batırılmak suretiyle ekilmiş yatık kısmının yüzeyine de zik zaklar çizilerek ekim tamamlanmıştır. Sonuçlar 37°C'de bir gün inkübasyon süresi sonunda değerlendirilmiştir. Bu besiyeri bakterilerin glikoz, laktoz ve sükroz üzerindeki etkilerini ve H₂S oluşturup oluşturmadıklarını araştırma temeline dayanır. Glikozu fermente edip, laktozu ve sükrozu parçalayamayan bakteriler dipte sarı yatık alanda kırmızı renk oluştururlar. Dipte ve yatık alanda sarı renk oluşmuşsa, bakterinin laktozu veya sükrozu yada ikisini birden fermente edebildiği anlaşılır. Fermantasyon esnasında gaz oluşturması besiyerinin içinde gaz kabarcıkları yada besiyerinin parçalanmasının görülmesi ile anlaşılır (72,73,74). Buna göre izole edilen *E.coli* şüpheli bakteriler ve Klebsiella olduklarından şüphelenilen bakteriler için TSI (Oxoid CM0277, UK) agar besiyeri sonuçları Çizelge 3.1'de verilmiştir.

Çizelge 3.1. TSI agar besiyerinde bakterilerin reaksiyon sonuçları.

Bakteriler	TSI agar besiyeri reaksiyonları				
	Glikoz	Laktoz	Sükroz	Gaz	H ₂ S
<i>E.coli</i>	+	+	+	+	-
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	+	+	+	+	-
<i>Klebsiella oxytoca</i>	+	+	+	+	-

İMVİC test grubu İndol, Metil Kırmızısı, Voges Proskauer ve Sitrat testlerinden oluşmuştur. Şüpheli bakteri kolonisi iğne öze yardımıyla alınıp İndol testi için triptofanlı besiyerine (Oxoid CM87), daha sonra sırasıyla Metil Kırmızısı ve Voges Proskauer testleri için glukoz fosfatlı besiyerlerine ve sitrat (Oxoid BO0379) besiyerine ekilmiştir.

İndol testinde, bir gece 37°C'deki inkübasyon sonunda bakteri triptofonaz enzim aktivitesine sahipse Kovaks ayırıcı damlatıldığında (2ml'ye 5 damla) indol halkası oluşturur. Halka kırmızı renkteyse indol testi pozitif, sarı renkteyse negatif olarak değerlendirilmiştir. *E.coli* için indol testi pozitif, *Klebsiella* türleri için negatiftir (74).

Metil kırmızısı testinde bakteriler glukoz fosfatlı besiyerinde 48 saatlik inkübasyon sonunda glukozu kullanarak, karışık asit fermantasyon son ürünleri nedeniyle pH 4.5'un altında asit oluşturduysa besiyerine metil kırmızısı damlatıldığında (2,5ml'ye 5 damla) besiyerinin rengi kırmızıya döner. Besiyeri kırmızı ise pozitif sarı kalmışsa negatif olarak değerlendirilmiştir. *E.coli* için metil kırmızısı testi pozitif, *Klebsiella* türleri için negatiftir (74).

Voges-Proskauer testinde glukoz fosfatlı besiyerinde 48 saatlik inkübasyon sonunda glukoz fosfattan asetil metil karbinol oluşturmuşsa alfa-naftol (2,5ml'ye 6 damla) ve potasyum hidroksit (2damla) damlatıldığında besiyeri yaklaşık 20 dakika sonra kırmızıya dönüşür. Kırmızı pozitif sarı renkte

kalmışsa negatif değerlendirilmiştir. *E.coli* için Voges Proskauer testi negatif, Klebsiella türleri için pozitifdir (74).

Sitrat testinde bakterinin karbon kaynağı olarak sitratı kullanıp kullanmadığına bakılmaktadır. Besiyeri içinde bromtimal mavisini bulmaktadır. Besiyeri yeşilden maviye dönüşürse bakteri sitratı kullanıyor demektir ve test pozitifdir. Renk değişimi olmazsa test negatifdir. Sitrat testi *E.coli* için negatif, Klebsiella türleri için pozitifdir (74).

E.coli şüpheli bakteriler ve Klebsiella şüpheli bakteriler için İMVİC test sonuçları Çizelge 3.2'de verilmiştir.

Çizelge 3.2. *E.coli* ve Klebsiella türleri için İMVİC test sonuçları

Bakteriler	İMVİC test grubu			
	İndol	Metil kırmızısı	Voges Proskauer	Sitrat
<i>E.coli</i>	+	+	-	-
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	-	-	+	+
<i>Klebsiella oxytoca</i>	+	-	+	+

İzole edilen bakteriler üreli (Christensen agar base, Oxoid CM0053) agara ekilmişlerdir. Besiyeri 35°C'de 18-24 saat inkübasyon sonucunda değerlendirilmiştir. Buna göre izole edilen bakterilerin üreli (Christensen agar base, Oxoid CM0053) besiyerindeki reaksiyonları çizelge 3.3'de verilmiştir.

Çizelge 3.3. Bakterilerin üreaz aktiviteleri

Bakteriler	Üreaz aktivitesi
<i>E.coli</i>	-
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	+
<i>Klebsiella oxytoca</i>	+

İzole edilen bakteriler Mio medium (Difco™ 273520) besiyerine ekilmişlerdir. İğne öze yardımıyla alınan saf koloni besiyerine dik bir şekilde tek bir hatta batırılıp çekilmiş 37°C'de bir günlük inkübasyon sonucunda besiyeri değerlendirilmiştir. Değerlendirme yapılmadan önce besiyeri üzerine 2-3 damla kadar kovaks ayırıcı damlatılmıştır. Bu besiyeri bakterilerin hareket özelliklerini, ornitini kullanmalarını test etmektedir. Ayrıca damlatılan kovaks ayırıcı ile indol testi yapmaktadır (75). Buna göre izole edilen bakterilerin Mio medium (Difco™ 273520) besiyerin reaksiyonları çizelge 3.4'de verilmiştir. Reaksiyonların görüntüsü Klebsiella cinsi için resim 3.1'de, *E.coli* için resim 3.2'de verilmiştir.

Çizelge 3.4. Bakterilerin Mio medium besiyerindeki reaksiyonları

Bakteriler	Mio medium besiyerindeki reaksiyonlar		
	Hareket	Ornitin	İndol
<i>E.coli</i>	+	+	+
Klebsiella	-	-	+



Resim 3.1. Mio medium (Difco™ 273520) besiyerinde Klebsiella cinsi bakterilerin reaksiyonlarının görünüşü



Resim 3.2. *E.coli* izolatlarının Mio medium (Difco TM 273520) besiyerindeki görünüşü

Klinik izolatlar ayrıca API 20 E (bio-Merieux) ticari kitleri kullanılarak adlandırılmışlardır. API 20 E (bio-Merieux) *Enterobacteriaceae* familyasına ait gram (-) bakterileri ve diğer bazı gram (-) bakterilerin adlandırılmasında kullanılan hızlı identifikasyon sistemidir. 21 adet farklı biyokimyasal test içerir. Bu testler ONPG, arjinin, lizin, ornitin, citrat, indol, jelatinaz, glukoz, mannitol, inositol, sorbitol, ramnoz, sükröz, melibioz, amygdalin, arabinoz, oksidaz, triptofan deaminaz, triptofan indol prodüksiyon, üre, sodium tiyosülfat testlerinden oluşur. Bu testler çizelge 3.5'de verilmiştir. Saf koloni öze yardımıyla test sistemi içinde bulunan API suspansiyon medium (5 ml) içine 0,5 McFarland olacak şekilde karıştırılır. İnkübasyon kutularına pipet yardımıyla dağıtılır altı çizili ADH, LDH, ODC, H₂S ve URE kutularının üzerine bakteri süspansiyonundan sonra anaerobik ortam oluşturmak üzere, üzeri mineral yağ ile kapatılır. Bu işlemden sonra API 20 E (bio-Merieux) kapatılır ve 37°C'de bir günlük inkübasyona bırakılır. İnkübasyon süresi sonunda belirtilen kutulara reagentları damlatılarak belirtilen sürelerden sonra sonuçlar çizelgelere göre değerlendirilir. Gerekli bilgiler çizelge 3.6'da verilmiştir.

Çizelge 3.5. API 20 E (bio-Merieux) test sisteminde yer alan biyokimyasal testler ve test sonuçlarının değerlendirilmesinde kullanılan kriterler

Testler	Substrat	Reaksiyon/Enzim	Sonuçlar	
			Negatif	Pozitif
ONPG	2-nitrophenyl-βD-galactopyranosite	Beta-galaktosidase	Renksiz	Sarı
ADH	Arjinin	Arjinin dehidrolase	Sarı	Kırmızı /Oranj
LDC	Lizin	Lizin dekarboksilaz	Sarı	Oranj
ODC	Ornitin	Ornitin dekarboksilaz	sarı	Kırmızı /oranj
CİT	Sodium sitrat	Sitrat kullanımı	Soluk yeşil /Sarı	Mavi-yeşil /Sarı
H ₂ S	Sodyum tiyosülfat	H ₂ S üretimi	Renksiz /gri	Siyah dip
URE	Üre	Üreaz	Sarı	Kırmızı /oranj
TDA	Triptofan	Triptofan deaminase	Sarı	Koyu kahverengi
İND	Triptofan	İndol üretimi	Soluk yeşil /Sarı	Pembe
VP	Sodyum piruvate	Aseton üretimi	Renksiz	Pembe /kırmızı
GEL	Jelatin	Jelatinaz	Difüze olmamış	Difüze olmuş siyah pigment
GLU	Glukoz	Fermantasyon /oksidasyon	Mavi/mavi yeşil	Sarı
MAN	Mannitol	Fermantasyon /oksidasyon	Mavi/mavi yeşil	Sarı
İNO	İnositol	Fermantasyon /oksidasyon	Mavi/mavi yeşil	Sarı
SOR	Sorbitol	Fermantasyon /oksidasyon	Mavi/mavi yeşil	Sarı
RHA	Rhamnoz	Fermantasyon /oksidasyon	Mavi/mavi yeşil	Sarı
SAC	Sukroz	Fermantasyon /oksidasyon	Mavi/mavi yeşil	Sarı
MEL	Melibioz	Fermantasyon /oksidasyon	Mavi/mavi yeşil	Sarı
AMY	Amygdalin	Fermantasyon /oksidasyon	Mavi/mavi yeşil	Sarı
ARA	Arabinoz	Fermantasyon /oksidasyon	Mavi/mavi yeşil	Sarı
OX	Filtre kağıdı üzerine	Citokrome-oksidaz	Sarı	kırmızı

Çizelge 3.6. API 20 E (bio-Merieux) test sisteminde kullanılan reaktifler

Test	Reagent damlatılacak kutu	Reagent	Bekleme süresi	Sonuç	
				Negatif	Pozitif
TDA	TDA	1 damla TDA reagent	Hemen okunur	Sarı	Koyu kahve
IND	İND	1 damla İND reagent	2 dakika	Sarı halka	Kırmızı halka
VP	VP	1 damla VP1 1 damla VP2	10 dakika	Renksiz	Pembe /kırmızı
NO ₂	Glukoz	1 damla NİT1 1 damla NİT2	2-3 dakika	Sarı	Kırmızı
N ₂ indirgeme	Glukoz	1damla ZN	5 dakika	Kırmızı	Sarı
OX	Filtre kağıdı üzerine alınmış bakteri	1 damla OX reagent	1-2 dakika	Renksiz	Menekşe rengi

3.4. Antibiyotik Duyarlılık Testi

E.coli ve *Klebsiella* suşlarının antibiyotik duyarlılıkları Kirby Bauer Disk Diffüzyon Tekniği ile NCCLS kriterleri esas alınarak incelenmiştir. 22 g toz Mueller Hinton Agar (MHA, Oxoid CM0337) 1000 ml' ye distile su ile tamamlanıp 121 °C ' de 15 dakika otoklavlanarak 12 mm' lik plaklara 20'şer ml dağıtılmıştır. Bakterilerin 0,5 McFarland eşeline uygun süspansiyonları hazırlanmış ve plaklara ekimleri yapılmıştır. Ekilen plaklara trimetoprim/sulfametoksazol (SXT, 1,25/23,75 µg), sulbaktam/ampisillin (SAM, 10/10 µg), amoksisilin/klavulanikasit (AMC, 10/20 µg), siprofloksasin (CİP, 5 µg), aztreonam (ATM, 30 µg), seftriakson (CRO, 30 µg), seftazidim (CAZ, 30 µg), sefepim (FEP, 30 µg) gentamisin (CN, 10 µg), amikasin (AK, 30 µg), piperasillin/tazobaktam (TZP, 10/1:110 µg), imipenem (İMP, 10 µg) (Oxoid UK) antibiyotik diskleri yerleştirilmiştir. 37°C'de 18 saat inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyon sonunda zon çapları ölçülerek NCCLS kriterlerine göre duyarlı (S), orta duyarlı (I), dirençli (R) olarak değerlendirilmiştir (68).

