

**T.C.
FIRAT ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
ENFEKSİYON HASTALIKLARI ANABİLİM DALI**

**HASTANEMİZDE ZOLE EDİLEN *KLEBSIELLA* SPP. VE *ESCHERİCHİA*
COLI SUŞLARINDA GENELİME SPEKTRUMLU BETA -
LAKTAMAZLARIN GENOTİPİ KİTİPLENİMLERİ**

UZMANLIK TEZİ

Dr. NURAN AKMİRZANCI

TEZ DANIŞMANI

Doç. Dr. İhami ÇELİK

ELAZI –2008

DEKANLIK ONAYI

Prof. Dr. Ömer L. ERHAN

DEKAN

Bu tez “Uzmanlık Tezi Standartları”na uygun bulunmu tur.

Prof. Dr. S. Sırrı KILIÇ

Fırat Üniversitesi Tıp Fakültesi

Enfeksiyon Hastalıkları Anabilim Dalı Ba kanı

Tez tarafımızdan okunmu , kapsam ve kalite yönünden Uzmanlık Tezi olarak kabul edilmi tir.

Doç. Dr. İhami ÇELİK

Tez Danı manı

Uzmanlık Sınavı Jüri Üyeleri

.....

.....

.....

.....

.....

TE EKKÜR

Uzmanlık e itimim süresince de erli bilgi ve deneyimlerini bizlerle sürekli payla an de erli hocalarım; Prof. Dr. S. Sırrı Kılıç, Prof. Dr. Ayhan Akbulut, Prof. Dr. Ahmet Kalkan, Doç. Dr. Kutbeddin Demirda ve Doç. Dr. Ihami Çelik'e te ekkürlerimi sunarım.

Birlikte çalı tı m tüm ara tırma görevlisi arkadaş larıma, bu uzun yolda yardımlarını esirgemeyen servis hem ireleri ve personeline te ekkür ederim.

Ayrıca; tez çalı mam sırasında standart su ları temin etme konusunda yardımını esirgemeyen İstanbul Üniversitesi İstanbul Tıp Fakültesi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı ö retim üyesi Prof. Dr. Çi dem Bal'a; PCR çalı mam sırasında bilgi ve deneyimleri ile bana sürekli destek olan ve kliniklerinde çalı ma olana ı sunan Selçuk Üniversitesi Tıp Fakültesi Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı ö retim üyeleri Prof. Dr. Duygu Fındık ve Yrd. Doç. Dr. U ur Arslan Hocalarıma ve Moleküler Laboratuvarı çalı anlarına te ekkür ederim.

Tüm e itimim süresince maddi ve manevi desteklerini esirgemeyen çok de erli aileme ve e ime te ekkürlerimi sunarım .

Ç İNDEK İLER

	Sayfa
1. Özet.....	1
2. Abstract	3
3. Giri	5
3.1. Escherichia Coli	7
3.2. Klebsiella Cinsi Bakteriler	11
3.3. Beta-laktam Antibiyotikler	15
3.3.1. Yapı ve Sınıflandırılmaları	15
3.3.2. Etki Mekanizması	17
3.4. Beta-laktam Antibiyotiklere Karşı Direnç Gelişimi	19
3.5. Beta-laktamazlar	19
3.6. Beta-laktamazların Sınıflandırılması	21
3.7. Geniş Spektrumlu Beta-laktamazlar (GSBL).....	26
3.7.1. TEM ve SHV Kökenli GSBL'ler	28
3.7.2. TEM ve SHV kökenli olmayan GSBL'ler	29
3.7.3. İnhibitör Dirençli Beta-laktamazlar	31
3.7.4. İnhibitör dirençli ve geniş spektrumlu beta-laktamazlar.....	31
3.7.5. Karbapenemazlar	32
3.7.6. Plazmid aracılı sefalosporinazlar (sefamisinazlar).....	32
3.8. Geniş Spektrumlu Beta-laktamazları Araştırma Yöntemleri.....	33
3.8.1. Çift Disk Sinerji Testi.....	34
3.8.2. Üç Boyutlu Test	35
3.8.3. Kombine Disk Metodu	35
3.8.4. E-test.....	36