3.5. Çift Disk Sinerji Testi

Bakterilerin 0,5 McFarland eşeline uygun süspansiyonları hazırlanmıştır. MHA (Oxoid CM0337)' a ekilmişlerdir. Plağın ortasına amoksisilin/klavulanikasit (1/2, 30 µg), etrafına disk merkezinden disk merkezine uzaklığı 30 mm olacak şekilde, aztreonam (30 µg), seftazidim (30 µg), seftriakson (30 µg), sefotaksim (30 µg) diskleri yerleştirilmiştir. NCCLS kriterlerine uygun olarak zon çaplarının küçük olduğu dirençli suşlarda diskler arası uzaklık 25mm, 20mm, 15mm olacak şekilde yaklaştırılarak test tekrarlanmıştır. Daha sonra plaklar 37°C'de 18 saat inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyon sonunda zon çapları ölçülerek amoksisilin/klavulanikasit (1/2, 30 µg) ve diğer antibiyotik diskleri arasında bakterinin üremediği bir sinerji alanı oluşturan plaklar GSBL pozitif kabul edilmiştir (68,76).

3.6. Kullanılan Besiyerleri ve Ayıraçlar

3.6.1. EMB agar (Oxoid CM0069)

Pepton	10 g	
Laktoz	5 g	
Sükroz	5 g	
K ₂ HPO ₄	2 g	
Agar	13,5 g	
Eozin Y	0,4 g	(%2 lik eriyikten 2 ml)
Metilen mavisi	0,065 g	(%3,25 eriyikten 0,2 ml)
Saf su ile	1000 ml	ye tamamlanır.

pH:7,1

Karıştırılıp kaynatılarak eritilir ve 121°C ' de 15 dakika otoklavlanarak sterillenir (73).

3.6.2. TSI (Üç şekerli demirli agar) (Oxoid CM0277, UK)

Polypeptone	20 g
Lactose	10 g
Sucrose	10 g
Dextrose	1 g
Sodium chloride	5 g
Ferric ammonium sulfate	0,2 g
Sodium thiosulfate	0,2 g
Agar	13 g
Phenol kırmızısı	0,025 g
Saf su	1000 ml

pH: 7,3

Maddeler karıştırılır ve deney tüplerine 7-8 ml kadar dağıtılır. 121°C ' de 15 dakika otoklavlanır. Dipte 2,5-3cm dik bir kısım ve üstte yatık bir kısım oluşacak şekilde katılaştırılır (73).

3.6.3. İndol besiyeri (Oxoid CM87) ve Kovacs ayıracı

İndol Besiyeri:

Pepton yada pankreatik kazein	2 g
Sodium klorür	0,5 g
Saf su	100 ml
Son pH: 7,2	

Maddeler ısıtılarak eritilir. Tüplere 3-5 ml kadar dağıtılarak 121°C ' de 15 dakika otoklavlanır.

Kovacs ayıracı:

Saf amyl yada isoamyl alcohol	150 ml
-------------------------------	--------

P-Dimethylaminobenzaldehyde	10 g
HCl konsantre	50 ml

Kovacs ayıracı tüp kenarından akıtılarak besiyeri üzerinde tabakalandırılır. Birkaç saniye içinde besiyeri ile ayıraç arasında parlak kırmızı halkanın oluşması olumlu sonuç olarak kabul edilir (73).

3.6.4. MR/VP besiyeri, metil kırmızısı / voges proskauer deneyi ve ayıraçları

Besiyeri:

Polypeptone	7 g	
Glukose	5 g	
K ₂ HPO ₄	5 g	
Saf su	1000 ml	ye tamamlanır.

Maddeler hafifçe ısıtılarak suda eritilir. Süzgeç kağıdıyla süzülür. Soğuduktan sonra pH'sı 6,9'a ayarlanır ve 100 ml' ye tamamlanır. Tüplere 5'er ml konarak 121°C ' de 15 dakika otoklavlanır (73).

Metil kırmızısı ayıracı:

Metil kırmızısı	0,050 g
Ethyl alcohol %95 lik	150 ml
Saf su	100 ml

Önce metil kırmızısı alkolde eritilir. Sonra su eklenir oda sıcaklığında saklanabilir. MR/VP besiyerine saf kültürden ekilen bakteri 35 °C ' de 48 saat enkübe edilir. Kültür içerisine 5-6 damla ayıraç damlatılır. Olumlu sonuçlarda renk kırmızı olur. Turuncu ve sarı renkler olumsuz sayılır (73).

Voges Proskauer ayıracı:

1. Alpha naphthol	5 g
Absolu ethyl alcohol	100 ml
2. Potassium hydroxyde	10 g
Saf su ile	100 ml' ye tamamlanır

MR/VP besiyerine saf kültürden ekilen bakteri 35 °C ' de 24 saat enkübe edilir. 1 ml kültür süspansiyonunun üzerine 0,6 ml alpha naphthol ayıracından, 0,2 ml KOH ayıracından damlatılır. Besiyerinin hava ile teması için çalkalanıp 10-15 dakika bekletilir (73).

3.6.5. Sitrat agar (Simons citrate agar) (Oxoid BO0379, UK)

Sodium citrate	2 g
NaCl	5 g
MgSO ₄	0,2 g
NH ₃ H ₂ PO ₄	1 g
K ₂ HPO ₄	1 g
Bromthymol mavisini	0,080 g
Agar	15 g
Saf su	1000 ml
Son pH:6,9	

Maddeler karıştırılır ve sıcak su banyosunda eritilir. Deney tüplerine 5'er ml dağıtılır. 121°C ' de 15 dakika otoklavlanır. Yatık durumda katılaştırılır (73).

3.6.6. Üreli agar (Crystensen agar base, Oxoid CM0053)Üre eriyiği için:

Peptone	1 g
---------	-----

NaCl	5 g
KH ₂ PO ₄	2 g
D-Glucose	1 g
Üre	20 g
Fenol kırmızısı	12 g
Saf su	100 ml
pH: 6,8	

Agar için:

Agar	15 g
Saf su	900 ml

Üre eriyiği hazırlanır maddeler eritilerek süzme işlemi ile steril edilir. Agar hazırlanır sıcak su banyosunda eritilip 121 derecede 15 dakika steril edilir. 50-55 dereceye soğutulup üre eriyiği de aynı dereceye ısıtılıp steril olarak birbirine karıştırılır ve deney tüplerine dağıtılır. Yatık durumda katılaştırılır (73).

3.6.7. Mio (Motility Indole Ornithine) medium (Difco™ 273520)

Yeast extract	3 g
Peptone	10 g
Tryptone	10 g
L-ornithine HCl	5 g
Dextrose	1 g
Agar	2 g
Brom cresol purple	0,02 g
Distile su ile	1000 ml

ye tamamlanır.
Karıştırılıp kaynatılarak eritilir. Deney tüplerine 5'er ml dağıtılır ve 121°C ' de 15 dakika otoklavlanır (73).

3.6.8. Mueller-Hinton agar (Oxoid CM0337)

Beef extract 300 g

Casein hydrolysate 17,5 g

Nişasta 1,5 g

Agar 10 g

Distile su ile 1000 ml ye tamamlanır.

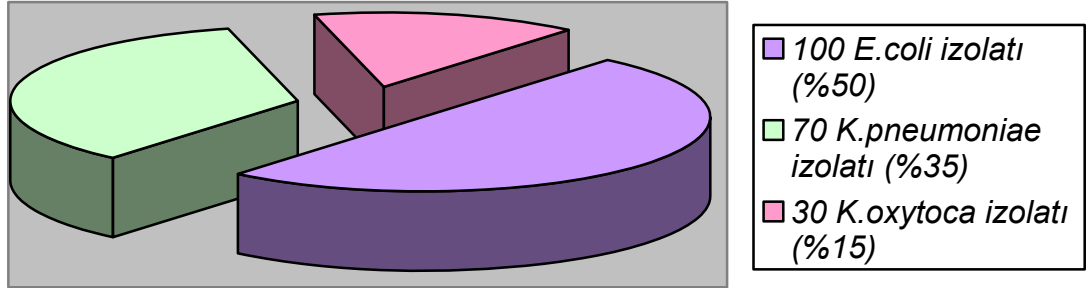
Karıştırılıp kaynatılarak eritilir. 121°C'de 15 dakika otoklavlanır. Soğuduktan sonra plaklara dökülür (73).

4. BULGULAR

Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi Klinik Mikrobiyoloji Laboratuvarına başvuran, yatan hastalar ve poliklinik hastalarından çeşitli kültür örnekleri toplanmıştır. Çeşitli kültürlerden 200 bakteri izole edilmiştir. Bu 200 bakterinin 100'ü (%50) *E.coli*, 100'ü (%50) Klebsiella olarak gruplandırılmıştır. Ayrıca 100 Klebsiella cinsi bakterinin 30'u (%15) *K. oxytoca*, 70'i (%35) *K. pneumoniae* olarak adlandırılmıştır (Çizelge 4.1.), 200 izolatin yüzde oranları Şekil 4.1. de verilmiştir.

Çizelge 4.1. 200 hasta kültüründen izole edilen bakterilerin dağılımı.

Bakteriler	İzolat sayısı		Toplam
<i>E.coli</i>	100		200
Klebsiella	100		
	<i>K. pneumoniae</i>	<i>K. oxytoca</i>	
	70	30	

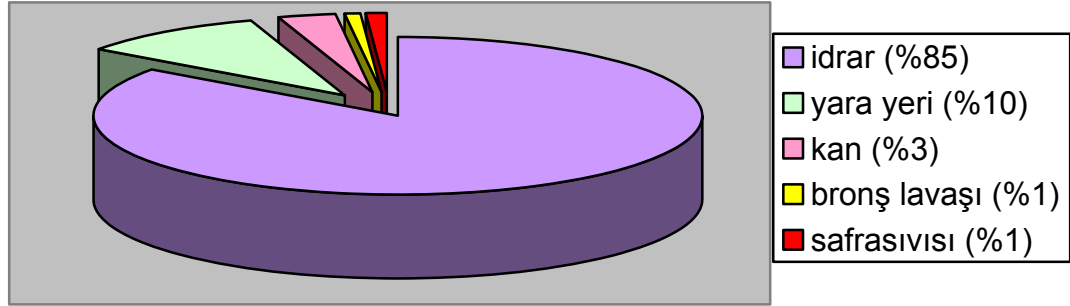


Şekil 4.1. 200 hasta kültüründen izole edilen bakterilerin yüzde oranları.

E.coli ve Klebsiella cinslerine ait bakterilerin izole edildiği hasta materyallerine göre dağılımları, *E.coli* izolatları için Çizelge 4.2. de verilmiştir. *E.coli* izolatları için yüzde dağılımları ise Şekil 4.2. de verilmiştir.

Çizelge 4.2. 100 *E.coli* izolatının klinik materyallere göre dağılımları.

İzole edilen bakteri	Bakterinin izole edildiği klinik materyal					Toplam
	İdrar	Yara Yeri	Kan	Bronş Lavajı	Safra Sıvısı	
<i>E.Coli</i>	85	10	3	1	1	100



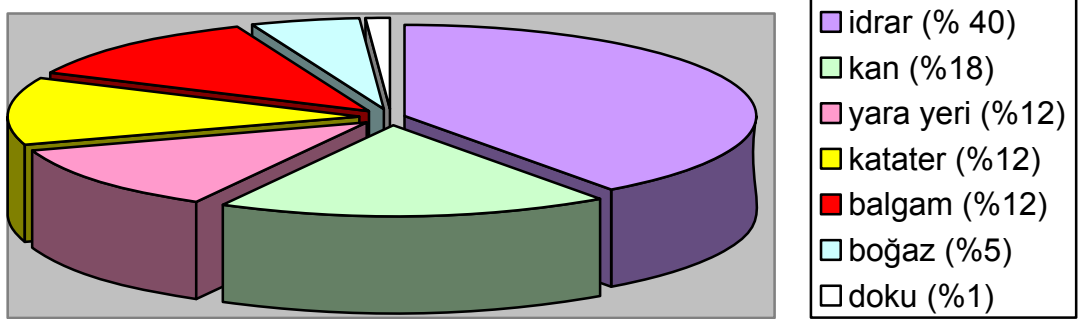
Şekil 4.2. 100 *E.coli* izolatının klinik materyallere göre yüzde(%) dağılımları.

100 *E.coli* izolatının 85'i (%85'i) hastaların idrar kültürlerinden, 10'u (%10'u) yara yerinden alınan kültürlerinden, 3'ü (%3'ü) kan kültürlerinden, 1'i (%1'i) bronş lavajından alınan kültürden, 1'i (%1'i) safra sıvısından alınan kültürden izole edilmiştir.

Klebsiella izolatlarının hasta materyallerine göre dağılımları çizelge 4.3. de verilmiştir, Klebsiella izolatları için yüzde dağılımları ise şekil 4.3. de verilmiştir.

Çizelge 4.3. 100 Klebsiella izolatının klinik materyallere göre dağılımları.

İzole edilen bakteri	Bakterinin izole edildiği klinik materyal							Toplam
	İdrar	Kan	Yara Yeri	Katater	Balgam	Boğaz	Doku	
Klebsiella	40	18	12	12	12	5	1	100



Şekil 4.3. 100 Klebsiella izolatının klinik materyallere göre dağılımlarının yüzde(%) oranları.

100 Klebsiella izolatının 40'ı (%40'ı) hastalardan alınan idrar kültürlerinden, 18'i (%18'i) kan kültürlerinden, 12'si (%12'si) yara yerinden alınan kültürlerden, 12'si (%12'si) kataterden alınan kültürlerden, 12'si (%12'si) balgam kültürlerinden, 5'i (%5'i) boğazdan alınan kültürlerden, 1'i (%1'i) nefrektomi sonrası dokudan alınan kültürden izole edilmiştir.

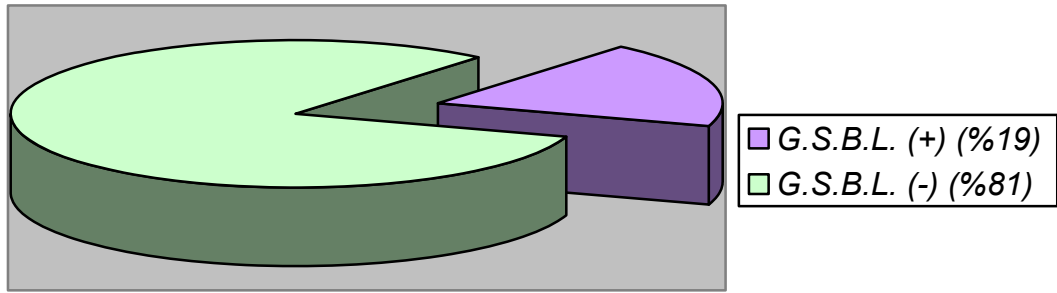
Hastalardan elde edilen 100 *E.coli* ve 100 Klebsiella izolatının genişlemiş spektrumlu beta laktamaz (GSBL) enzimi üretenleri, çift disk sinerji yöntemi ile tespit edilmiştir. 100 *E.coli* izolatından 19'unun (%19'unun) genişlemiş spektrumlu beta laktamaz enzimi ürettiği saptanırken, 100 Klebsiella izolatının 34'ünün (%34'ünün) genişlemiş spektrumlu beta laktamaz enzimi ürettiği saptanmıştır. *E.coli* izolatları için bu sayı çizelge 4.4. de verilmiştir, *E.coli* izolatları için yüzde oranları ise şekil 4.4. de verilmiştir. Klebsiella izolatları için GSBL enzimi üretenlerin sayısı Çizelge 4.5. de verilmiştir, yüzde oranları ise şekil 4.5. de verilmiştir.

Çizelge 4.4. GSBL enzimi üreten *E.coli* izolatları.

Bakteri	GSBL enzimi üreten ve üretmeyen suşların sayısı		Toplam
	GSBL (+)	GSBL (-)	
<i>E.coli</i>	19	81	100

GSBL (+): Genişlemiş spektrumlu beta laktamaz enzimi üreten suşlar

GSBL (-): Genişlemiş spektrumlu beta laktamaz enzimi üretmeyen suşlar



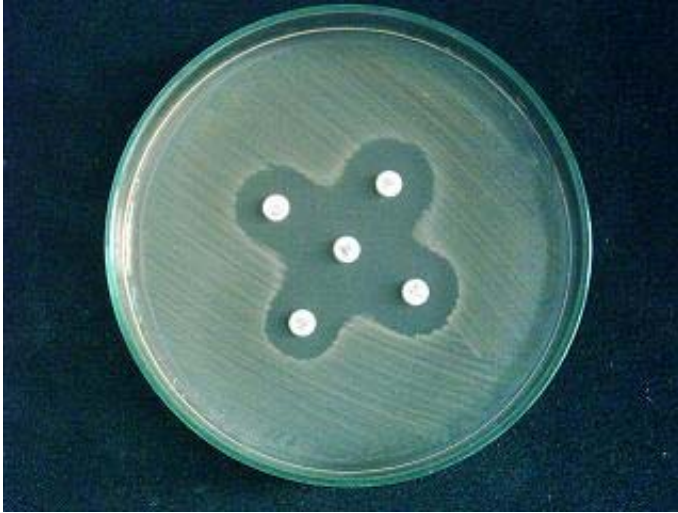
Şekil 4.4. GSBL enzimi üreten *E.coli* izolatlarının yüzde(%) dağılımları.

E.coli izolatlarından 19 tanesinde (%19'unda) genişlemiş spektrumlu beta laktamaz enzimi varlığı tespit edilirken 81 tanesinde (%81'inde) bu enzim saptanamamıştır.

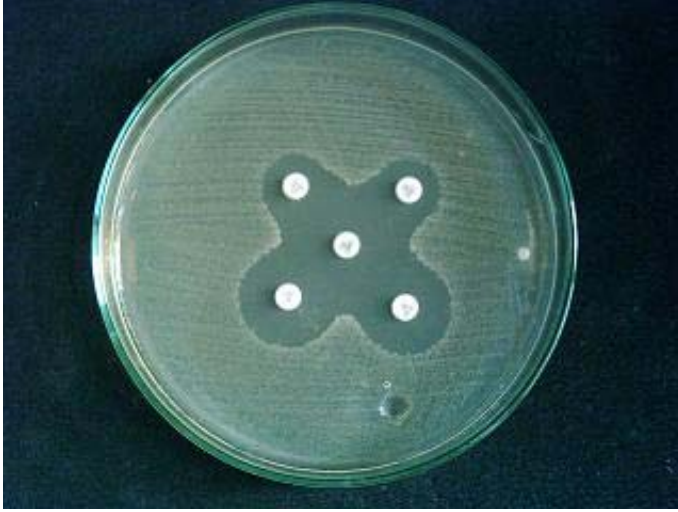
GSBL enzimi varlığı çift disk sinerji testi uygulanarak tespit edilmiştir. 9mm'lik MHA plaklarında plağın ortasına bir Amoksisilin/Klavulanikasit (AMC 20/10 µg) diski yerleştirilmiş ve etrafına disk merkezinden disk merkezine 30mm (Resim 4.1.) olacak şekilde Sefotaksim (CTX 30µg), Aztreonam (ATM 30µg), Seftazidim (CAZ 30µg), Seftriakson (CRO 30µg) diskleri yerleştirilmiştir. Dirençli suşlarda bu uzaklık 25mm (Resim 4.2.), 20mm (Resim 4.3.) ve 15mm'ye (Resim 4.4.) indirilerek test tekrarlanmıştır. Amoksisilin/Klavulanikasit (AMC) diskine doğru oluşan genişlemeler ve sinerji alanları olan plaklardaki izolatlar GSBL pozitif kabul edilmiştir.



Resim 4.1. GSBL pozitif *E.coli* izolatu



Resim 4.2. GSBL pozitif *E.coli* izolatu



Resim 4.3. GSBL pozitif *E.coli* izolatu



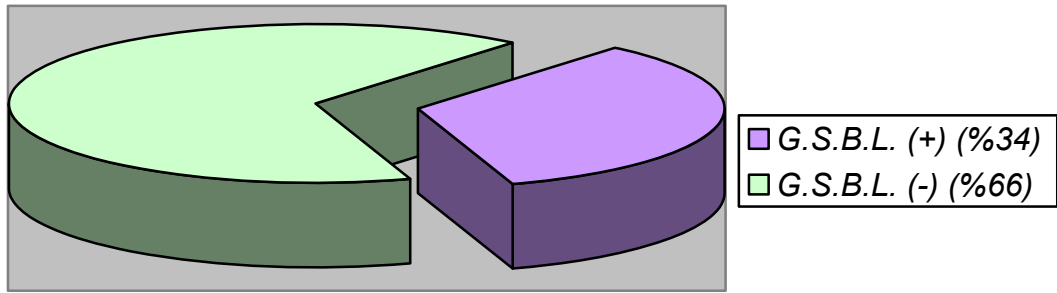
Resim 4.4. GSBL pozitif *E.coli* izolatu

Çizelge 4.5. GSBL enzimi üreten Klebsiella izolatları.