3.8.5. Mikrodilüsyon Testi.....	36
3.8.6. Otomatize Sistemlerle GSBL Tanımlanması	36
3.8.7. Moleküler Tayin Yöntemleri	37
3.9. PCR ve Beta-laktamazların PCR ile Belirlenmesinin Önemi	39
4. Gereç ve Yöntem.....	42
4.1. Klinik zolatlaraın dentifikasyonu	42
4.2. Antibiyotik Duyarlılık Durumunun Belirlenmesi	42
4.3. GSBL Ara tırılması	43
4.4. Su ların Saklanması.....	45
4.5. Polimeraz Zincir Reaksiyonu	45
4.5.1. Kullanılan Çözeltiler ve Hazırları	45
4.5.2. DNA zolasyonu (Ekstraksiyon).....	45
4.5.3. TEM Tipi Beta-Laktamaz Genleri için Polimeraz Zincir Reaksiyonu.....	46
4.5.4. SHV Tipi Beta Laktamaz Genleri için Polimeraz Zincir Reaksiyonu.....	47
4.5.5. Amplifikasyon Ürünlerinin Agaroz Jel Elektroforezde Görüntülenmesi.....	48
5. Bulgular.....	49
5.1. Örneklerin zolasyon Yerler	49
5.2. Antibiyotik Duyarlılık Durumu	50
5.3. Enzim Tipleri.....	51
6. Tartı ma.....	55
7. Kaynaklar.....	69
8. Özgeçmi	84

TABLO L STES

	Sayfa
Tablo 1. <i>Klebsiella</i> 'ların önemli biyokimyasal özellikleri.....	12
Tablo 2. Beta-laktamazların karışılmalı olarak sınıflandırılması	24
Tablo 3. Ambler'in beta-laktamaz sınıflandırması	25
Tablo 4. Örneklerin izolasyon yerlerine göre dağılımı.....	49
Tablo 5. Mikroorganizmaların antibiyotik duyarlılıkları	51
Tablo 6. E. Coli'de izole edildiği yerlere göre enzim tiplerinin dağılımı.....	53
Tablo 7. <i>K. pneumoniae</i> ve <i>K. oxytoca</i> suşlarında izole edildikleri yerlere göre enzim tiplerinin dağılımı.....	54

EK L L STES

Sayfa

- ekil 1.** Beta-laktam halkası ve yan zincir..... 15
- ekil 2.** Elektroforezde TEM ve SHV bantlarının gösterilmesi51

KISALTMALAR L STES

6-APA:	6-aminopenisilanik asit
7-ASA:	7-aminosefalosporinik asit
AMC:	Amoksisilin-klavulanik asit
AMEs:	Aminoglikozid modifiye edici enzimler
AN:	Amikasin
AZT:	Aztreonam
CAZ/L:	Seftazidim/klavulanat
CAZ:	Seftazidim
CES:	Sefoperazon-sulbaktam
CIP:	Siprofloksasin
Cloks:	Kloksasilin
CLSI:	Committee for Clinical Laboratory Standards
Crb:	Karbenisilin
CRO:	Seftriakson
CTX/L:	Sefotaksim/klavulanat
CTX:	Sefotaksim
ÇDST:	Çift disk sinerji testi
DNA:	Deoksiribonükleik asit
Dntp:	Deoksi nükleotid trifosfatlar
EMB:	Eosin methylene blue agar
FOX:	Sefoksitin
G S:	Gastrointestinal sistem
GSBL:	Geni lemi spektrumlu beta -laktamaz
IPM:	mipenem
IRBLs	nhibitör dirençli beta-laktamazlar
Mbact:	Monobaktam

MEM:	Meropenem
M K:	Minimal inhibitör konsantrasyon
NAGA:	N-asetil glukozamin
NAMA:	N-asetil muramik asit
NCCLS:	National Committee for Clinical Laboratory Standards
PBP:	Penisilin Ba layan Protein
PCR:	Polimerase Chain Reaction (polimeraz zincir reaksiyonu)
PCR-	Polimeraz zincir reaksiyonu-restriction fragment length
RFLP:	polymorphism
Pen:	Penisilin
POD:	Sefpodoksim
RFLP:	Restriction fragment lengt polymorphism
RNA:	Ribonükleik asit
SS:	Sefalosporin
SS:	Salmonella-Shigella
SxT:	Ko-trimaksazol
TBE:	Trisbuffer EDTA
TSI:	Triple Sugar Iron (üç ekerli demirli besiyeri)
TZP	Piperasilin-tazobaktam

1. ÖZET

Antibiyotiklere karşı direnç her geçen gün giderek artmakta olup 1980'li yıllarda geniş spektrumlu beta-laktam antibiyotiklerin yaygın bir şekilde klinik kullanıma girmesinden kısa bir süre sonra bu antibiyotiklere karşı direnç gelişimi bildirilmeye başlanmıştır. Daha sonraki yıllarda bu direnci sağlayan geniş lemi spektrumlu beta-laktamaz (GSBL) enzimlerinin plazmidler ve transpozonlar tarafından bakteriden bakteriye aktarılabildiği gösterilmiştir.