Bakteri	GSBL enzimi üreten ve üretmeyen suşların sayısı		Toplam
	GSBL (+)	GSBL (-)	
Klebsiella	34	66	100

GSBL (+): Genişlemiş spektrumlu beta laktamaz enzimi üreten suşlar

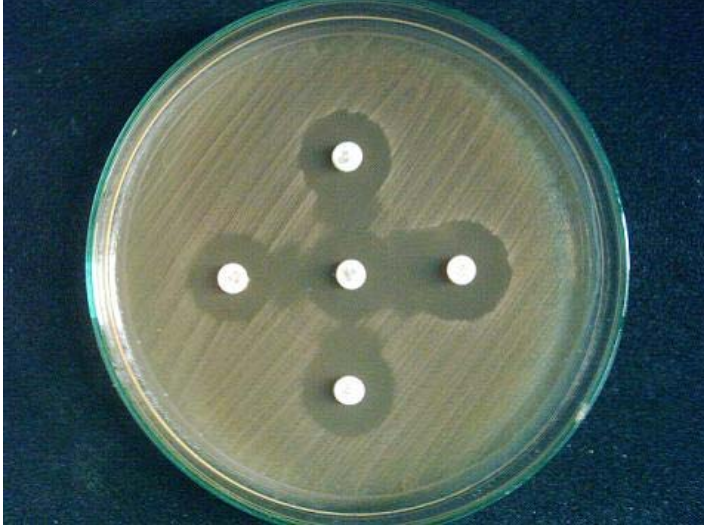
GSBL (-): Genişlemiş spektrumlu beta laktamaz enzimi üretmeyen suşlar



Şekil 4.5. GSBL enzimi üreten Klebsiella izolatlarının yüzde(%) dağılımları.

Klebsiella izolatlarından 34'ünde (%34'ünde) genişlemiş spektrumlu beta laktamaz enzimi varlığı tespit edilirken 66'sında (%66'sında) bu enzim saptanamamıştır. Yetmiş *K.pneumoniae* suşunun 30'unda (%43), 30 *K.oxytoca* suşunun 4'ünde (%13) GSBL varlığı bulunmuştur.

GSBL enzimi varlığı saptanırken çift disk sinerji testi uygulanmıştır. Mueller-Hinton Agar plaklarında plağın ortasına bir Amoksisilin/Klavulanikasit (AMC 20/10 µg) diski yerleştirilmiş ve etrafına disk merkezinden disk merkezine 30mm (Resim 4.5., Resim 4.6., Resim 4.7.,) olacak şekilde Sefotaksim (CTX 30µg), Aztreonam (ATM 30µg), Seftazidim (CAZ 30µg), Seftriakson (CRO 30µg) diskleri yerleştirilmiştir. Dirençli suşlarda bu uzaklık 25mm, 20mm ve 15mm' ye (Resim 4.8.) indirilerek test tekrarlanmıştır. Amoksisilin/Klavulanikasit (AMC) diskine doğru oluşan genişlemeler ve sinerji alanları olan plaklardaki izolatlar GSBL pozitif kabul edilmiştir.



Resim 4.5. GSBL pozitif Klebsiella izolatu



Resim 4.6. GSBL pozitif Klebsiella izolatu



Resim 4.7. GSBL pozitif Klebsiella izolati



Resim 4.8. GSBL pozitif Klebsiella izolati

Genişlemiş spektrumlu beta laktamaz enziminin varlığını gösteren Amoksisilin/Klavulanikasit (AMC) diskine doğru oluşan genişlemeler ve sinerji alanları görülmektedir.

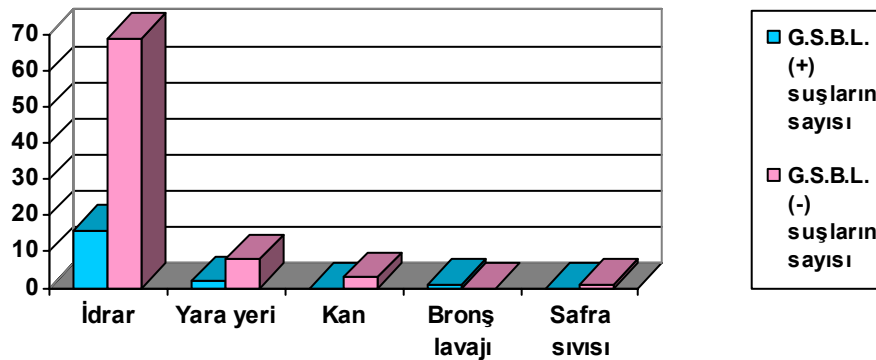
E.coli ve Klebsiella izolatlarının genişlemiş spektrumlu beta laktamaz enzimi üretenlerinin hasta materyallerine göre dağılımları da verilmiştir. *E.coli* izolatları için sayılar çizelge 4.6. da ve şekil 4.6. da verilmiştir, Klebsiella izolatları için sayılar çizelge 4.7. de ve şekil 4.7.de verilmiştir.

Çizelge 4.6. *E.coli* izolatlarından GSBL enzimi üreten suşların ve üretmeyen suşların hasta materyallerine göre dağılımı

GSBL (+)/ (-)	GSBL (+) ve (-) olan izolatların izole edildikleri materyaller					Toplam
	İdrar	Yara Yeri	Kan	Bronş Lavajı	Safra Sıvısı	
GSBL(+)	16	2	-	1	-	19
GSBL(-)	69	8	3	-	1	81
Toplam	85	10	3	1	1	100

GSBL (+): Genişlemiş spektrumlu beta laktamaz enzimi üreten suşlar.

GSBL (-): Genişlemiş spektrumlu beta laktamaz enzimi üretmeyen suşlar.



Şekil 4.6. *E.coli* izolatlarından GSBL enzimi üreten suşların ve üretmeyen suşların hasta materyallerine göre dağılımı.

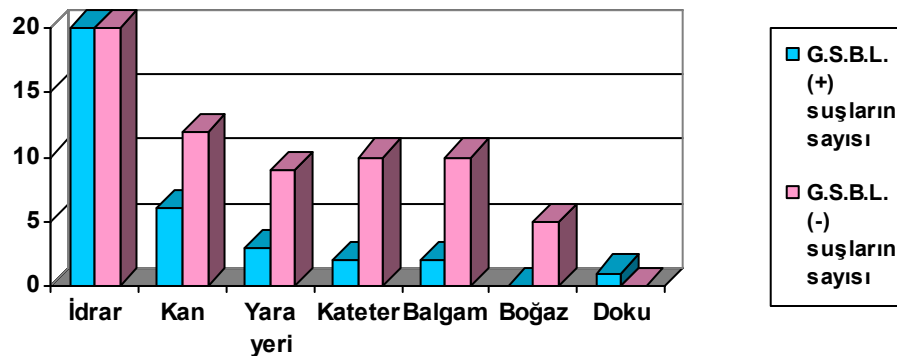
E.coli izolatlarından genişlemiş spektrumlu beta laktamaz enzimi üreten 19'unun (%19'unun) 16'sı (%16'sı) idrar kültürlerinden, 2'si (%2'si) yara yerinden alınan kültürlerden, 1'i (%1'i) bronş lavajından alınan kültürden olduğu tespit edilmiştir. Diğer 69 (%69) idrar kültüründen, 8 (%8) yara kültüründen, 3 (%3) kan kültüründen, 1 (%1) safra sıvısından izole edilen *E.coli* izolatında ise genişlemiş spektrumlu beta laktamaz enzimi üreten suşa rastlanmamıştır.

Çizelge 4.7. Klebsiella izolatlarından GSBL enzimi üreten suşların ve üretmeyen suşların hasta materyallerine göre dağılımı.

GSBL (+)/ (-)	GSBL (+) ve (-) olan izolatların izole edildikleri materyaller							Toplam
	İdrar	Kan	Yara Yeri	Katater	Balgam	Boğaz	Doku	
GSBL(+)	20	6	3	2	2	-	1	34
G.S.S.L(-)	20	12	9	10	10	5	-	66
Toplam	40	18	12	12	12	5	1	100

GSBL (+): Genişlemiş spektrumlu beta laktamaz enzimi üreten suşlar

GSBL (-): Genişlemiş spektrumlu beta laktamaz enzimi üretmeyen suşlar



Şekil 4.7. Klebsiella izolatlarından GSBL enzimi üreten suşların ve üretmeyen suşların hasta materyallerine göre dağılımı.

Genişlemiş spektrumlu beta laktamaz enzimi üreten 34 (%34) Klebsiella izolatından 20'si (%20) idrar kültürlerinden, 6'sı (%6'sı) kan kültürlerinden, 3'ü (%3'ü) yara yerinden alınan kültürlerden, 2'si (%2'si) kateterden alınan kültürlerden, 2'si (%2'si) balgam kültürlerinden, 1'i (%1'i) nefrektomi sonrası dokudan alınan kültürden olduğu saptanmıştır.

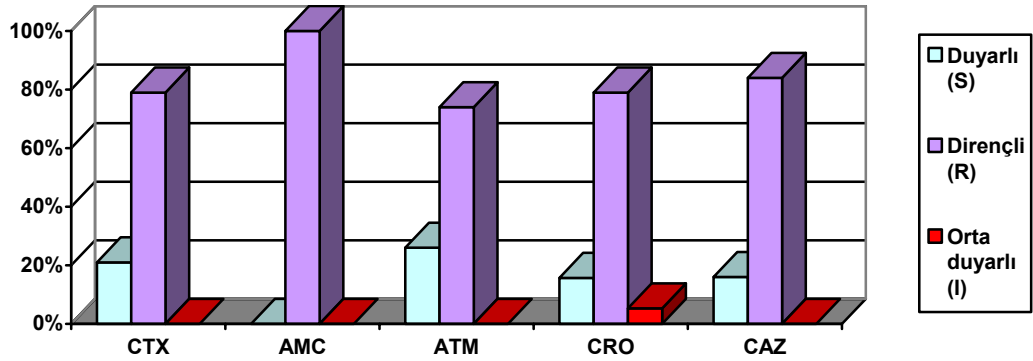
Bakterilerin genişlemiş spektrumlu beta laktamaz enzimi aktivitesi Çift disk sinerji yöntemiyle araştırıldı, bu yöntemde kullanılan antibiyotiklere direçlilik ve duyarlılık durumları, *E.coli* izolatları için çizelge 4.8. de ve şekil 4.8. de verilmiştir. Klebsiella izolatları için çizelge 4.9. da ve şekil 4.9. da verilmiştir.

Çizelge 4.8. GSBL enzimi üreten *E.coli* izolatlarının çift disk sinerji testinde kullanılan antibiyotik disklerine dirençlilik ve duyarlılıkları.

Sıra no	Hasta no	Kullanılan Antibiyotikler				
		AMC	CTX	CRO	CAZ	ATM
1	2	R	R	R	S	S
2	17	R	R	R	R	R
3	23	R	R	R	R	R
4	24	R	S	S	R	S
5	26	R	S	S	S	S
6	40	R	S	R	R	S
7	45	R	R	R	R	R
8	48	R	R	R	R	R
9	51	R	R	R	R	R
10	53	R	R	R	R	R
11	55	R	R	R	R	R
12	59	R	S	I	S	S
13	61	R	R	R	R	R
14	65	R	R	R	R	R
15	77	R	R	R	R	R
16	87	R	R	S	R	R
17	95	R	R	R	R	R
18	96	R	R	R	R	R
19	97	R	R	R	R	R

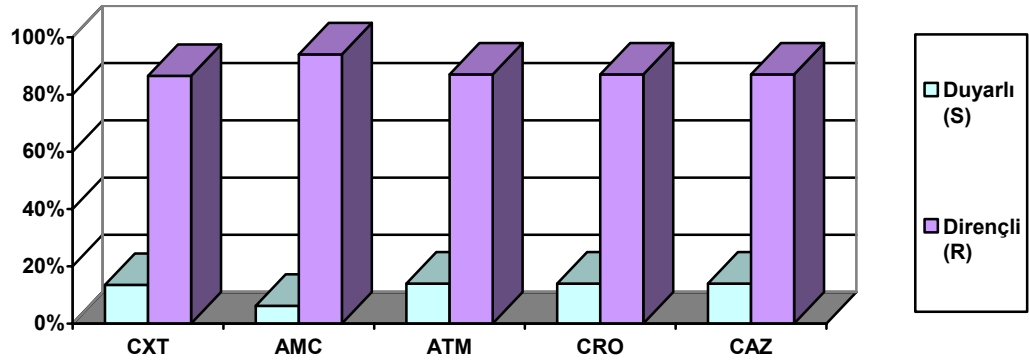
Çizelge 4.9. GSBL enzimi üreten Klebsiella izolatlarının çift disk sinerji testinde kullanılan antibiyotik disklerine dirençlilik ve duyarlılıkları.

Sıra no	Hasta no	Kullanılan Antibiyotikler				
		AMC	CTX	CRO	CAZ	ATM
1	1	R	S	R	R	R
2	5	R	R	R	R	R
3	6	S	S	S	S	S
4	8	R	R	R	R	R
5	11	R	R	R	R	R
6	12	R	R	R	R	R
7	16	R	R	R	R	R
8	19	R	R	S	S	S
9	27	R	R	R	R	R
10	33	R	R	R	R	R
11	36	R	R	R	R	R
12	41	R	R	R	R	R
13	43	R	R	R	R	R
14	45	R	R	R	R	R
15	47	R	R	R	R	R
16	50	S	S	S	S	S
17	53	R	R	S	S	S
18	64	R	R	R	R	R
19	65	R	R	R	R	R
20	67	R	R	R	R	R
21	68	R	R	R	R	R
22	71	R	R	R	R	R
23	73	R	R	R	R	R
24	78	R	R	R	R	R
25	79	R	R	R	R	R
26	80	R	R	R	R	R
27	82	R	S	R	R	R
28	83	R	R	R	R	R
29	84	R	R	R	R	R
30	85	R	R	R	R	R
31	86	R	R	R	R	R
32	87	R	R	R	R	R
33	93	R	R	R	R	R
34	95	R	R	R	R	R



Şekil 4.8. GSBL enzimi üreten *E.coli* izolatlarının çift disk sinerji testinde kullanılan antibiyotik disklerine dirençlilik ve duyarlılıkları

GSBL enzimi üreten *E.coli* izolatlarının %100'ü amoksisilin/klavulanikasit (AMC)'e direnç göstermiştir. %79'u sefotaksim (CTX)'e direnç gösterirken %74'ü aztreonam (ATM)'a direnç göstermiştir. Seftriakson (CRO)'a direnç %79 bulunurken, seftazidim (CAZ)'a direnç %84 olarak bulunmuştur.



Şekil 4.9. GSBL enzimi üreten Klebsiella izolatlarının çift disk sinerji testinde kullanılan antibiyotik disklerine dirençlilik ve duyarlılıkları.

GSBL enzimi üreten Klebsiella izolatlarının amoksisilin/klavulanikasit (AMC)'e direnç oranı %94 olarak bulunmuştur. Sefotaksim (CTX)'e, aztreonam (ATM)'a, seftriakson (CRO)'a, seftazidim (CAZ)'e, direnç %88 olarak bulunmuştur.

İzole edilen 200 bakterinin ayrıca antibiyogramları yapılmıştır. Antibiyogramda aztreonam (ATM), seftriakson (CRO), amoksisilin/klavulanikasit (AMC), trimetoprim/sulfametoksazol (SXT), sulbaktam/ampisillin (SAM), seftazidim (CAZ), sefepim (FEP), gentamisin (CN), siprofloksasin (CİP), amikasin (AK), piperasillin/tazobaktam (TZP), imipenem (İMP) antibiyotikleri kullanılmıştır. 200 izolatın bu bakterilere duyarlılık ve direnç durumları gözden geçirilmiştir.

İzole edilen 100 Klebsiella cinsi bakterinin antibiyogram sonuçlarına bakılmıştır. Bakteri suşlarının % 66'sının Trimetoprim/Sulfametoksazol (SXT)'e direnç gösterdiği gözlenmiştir. İzolatların %45'inin Sulbaktam/Ampisillin (SAM)'e, %57'sinin amoksisilin/klavulanikasit (AMC)'e, dirençli olduğu tespit edilmiştir. Siprofloksasin (CİP)'e direnç % 39 olarak gözlenirken, Aztreonam (ATM)'a %35 olarak gözlenmiştir. Bu bakterilerin %34'ü Seftriakson (CRO)'a, %34 Seftazidim (CAZ)'e, %28'i Sefepim (FEP)'e direnç göstermiştir. %22'si Gentamisin (CN)'e, %15'i Amikasin (AK)'e, %18'i Piperasillin/Tazobaktam (TZP)'a, %2'si de İmipenem (İMP)'e direnç göstermiştir. (Çizelge 4.10)

Çizelge 4.10. İzole edilen 100 Klebsiella cinsi bakterinin antibiyogram sonuçlarına göre direnç ve duyarlılık sonuçları.

Klebsiella	Antibiyogramda kullanılan antibiyotikler											
	Amc n (%)	Sxt n (%)	Sam n (%)	Cro n (%)	Caz n (%)	Fep n (%)	Atm n (%)	Cn n (%)	Cip n (%)	Ak n (%)	Tzp n (%)	İmp n (%)
R	57	66	45	34	34	28	35	22	39	15	18	2
S	43	34	51	66	66	69	65	78	61	85	80	98
I	-	-	4	-	-	3	-	-	-	-	2	-

İzole edilen 100 *E.coli*'nin antibiyogram sonuçlarına bakıldığında ise, bakteri suşlarının % 64'ünün Trimetoprim/Sulfametoksazol (SXT)'e direnç gösterdiği gözlenmiştir. İzolatların %39'u Sulbaktam/Ampisillin (SAM)'e, %56'sının amoksisilin/klavulanikasit (AMC)'e, dirençli olduğu tespit edilmiştir. Siprofloksasin (CİP)'e direnç % 34 olarak gözlenirken, Aztreonam (ATM)'a

GSBL pozitif bulunan 19 *E.coli* suşunda antibiyogram direnç ve duyarlılık sonuçlarına bakılmıştır. Sonuçlar ise Çizelge 4.13'de yüzde oranlarıyla birlikte verilmiştir.

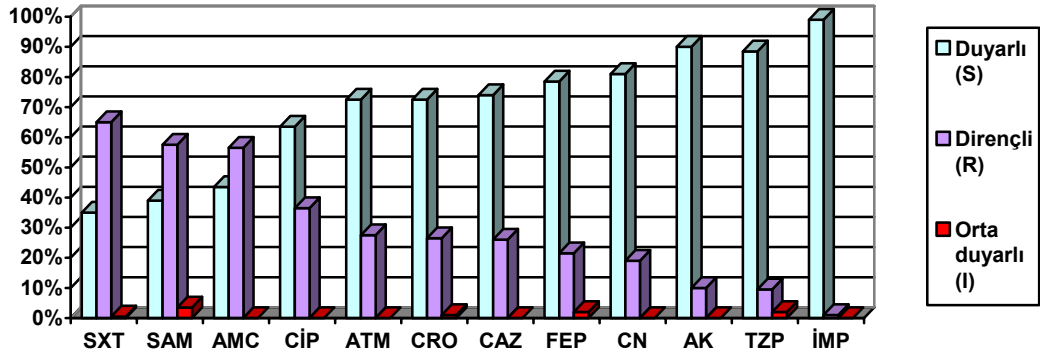
Çizelge 4.13. GSBL pozitif olan *E.coli* suşlarında antibiyogram sonuçları ve yüzde oranları

<i>E.coli</i>	GSBL (+) hastalarda Antibiyogramda kullanılan antibiyotikler											
	Amc n	Sxt n	Sam n	Cro n	Caz n	Fep n	Atm n	Cn n	Cip n	Ak n	Tzp n	İmp n
R	19	18	15	15	16	12	14	12	16	4	1	-
S	-	1	4	3	3	6	5	7	3	15	18	19
I	-	-	-	1	-	1	-	-	-	-	-	-
	Antibiyogramda kullanılan antibiyotiklerin yüzde oranları (%)											
	Amc %	Sxt %	Sam %	Cro %	Caz %	Fep %	Atm %	Cn %	Cip %	Ak %	Tzp %	İmp %
R	100	94,7	78,9	78,9	84,2	63,2	73,6	63,2	84,2	21,1	5,3	-
S	-	5,3	21,1	15,8	15,8	31,5	26,3	36,8	15,8	78,9	94,7	100
I	-	-	-	5,3	-	5,3	-	-	-	-	-	-

İzole edilen 100 *E.coli*, 100 *Klebsiella* toplam 200 bakterinin antibiyogram sonuçlarına bakılmıştır. Toplam 200 bakterinin % 65'inin Trimetoprim/Sulfametoksazol (SXT)'e direnç gösterdiği gözlenmiştir. İzolatların %57,5'inin Sulbaktam/Ampisillin (SAM)'e, %56,5'inin amoksisilin/klavulanikasit (AMC)'e, dirençli olduğu tespit edilmiştir. Siprofloksasin (CİP)'e direnç % 36,5 olarak gözlenirken, Aztreonam (ATM)'a %27,5 olarak gözlenmiştir. Bu bakterilerin %26,5'i Seftriakson (CRO), %24,5'i Seftazidim (CAZ)'a, %21,5'i Sefepim (FEP)'e direnç göstermiştir. %19'u Gentamisin (CN)'e, %9,5'i Amikasin (AK)'e, %9'u Piperasillin/Tazobaktam (TZP)'a, %1'i de İmipenem (İMP)'e direnç göstermiştir (Çizelge 4.12. ve Şekil 4.12.).

Çizelge 4.14. İzole edilen 200 *E.coli* ve *Klebsiella* cinsi bakterinin antibiyogram sonuçlarına göre direnç ve duyarlılık sonuçları.

Antibiyotikler	Duyarlı (S) (%)	Dirençli (R) (%)	Orta duyarlı (%)
Trimetoprim/Sulfametoksazol(SXT)	69 (%34,5)	130 (%65)	1 (%0,5)
Sulbaktam/Ampisillin (SAM)	78 (%39)	115 (%57,5)	7 (%3,5)
Amoksisilin/Klavulanikasit (AMC)	87 (%43,5)	113 (%56,5)	-
Siprofloksasin (CİP)	127 (%63,5)	73 (%36,5)	-
Aztreonam (ATM)	145 (%72,5)	55 (%27,5)	-
Seftriakson (CRO)	145(%72,5)	53 (%26,5)	2 (%1)
Seftazidim (CAZ)	148 (%74)	52 (%26)	-
Sefepim (FEP)	153 (%78,5)	43 (%21,5)	4 (%2)
Gentamisin (CN)	162 (%81)	38 (%19)	-
Amikasin (AK)	180 (%90)	20 (%10)	-
Piperasillin/Tazobaktam (TZP)	177 (%88,5)	19 (%9,5)	4 (%2)
İmipenem (İMP)	198 (%99)	2 (%1)	-



Şekil 4.10. İzole edilen 200 *E.coli* ve *Klebsiella* cinsi bakterinin antibiyogram sonuçlarına göre direnç ve duyarlılık sonuçları.