Bu çalışmada Ekim 2006-Ekim 2007 tarihleri arasında Fırat Üniversitesi Tıp Fakültesi Enfeksiyon Hastalıkları ve Klinik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı ile Selçuk Üniversitesi Meram Tıp Fakültesi Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı laboratuvarlarında yapıldı. Çalışmada yatan hastalardan izole edilen ve hastane enfeksiyonu etkeni olan, GSBL üreten 50 adet *E. Coli* ve 50 adet *Klebsiella* suşunda polimeraz zincir reaksiyonu [Polimerase Chain Reaction (PCR)] ile direnç genlerinin belirlenmesi amaçlandı.

Klinik izolatların tanımlanması, antibiyotik duyarlılıklarının saptanması ve geniş lemi spektrumlu beta-laktamaz üretiminin araştırılması Committee for Clinical Laboratory Standards (CLSI) kriterlerine göre yapıldı.

Genotipik direnç paternleri Selçuk Üniversitesi Meram Tıp Fakültesi Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı Moleküler Laboratuvarı'nda PCR yöntemi ile çalışıldı.

Çalışmaya alınan *E. coli* ve *Klebsiella* spp. suşlarında karbapenemlere karşı direnç saptanmadı. Beta-laktamaz inhibitörlü antibiyotiklerden sefaperazon-sulbaktam'a karşı duyarlılık *E. coli*, *Klebsiella pneumoniae* ve *Klebsiella oxtoca*'da (sırası ile %84, %54 ve %54) piperasilin-tazobaktam ile karşılaştırıldığında (sırası ile %66, %43, %46) daha iyi olduğu saptandı.

Beta-laktam dı ı antibiyotikler arasında ise en duyarlı antibiyoti in amikasin oldu unu gözlemlendi. Amikasin duyarlılı ı *E. Coli*'de %94, *K. Oxytoca*'da %92, *K. Pneumoniae*'da %86 idi.

E. coli su larına kar ı en dirençli antibiyotik siprofloksasin (%88) iken, *K. pneumoniae* ve *K. oxytoca* su larına kar ı en dirençli antiyotik trimetoprim-sülfametaksazol (sırası ile %89 ve %46) idi.

E. coli su undan 38'inde (%76) TEM enzimi pozitif olarak saptandı. Endotrakeal aspirat, cerrahi alan enfeksiyonu ve kandan izole edilen tüm örneklerde TEM enzimi pozitiflikti.

Klebsiella su larının ise 43'ünde (%86) SHV enzimi pozitiflikti. SHV pozitif su ların 33'ü (%76,7) *K. pneumoniae*, 10'u (%23,3) *K. oxytoca* idi. drar ve endotrakeal aspirat örneklerinden izole edilen *Klebsiella* su larında SHV pozitiflik oranı (sırası ile %91,7 ve %100) daha yük sekti.

Anahtar Kelimeler: GSBL, *E. coli*, *Klebsiella* spp., TEM, SHV, PCR

2. ABSTRACT

Genotypic Typing of Extended-Spectrum β -Lactamase of *Klebsiella* spp. and *Escherichia coli* Strains isolated in our Hospital

Resistances to the antibiotics increase with time. Resistance to antibiotics has begun to announced short after begin the excessive clinical use of extended spectrum beta-lactam antibiotics since 1980's. In following years, it was shown that the enzymes of extended spectrum beta lactamases cause the resistance were transmitted among bacterial species via plasmids and transposons. Extended spectrum beta-lactamases (ESBLs) that classically identified are enzymes that derive d from the enzymes of TEM, and SHV.

This study was carried out in the Laboratories of Firat University Medical Faculty Department of Infectious Diseases and Selcuk University Medical Faculty Department of Microbiology and Clinical Microbiology among October 2006-October 2007. In the study, it was aimed to show resistance genes with polymerase chain reaction (PCR) for 50 *E.coli* and 50 *Klebsiella* spp. induced ESBL that are the agent of hospital acquired infection isolated from hospitalized patients.

Identification of clinical isolates, antibiotic susceptibility tests, and investigations of extended-spectrum beta-lactamases were made according to the criteria of Committee for Clinical Laboratory Standards.

Genotypic resistance patterns were studied with the technique of PCR at the Molecular Laboratory of Meram Medical Faculty, Department of Microbiology and Clinical Microbiology.