5. TARTIŞMA ve SONUÇ

Antibiyotik direnci gerek toplum gerekse hastane kökenli infeksiyonların tedavisinde başarısızlığa yol açmakta ve giderek büyüyen bir sorun olarak karşımıza çıkmaktadır. Yeni antibakteriyel ilaçların klinik tedavide uygulanması bu ilaçlara karşı dirençli mikroorganizmaların ortaya çıkması ile sonuçlanmaktadır(30).

Geniş spektrumlu beta-laktam antibiyotikler bakterisid etkili olması ve yan etkilerinin az olması nedeniyle klinisyenler tarafından oldukça sık kullanılan antibiyotiklerdir. Ancak bu ilaçların klinikteki kullanımı arttıkça bu antibiyotiklere karşı özellikle beta-laktamazlara bağlı direnç de artmaya başlamıştır (31).

En çok GSBL üreten mikroorganizmaların *Enterobacteriaceae* ailesinden olduğu ve birçok üyelerinin GSBL ürettiği bilinmektedir (52). Rutin disk difüzyon testleriyle GSBL varlığı gösterilemediğinden tedavide problemler ortaya çıkmaktadır. Bir GSBL olan PER-I enzimine sahip olan bakterilerle nozokomiyal infeksiyon gelişmiş hastalarda, mortalitenin istatistiksel olarak anlamlı ölçüde arttığı saptanmıştır (64).

GSBL varlığının çift disk sinerji yöntemiyle gösterilmesi tedavi için yol gösterici olmaktadır (23).

İlk bulunuşundan günümüze kadar GSBL enzimlerinin görülme sıklığı ve çeşitliliğinde hızlı bir artış olmuştur. Üçüncü kuşak sefalosporinlerin aşırı kullanımı, GSBL için seçici etki oluşturmakta ve bu enzimleri üreten suşların yatan hastaların solunum ve gastrointestinal sistemlerinde kolonizasyonunu hızlandırmaktadır. Yoğun beta-laktam kullanımı, invaziv girişimler, kateterizasyon, geniş yanıklar ve büyük cerrahi müdahaleler, GSBL pozitif suşlarla gelişen bakteriyemi veya sepsis olguları için başlıca risk faktörleridir (77,78).

Dünyada dirençli suşların prevalansı çeşitli izlem çalışmalarıyla takip edilmektedir. Kuzey Amerikada *Klebsiella ssp.* için %4,2 ile %44 arasında oranlar verilirken *E.coli* için %3,3 ile %4,7 olarak belirtilmiştir. Güney Amerika'da ki oranlar *Klebsiella ssp.* için %40 ile %47, *E.coli* için %6,7 ile %25,4 olarak saptanmıştır. Pasifik ülkeleri ve Uzakdoğu ülkelerinde ise oranlar *Klebsiella ssp.* için %11,3 ile %51, *E.coli* için %7,9 ile %23,6 olarak bildirilmiştir(6-9). Avrupa ülkelerinde ise GSBL oranları açısından farklılıklar görülmektedir. Örneğin kuzey ülkelerinde GSBL prevalansı %1,5 civarında iken, Polonya, Rusya ve Türkiye gibi ülkelerde ise bu oran %39-47 civarındadır (10-15). Yapılan çalışmalarda bölgeye ve ülkeye göre GSBL oranları değişmektedir. Değişik ülkelerde yapılmış çalışmalar incelendiğinde *Klebsiella* türlerinde % 8 ile % 61 arasında değişen oranlarda GSBL varlığı tespit edilmiştir. *E.coli* izolatlarında ise bu oran %1,5 ile % 26,3 arasında değişmektedir (10,16-22).

Türkiye'de yapılan literatür taramalarından *E.coli*'lerde % 7.2 ile %39 arasında GSBL sıklığı saptandığı anlaşılmıştır(23-29). Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesinde yapılan bu çalışmada belirlenen % 19'luk GSBL oranı bu oranların adeta bir ortalamasını sergilemektedir.

Yine Gazi Üniversitesinde yapılan bu çalışmada *Klebsiella* türlerinde % 34 oranında GSBL varlığı saptanmıştır. Ülkemizde yapılan değişik çalışmalarda *Klebsiella* türlerinde % 32,5 ile 45 arasında değişen oranlarda GSBL varlığı saptanmıştır (23,24-29). Bu çalışmada belirlenen % 34'lük GSBL oranı diğer çalışmaların sonuçlarıyla uyumlu görülmektedir. *Klebsiella* türlerinde GSBL sıklığı, *E.coli* kökenlerinde saptanan sıklıktan genellikle daha yüksek bulunmaktadır. Sonuçlarımız bu bilimsel bulgu ile uyuşmaktadır.

Değişik çalışmalarda aynı bakteri gruplarında farklı GSBL sıklıklarının belirlenmesi, bakteri suşlarına, çalışmanın yapıldığı kurumun niteliklerine ve kullanılan metot farklılıklarına bağlı olabilmektedir.

Geniş spektrumlu sefalosporinlerin özellikle seftazidimin yaygın kullanımı dirençli suşların seleksiyonuna ve GSBL yayılımına neden olmaktadır. Ancak seftazidim kullanımının kısıtlandığı durumlarda tazobaktam /piperasilin ve GSBL üreten mikroorganizmalarda ilk seçenek olan karbapenemlere karşı direnç oranlarını arttırabilmektedir(9,40,69). Bu çalışmada GSBL olumlu bulunan suşlara en etkili antibiyotik olarak İmipenem olarak saptanmıştır. Bu nedenle bu olumsuz etkinin incelenen suşlarda imipenem için henüz söz konusu olmadığı görülmektedir.

Çalışmada GSBL pozitif bulunan Klebsiella suşlarının en duyarlı oldukları antibiyotikler sırasıyla İmipenem (%94,1), Piperasillin/Tazobaktam (%61,8), Amikasin (%58,8), Gentamisin (%41,2), Sefepim (%23,5) olarak bulunurken, GSBL pozitif bulunan *E.coli* suşlarının en duyarlı oldukları antibiyotikler sırasıyla İmipenem (%100), Piperasillin/Tazobaktam (%94,7), Amikasin (%78,9), Gentamisin (%36,8) ve Sefepim (%31,5) olarak bulunmuştur.

GSBL üretiminden sorumlu plazmidler aminoglikozid, kloramfenikol, tetrasiklin ve sülfonamid direnç genlerinin taşıyabildiklerinden GSBL üreten suşlar sıklıkla çoğul dirençlidir. GSBL üreten suşlar genellikle trimetoprim-sulfametoksazol'a da dirençlidir. Bu da infeksiyonların tedavisinde güçlük çıkarır. Bu tip dirençli suşların kinolonlara da oldukça dirençli oldukları görülmüştür (33,79). Bizim çalışma sonuçlarımızda da çoğul direnç gözlenmiştir. Bu araştırmada GSBL olumlu *E.coli* suşlarının en dirençli oldukları antibiyotikler sırasıyla Amoksisilin/Klavulanikasit (%100), Trimetoprim/Sulfametoksazol (%94,7), Seftazidim, Siprofloksasin (%84,2), Sulbaktam/Ampisillin, Seftriakson (%78,9), Aztreonam (%73,6) olarak bulunmuştur. GSBL yapan Klebsiella suşlarının en dirençli buldukları antibiyotikler de sırasıyla Amoksisilin/Klavulanikasit, Trimetoprim/Sulfametoksazol (%94,1), Sulbaktam/Ampisillin, Seftazidim, Aztreonam, Seftriakson (%88,2), Siprofloksasin (%82,4) olarak bulunmuştur. Bu sonuçlar literatür bilgileriyle uyumludur. Çalışmamızda GSBL yapan suşlarda

belirlenen direnç oranı imipenem dışındaki bütün antibiyotiklerde GSBL yapmayan suşlara göre oldukça yüksek bulunmuştur. Örneğin bütün *E.coli* suşlarında sulbaktam/ampisiline karşı direnç oranı % 39 iken, GSBL yapan suşlarda bu oran % 79 olarak saptanmıştır. Tüm *Klebsiella* suşlarında bu antibiyotiğe direnç oranı % 45 iken, GSBL yapan suşlarda % 88 olarak bulunmuştur.

Bir izolatin GSBL ürettiği saptandığında in vitro duyarlılık sonucu ne olursa olsun, tüm sefalosporinler, penisilin türevleri ve monobaktamlara dirençli olarak rapor edilmelidir (68).

Toplam 200 bakterinin anbiyogram sonuçlarına bakılmıştır. En dirençli oldukları antibiyotikler şu şekilde sıralanmaktadır. % 65'i Trimetoprim/Sulfametoksazol (SXT)'e direnç göstermiştir. İzolatların %57,5'inin Sulbaktam/Ampisillin (SAM)'e, %56,5'inin amoksisilin/klavulanikasit (AMC)'e, dirençli olduğu tespit edilmiştir. Siprofloksasin (CİP)'e direnç % 36,5 olarak gözlenirken, Aztreonam (ATM)'a %27,5 olarak gözlenmiştir. Bu bakterilerin %26,5'i Seftriakson (CRO), %24,5'i Seftazidim (CAZ)'a, %21,5'i Sefepim (FEP)'e direnç göstermiştir. %19'u Gentamisin (CN)'e, %9,5'i Amikasin (AK)'e, %9'u Piperasillin/Tazobaktam (TZP)'a, %1'i de İmipenem (İMP)'e direnç göstermiştir. Yalnız *E.coli* izolatlarında anbiyogram sonuçları incelendiğinde ise sonuçlar şu şekildedir. *E.coli* suşlarının % 64'ünün Trimetoprim/Sulfametoksazol (SXT)'e direnç gösterdiği gözlenmiştir. İzolatların %39'u Sulbaktam/Ampisillin (SAM)'e, %56'sının amoksisilin/klavulanikasit (AMC)'e, dirençli olduğu tespit edilmiştir. Siprofloksasin (CİP)'e direnç % 34 olarak gözlenirken, Aztreonam (ATM)'a %20 olarak gözlenmiştir. Bu bakterilerin %20'si Seftriakson (CRO)'a, %18'i Seftazidim (CAZ)'e, %15'i Sefepim (FEP)'e direnç göstermiştir. %16'sı Gentamisin (CN)'e, %5'i Amikasin (AK)'e, %1'i Piperasillin/Tazobaktam (TZP)'a direnç göstermiştir. İmipenem (İMP)'e dirençli suşa rastlanmamıştır. Anbiyogram sonuçları *Klebsiella*'larda da şöyledir. Bakteri suşlarının % 66'sının Trimetoprim/Sulfametoksazol (SXT)'e direnç gösterdiği gözlenmiştir.

İzolatların %45'inin Sulbaktam/Ampisillin (SAM)'e, %57'sinin amoksisilin/klavulanikasit (AMC)'e, dirençli olduğu tespit edilmiştir. Siprofloksasin (CİP)'e direnç % 39 olarak gözlenirken, Aztreonam (ATM)'a %35 olarak gözlenmiştir. Bu bakterilerin %34'ü Seftriakson (CRO)'a, %34 Seftazidim (CAZ)'e, %28'i Sefepim (FEP)'e direnç göstermiştir. %22'si Gentamisin (CN)'e, %15'i Amikasin (AK)'e, %18'i Piperasillin/Tazobaktam (TZP)'a, %2'si de İmipenem (İMP)'e direnç göstermiştir.

Yanlış GSBL pozitif bildirimler , günümüzde en etkili ve en önemli tedavi seçeneği olan karbapenemlere karşı direnç gelişimine ve maliyet artışına , yanlış negatif bildirimler ise tedavi başarısızlığına yol açacaktır.

GSBL'si bulunan ve bulunmayan bakterilerle gelişen infeksiyonlar mortalite, morbidite ve sağlık giderleri açısından karşılaştırıldığında, ilk tedavi olarak karbapenemlerin kullanıldığı hastalar hariç GSBL üreten suşlarla gelişen infeksiyonlarda mortalitenin daha yüksek, yatış süresinin daha uzun ve sağlık giderlerinin daha yüksek olduğu belirlenmiştir (54). Bu nedenle Mikrobiyoloji laboratuvarlarında GSBL varlığının doğru yöntemlerle araştırılması ve sonucun tedaviyi yönlendirmesi açısından klinisyene bildirilmesi büyük önem taşımaktadır.

Sonuç olarak; beta laktam antibiyotiklerin ve bunların inhibitör kombinasyonlarının çok sık kullanımı hem var olan direnç mekanizmalarının artması, hem de yeni direnç mekanizmalarının ortaya çıkması nedeniyle gittikçe artan bir tedavi sorunun gündeme getirmektedir. Bunun için her merkezde, bakterilerin beta laktam antibiyotiklere karşı duyarlılıkları önerilen standart yöntemlerle araştırılmalı ve direnç oranları bölgelere göre ülke çapında saptanmalıdır. Geniş spektrumlu beta laktamaz oluşturan suşların genellikle hastane infeksiyonları epidemileri göz önünde bulundurularak, GSBL üreten suşların saptanması halinde gerekli epidemiyolojik çalışmalar başlatılmalıdır.

Beta laktam antibiyotiklere karşı gelişen direnç mekanizmalarının üstesinden gelebilmek için çok az sayıda yeni beta laktam antibiyotikler geliştirilmektedir. Direncin kontrol altına alınabilmesi için, var olan bileşiklerin son derece tedbirli bir şekilde kullanılması gerekmektedir. Bu yüzden, gerekli durumlarda yeterli süre ve dozda antibiyotik kullanımının denetlenmesi ve her hastanede enfeksiyon kontrol önlemlerinin alınması ve antibiyotik kullanım komitelerinin kurulması gerekmektedir .

KAYNAKLAR

1. Gülay Z. "Antibiyotik Duyarlılık Testlerinin Yorumu", **Toraks Dergisi**, 3(1): 075-088 (2002).
2. Akova M., "Dikkat: Genişlemiş Spektrumlu Beta-Laktamaz (GSBL) Var!", **ANKEM Dergisi**, 18 (2):98-103 (2004).
3. Bush K., "New beta-lactamases in gram-negative bacteria: Diversity and impact on the selection of antimicrobialtherapy", **Clinical Infection Dis.**, (32):1085-1089 (2001).
4. Bradford P., "Extended-spectrum beta-lactamases in the 21st century: Characterization, epidemiology, and detection of this important threat", **Clinical Microbiology Reviews**, (14):933-951 (2001).
5. Rupp M.E., Fey P.O., " Extended-spectrum beta-lactamase (ESBL)-producing Enterobacteriaceae", **Considerations for diagnosis, prevention and drug treatment, Drugs**, (63):353-365 (2003).
6. Quinteros M., Radice M., Gardella N., et al. "Expended spectrum beta-lactamases in Enterobacteriaceae in Buenos Aires, Argentina, public hospitals", **Antimicrob. Agents Chemother.**, (47):2864-2867 (2003).
7. Paterson D.L., Ko W.C., Gottberg A., et al. "International prospective study of *Klebsiella pneumoniae* bacteremia: implications of expended spectrum beta-lactamase production in nosocomial infections", **Ann Intern Med.**, (140):26-32 (2004).
8. Asensio A., Oliver A., Gonzalez-Diego P, "Outbreak of a multiresistant *Klebsiella pneumoniae* strain in an intensive care unite: antibiotic use as risk factor of colonization", **Clin. Infect.Dis.**, (30):55-60 (2000).
9. Sturenburg E., Mack D., "Expended spectrum beta-lactamases implications for the clinical microbiology laboratory, therapy and infection control", **J. Infect.**, (47):273-295 (2003).
10. Oteo J., Campos J., Baquero F., "Antibiotic resistance in 1962 invasive isolates of *Escherichia coli* in 27 Spanish hospitals participating in the European Antimicrobial Resistance Surveillance System (2001)", **Journal of Antimicrobial Chemotherapy**, 50:945-952 (2002).
11. Leblebicioğlu H., Nas Y., Eroğlu C., Sunbul M., Esen S., Günaydın M., "Detection of expended spectrum beta-lactamases in *E.coli* and *Klebsiella pneumoniae* ", **J. Chemotherapy**, (11):103-106 (1999).

12. Durmaz R., Dumaz B., Koroglu M., Tekerekoglu M.S., "Detection and typing of extended spectrum beta-lactamases in clinical isolates of the family Enterobacteriaceae in a medical center in Turkey", **Microb. Drug Resist.**, (7):171-175 (2001).
13. Ozakin C., Sinirtas M., Sevgican E., Kazak E., Gedikoğlu S., "Comparison of the E-test method with an automated bacterial identification and antimicrobial susceptibility detection system for screening extended-spectrum beta-lactamase producers", **Scand. J. Infect. Dis.**, (35):700-703 (2003).
14. Bell J.M., Turnidge J.D., Gales A.C., Pfaller M.A., Jones R.N., "Prevalence of extended spectrum beta-lactamase (ESBL)-producing clinical isolates in the Asia-Pacific region and South Africa: regional results from SENTRY Antimicrobial Surveillance Program (1998-1999)", **Diagn. Microbiol. Infect. Dis.**, (42):193-198 (2002).
15. Du B., Long Y., Liu H., "Extended spectrum beta-lactamase producing *E.coli* and *Klebsiella pneumoniae* bloodstream infection: risk factors and clinical outcome", **Intensive Care Med.**, (28):1718-1723 (2002).
16. Livermore D.M., Yuan M., "Antibiotic resistance and production of extended- spectrum beta-lactamases amongst *Klebsiella spp.* From intensive care units in Europe", **J. Antimicrob. Chemother.**, 38:409-424 (1996).
17. Babini G.S., Livermore D.M., "Antimicrobial resistance among *Klebsiella spp.* collected from intensive care units in Southern and Western Europe in 1997-1998", **J. Antimicrob. Chemother.**, 45:183-189 (2000).
18. Bishara J., Livne G., Ashkenazi S., Levyl., Pitlik S., Ofir O., Lev B., Sarma Z., "Antibacterial susceptibility of extended-spectrum beta-lactamase-producing *Klebsiella pneumoniae* and *Escherichia coli*", **Isr. Med. Assoc. J.**, 7(5):298-301 (2005).
19. Ho P.L., Tsang D.N., Que T.L., Ho M., Yuen K.Y. "Comparison of screening methods for detection of extended spectrum beta-lactamases and their prevalence among *E.coli* and *Klebsiella* species in Hong Kong", **APMIS**, (108):237-240 (2000).
20. Seid J., Asrat D., "Occurrence of extended spectrum beta-lactamase enzymes in clinical isolates of *Klebsiella* species from Harar region, eastern Ethiopia", **Acta Trop.**, 30:1 (2005).
21. Kader A.A., Angamuthu K., "Extended-spectrum beta-lactamases in urinary isolates of *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae* and other

- gram-negative bacteria in a hospital in Eastern Province, Saudi Arabia”, **Saudi Med. J.**, 26(6):956-959 (2005).
22. Matar G.M., Al Khodor S., El Zaatari M., Uwaydah M., “Prevalence of the genes encoding extended-spectrum beta-lactamases, in *Escherichia coli* resistant to beta-lactam and non-beta-lactam antibiotics”, **Ann Trop. Med. Parasitol.**, 99(4):413-417 (2005).
 23. Mumcuoğlu İ., Gündüz T., Baydur H., *Escherichia*, *Klebsiella* ve *Proteus* suşlarında genişlemiş spektrumlu beta laktamaz varlığı ve çeşitli antibiyotiklere direnç durumu”, **ANKEM Dergisi**, 18(1):18-21 (2004).
 24. Gülay Z., Yüce A., Yuluğ N., “*Klebsiella pneumoniae* ve *E.coli* suşlarında değişik beta-laktamaz inhibitörleri kullanılarak genişlemiş spektrumlu beta-laktamaz üretiminin saptanması”, **ANKEM Dergisi**, 12:469 (1998).
 25. Özkan C., Oldacay M., Erdem G., “Hastane İnfeksiyonu Etkeni Olarak İzole Edilen *Escherichia coli* Ve *Klebsiella pneumoniae* Suşlarında Genişlemiş Spektrumlu Beta-Laktamaz Sıklığı”, **ANKEM Dergisi**, 16(1): 65-68 (2002).
 26. Hoşgör M., Özkan F., Yapar N., Tünger A., Özinel M.A., “Genişlemiş Spektrumlu Beta-Laktamazların Belirlenmesinde Çift Disk Sinerji Testi ile Üç Boyutlu Yöntemin Karşılaştırılması”, **Klimik Dergisi**, 11(2): 59-60 (1998).
 27. Geyik M.F., Kökoğlu Ö.F., Uçmak H., Çelen M.K., Hoşoğlu S., Ayaz C., “Hastane kaynaklı gram negatif bakterilerde genişlemiş spektrumlu beta-laktamazlar”, **İnfeksiyon Dergisi**, 16:175 (2002).
 28. Akçam F. Z., Gönen İ., Kaya O., Yaylı G., “Hastane Enfeksiyonu Etkeni Çeşitli Gram-Negatif Bakterilerde Genişlemiş Spektrumlu Beta-Laktamaz Yapımının iki Yöntemle Araştırılması”, **Klimik**, 17 (1): 47-49 (2004).
 29. Esen Ş., Eroğlu C., Sünbül M., Leblebicioğlu H., “*E.coli* ve *Klebsiella pneumoniae* suşlarında TEM ve SHV türü beta-laktamaz sıklığı”, **Mikrobiyol. Bült.**, 35:37-43 (2001).
 30. Gür D., “Temel Tıptan Kliniğe Beta Laktamazlar”, **Hacettepe Tıp Dergisi**, 33(2) : 102-109 (2002).
 31. David M., Livermore D.M., “Beta Lactamases in Laboratory and Clinical Resistance”, **Clinical Microbiology Reviews**, (1): 557-584 (1995).

32. Bush K., "The Evolution of Beta Lactamases", ***Mikrobiyoloji Bülteni***, (34):7-21 (2000).
33. Joumana N. S., Araj F.G., "Recent Developments in Beta Lactamases and Extended Spectrum Beta Lactamases" , ***BMJ***, (11): 327 (2003).
34. Tanır G., Göl N., "Antibiyotik Direnci", ***Klimik Dergisi***, 12 (2): 47-54 (1999).
35. Jehl F., Chomar M., Weber M., Gerard A., "Antibiyotik Duyarlılık Testinden Reçeteye", ***Biomerieux Yayınları***, (2004).
36. Leung-Kei S., "Antibiotics:action and resistance in gram negative bacteria", ***J Microbiol Immunol Infect***, (35):1-11 (2002).
37. Bush K., George A. J., Antone A., Medeiros A., "Functional classification scheme for beta lactamases and its correlation with molecular structure", ***Antimicrobial Agents and Chemotherapy***, (8) :1211-1233 (1995).
38. Yorgancıgil B., "Beta Laktam Antibiyotiklere Karşı Oluşan Direnç Mekanizmaları", ***Turgut Özal Tıp Merkezi Dergisi***, 6(2): (1999).
39. Medeiros A.A., "Cooperative Evolution of Mechanisms of Beta Lactam Resistance", ***Clin. Microbiol. Infect.***, 6 (3):3-5 (2000).
40. Gülay Z., "Antibiyotiklere direnç mekanizmaları ve çözüm önerileri: Beta laktamlara ve Karbapenemlere direnç", ***Hastane İnfeksiyonları Dergisi***, (5): 210-229 (2001).
41. "Consensus Guidelines For The Management of Infections by ESBL-Producing Bacteria Ministry of Health Malaysia Academy of Medicine of Malaysia", ***Malaysian Society of Infectious Diseases and Chemotherapy***, (2001).
42. Livermore D.M., "Beta-lactamase-mediated resistance and opportunities for its control", ***J. Antimicrobial Chemotherapy.***, 41(1):25-41 (1998).
43. Poyart C., Mugnier P., Quesne G., Berche P., Trieu-Cuot P., "A novel extendedspectrum TEM-type beta-lactamase (TEM-52) associated with decreased susceptibility to moxolactam in *Klebsiella pneumoniae*", ***Antimicrobial Agents Chemotherapy***, (42):108-113 (1998).
44. Gür D., "GSBL'lerin Genel Özellikleri ve GSBL Tipleri, Genişlemiş

Spektrumlu Beta Laktamazlar”, **Yeni ve Yeniden Gündeme Gelen İnfeksiyonlar**, Bilimsel Tıp Yayınevi Ankara (2004).

45. Bonomo R.A., Rudin S.A., Shlaes D.M., “Tazobactam is a patent inactivator of selected inhibitor-resistant class A beta-lactamases”, **FEMS Microbiol. Lett.**, (148):59-62(1997).
46. Gniadkowski M., “Evolution and epidemiology of extended-spectrum beta-lactamases (ESBLs) and ESBL-producing microorganisms”, **Clinical Microbiology Infection**, (7):597-608 (2001).
47. Weldhagen G., Poirel L., Nordmann P., “Ambler class A extended-spectrum beta-lactamases in *Pseudomonas aeruginosa*: Novel developments and clinical impact”, **Antimicrobial Agents Chemotherapy**, (47):2385-2392 (2003).
48. Ambler R.P., “The structure of beta-lactamases”, **Phil Trans R. Society Biology**, Londra, 289:321-331 (1980).
49. Bush K., Jacoby G.A., Mediros A.A., “A functional classification scheme for beta-lactamases and its correlation with molecular structure”, **Antimicrobial Agents Chemotherapy**, (39):1211-1233 (1995).
50. Bradford P., “Extended Spectrum Beta Lactamases In The 21st Century: Characterization, Epidemiology, and Detection of This Important Resistance Threat”, **Clinical Microbiology Reviews**, 1:933-951 (2001).
51. <http://www.lahey.org/studies/webt.htm> (2005)
52. Livermore D.M., “Beta-lactamases in laboratory and clinical resistance”, **Clinical Microbiology Reviews**, (8):557-584 (1995).
53. Chaibi E.B., Sirot D., Paul G. et al., “Inhibitor-resistant TEM-beta-lactamases: phenotypic, genetic and biochemical characteristics”, **J. Antimicrobial Chemotherapy**, (43):447-458 (1999).
54. Sturenburg E., Mack D., “Extended-spectrum beta-lactamases: implications for the clinical microbiology laboratory, therapy, and infection control”, **J. Infect.**, 47(4):273-95 (2003).
55. Açıkgöz Z.C., Gülay Z., Biçmez M., Göcer S., Gamberzade S., “CTX-M3 extended spectrum beta-lactamase in a *Shigella sonnei* clinical isolate: First report from Turkey”, **Scand J. Infection Dis.**, (35):503-505 (2003).

56. Danel F., Hall L.M.C., Livermore D.M., "Laboratory mutants of OXA-10 beta-lactamase giving ceftazidime resistance in *Pseudomonas aeruginosa*", **J. Antimicrobial Chemotherapy**, (43):339-344 (1999).
57. Bush K., Miller G.H., "Bacterial enzymatic resistance: beta-lactamases and aminoglycoside-modifying enzymes", **Current Opin Microbiology**, (1):509-515(1998).
58. Danel F., Hall L.M.C., Duke B. Gur D, Livermore D.M., "OXA-17,a further extended-spectrum variant of OXA-10 beta-lactamase, isolated from a *Pseudomonas aeruginosa*", **Antimicrobial Agents Chemotherapy**, (43): 1362-1366 (1999).
59. Danel F., Hall L.M.C., Gur D., Livermore D.M., "OXA-16.a further extended spectrum variant of OXA-10 beta-lactamase, from two *Pseudomonas aeruginosa* isolates", **Antimicrobial Agents Chemotherapy**, (42): 3117-3122 (1998).
60. Hall L.M.C., Livermore D.M., Gur D., Akova M., Akalin H.E., "OXA-II. an extended-spectrum variant of OXA-10 (PSE-2) beta-lactamase from *Pseudomonas aeruginosa*", **Antimicrobial Agents Chemotherapy**, (44): 1637-1637 (1993).
61. Altun B., Kocagöz S., Haşçelik G., Akova M., "Resistance to antibiotics in *Acinetobacter* spp. isolated from nosocomial bloodstream infections", **Program and Abstracts of the 42nd Interscience Conference on Antimicrobial Agents and Chemotherapy (ICAAC)**, San Diego, CA; 94: Abst no. C2-316, (2002).
62. Vahaboglu H., Dodanlı S., Eroglu C. et al., "Characterization of multipleantibiotic-resistant *Salmonella typhimurium* strains: molecular epidemiology of PER-I producing isotates and evidence for nosocomial plasmid exchange by a clone", **J. Clinical Microbiology**, (34): 2942-2946 (1996).
63. Vahaboglu H., Öztürk R., Aygun G. et al., "Wide-spread detection of PER-1-type extended-spectrum beta-lactamases among nosocomial *Acinetobacter* and *Pseudomonas aeruginosa* isolates in Turkey: a nationwide multicenter study", **Antimicrobial Agents Chemotherapy**, (41): 2265-2269 (1997).
64. Vahaboglu H., Coskuncan F., Tansel O. et al., "Clinical importance or extended spectrum beta-lactamase (PER-1-type)-producing *Acinetobacter* spp. and *Pseudomonas aeruginosa* strains", **J. Medical Microbiology**, (50): 642-645 (2001).
65. Yong D., Shin J.H., Kim S. et al., "High prevalence of PER-I extended-

- spectrum beta-lactamase-producing *Acinetobacter spp.* in Korea”, ***Antimicrobial Agents Chemotherapy***, (47): 1749-1751 (2003).
66. Vahaboglu H., Hall L.M., Mülazımoğlu L., Dodanlı S., Yildirim I., Livermore D.M., “Resistance to extended-spectrum cephalosporins, caused by PER-1 beta-lactamase, in *Salmonella typhimurium* from İstanbul, Turkey”, ***J. Med. Microbiol***, 43(4):294-9 (1995).
 67. Wong C. et al: “SHV-12, SHV-5,SHV-2a and VEB-1 Extended-Spectrum Beta-Lactamases In Gram Negative Bacteria Isolated in A University Hospital in Thailand”, ***Journal of Antimicrobial Chemotherapy***, (48):839-852 (2001).
 68. National committee for clinical laboratory standards: Antibiyotik disk duyarlılık yöntemleri için uygulama standartları, Onaylanmış standart , Disk difüzyon için ek tablolar. 8. basım Villanova, Pa. (2003).
 69. Colodner R., “Extended-spectrum beta-lactamases: a challenge for clinical microbiologists and infection control specialists”, ***Am. J. Infect. Control***, 33(2):104-107(2005).
 70. Colodner R., Rock W., Chazan B., Keller N., Guy N., Sakran W., Raz R., “Risk Factors for the Development of Extended-Spectrum Beta-Lactamase-Producing Bacteria in Nonhospitalized Patients”, ***Eur. J. Clin. Microbiol. Infect. Dis.***, 23:163–167 (2004).
 71. Murray P.R., Rosenthal K.S., Kobayashi F.S., Pfaller M.A. “Medical Microbiology”, 4.th edi. P:185-194, ***Mosby Comp.***, St.Louis, (2002).
 72. Koneman E.W., Allen S.D., Janda W.M., Schreckenberger P.C., “The Enterobacteriaceae, color atlas and textbook of diagnostic mikrobiyoloji” 5. edition ***Lippincott-Raven Publishers***, 171-241 (1997).
 73. Bilgehan H., “Klinik mikrobiyolojik tanı”, 4.baskı ***Barış Yayınları Fakülte Kitabevi*** İzmir (2004).
 74. Günalp A., Yılmaz A.Y., Pınar A., “Tıbbi mikrobiyoloji laboratuvar eğitim kitabı” ***Hacettepe Üniversitesi Hastanesi Basımevi*** Ankara(2003).
 75. Ewing. “Edwards and Ewing’s identification of Enterobacteriaceae”, 4th ed. ***Elsevier Science Publishing Co.***, New York, N.Y (1986).
 76. Christopher L., Weymouth E., “Detection and clinical significans of Extended Spectrum Beta Lactamases in Tertiary-Care Medical Center”, ***J. Clinical Microbiology***, (35): 2061-2067 (1997).

77. Lautenbach E., Patel J.B., Bilker W.B., Edelstein P.H., Fishman N.O., "Extended spectrum beta-lactamase-producing *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae*: risk factors for infection and impact of resistance on outcomes", ***Clin. Infect. Dis.***, (32):1162 (2001).
78. Özsoy M.F., Öncül O., Yıldırım A., Pahsa A., "Genişlemiş spektrumlu beta-laktamazlar: klinik önemi ve getirdiği sorunlar", ***Flora Dergisi***, 6 (1):3 (2001).
79. Jorgensen J.H., Ferraro M.J. "Antimicrobial susceptibility testing: special needs for fastidious organisms and difficult-to-detect resistance mechanisms", ***Clin. Infect. Dis.***, (30):799-808 (2000).

ÖZGEÇMİŞ

Gülden VURAL ECE 1976 yılında Konya'da doğdu. İlkokulu Balıkesir'in Bandırma ilçesinde bitirdi. Ortaokul, lise öğrenimini Niğde'de tamamladı. Niğde Üniversite Fen Edebiyat Fakültesi Biyoloji Bölümünden 1997 yılında mezun oldu. 1998-2002 yılları arasında Abdi İbrahim İlaç Sanayinde çalıştı. 2003 yılında Gazi Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesinde başladığı yüksek lisans programına halen devam etmektedir. Evlidir.