No resistances were detected to the carbapenems against to the strains of *E. coli* and *Klebsiella* spp. Susceptibilities to the cefoperazon/sulbactam that include beta-lactamase activity against to the *E. coli*, *Klebsiella pneumoniae* and *Klebsiella oxytoca* were better (84%, 54% and 54% respectively) than piperacillin/tazobactam (66%, 43%, 46% respectively).

Amikasin was the most susceptible antibiotic other than beta -lactams. Susceptibility to the amikasin against *E. coli* was 94%, *K. oxytoca* was 92%, *K. pneumoniae* was 86%.

Whilst the most resistant antibiotic against *E. coli* species were ciprofloxacin (88%), the most resistant antibiotic for *K. pneumoniae* and *K. oxytoca* were trimetoprim-sulfamethoxazole (89% and 46% respectively).

The enzyme of TEM was detected as positive at 38 (76%) strains of *E. coli*. TEM was positive in the samples isolated from endotracheal aspirates, surgical site infections and blood.

The SHV enzyme was positive at the 43 strains (86%) of *Klebsiella* strains. The SHV positive strains were constituted as 33 for *K. pneumoniae* (%76.7) and 10 for *K. oxytoca* (%23.3). SHV positivity rate was higher at *Klebsiella* strains isolated from the samples from urine and endotracheal aspirate (%91.7 and 100% respectively).

Key words: ESBL, *E. coli*, *Klebsiella* spp., TEM, SHV, PCR

3. G R

Antibiyotiklere karşı direnç geli mi gün geçtikçe artmakta ve dirençli bakterilerce olu turulan enfeksiyonlar morbidite ve mortalite oranlarında ciddi derecede artı a yol açmaktadır. Bakterilerin antibiyotiklere karşı olu turdukları direnç için en sık kullandıkları mekanizmalardan biri sentezlenen enzimler ile antibiyoti in inaktive edilmesidir. Beta-laktam antibiyotikleri hidrolize eden beta-laktamaz enzimleri bu tip dirence en iyi örne i te kil eder (1, 2). Ba ta *E. coli* olmak üzere bütün Gram negatif bakterilerde sık olarak bulunan TEM –1 ve 2 ile özellikle *Klebsiella* su ları tarafından sentezlenen SHV –1 en yaygın beta-laktamaz olmaları ve plazmidlerce ta ınmal arı nedeniyle klinik açıdan ön plana geçmektedir. Sayıları 600'e ula an beta-laktamazlardan yakla ık yarısını olu turan geni lemi spektrumlu beta-laktamazlar (GSBL), ço unlukla TEM–1, TEM–2 ve SHV beta-laktamazlarından bir veya birkaç aminoasit de iikli i ile olu maktadır. Bunun yanında TEM ve SHV kökenli olmayan GSBL'ler de saptanmaktadır (3, 4).

TEM ve SHV tipi GSBL'ler plazmid kökenlidir ve ba ta *K. pneumoniae* olmak üzere *Echerichia coli*, *Enterobacter* spp, *Salmonella*, *Proteus*, *Citrobacter*, *Morganella morganii*, *Shigella dysenteriae*, *Serratia marcescens*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Burkholderia cepacia* gibi birçok Gram negatif bakteride bulunabilmektedir (5).

Geni lemi spektrumlu beta-laktamazlar, genellikle seftazidim ve/veya sefotaksim minimal inhibitör konsantrasyon (M K) de erlerinde orta dereceli bir artı a yol açtıkları için bu enzimlerin rutin laboratuarlarda tanımlanmaları güç olmaktadır (6).

Benzer antibiyotik direnç profili gösteren su lar farklı genotipik patern gösterebilecekleri gibi, benzer direnç profiline sahip olmayan su lar da genetik olarak aynı olabilirler. Sık görülen veya normal flora üyesi mikroorganizmaların incelenmesinde geleneksel yöntemler yanında, modern moleküler epidemiyolojik tiplendirme yöntemlerine de gereksinim vardır. Epidemiyolojik tiplendirme hem fenotipik hem de genotipik yöntemleri içermektedir. Antibiyotik duyarlılık profili, biyotip, serotip, bakteriyofaj duyarlılık profili ve protein yapım analizine dayanan fenotipik yöntemler, bazı epidemilerin tanımlanmasını sağlamakla birlikte, izole edilen mikroorganizmaların birbiriyle kesin ilişkisinin araştırılmasında her zaman yeterli olmazlar ve DNA saptanmasına dayalı moleküler genotipik yöntemlere gereksinim duyulur (7, 8).

Dikkatli bir epidemiyolojik araştırma ile birlikte moleküler yöntemlerin kullanılması çoğunlukla problem olan mikroorganizmaların kaynağının bulunmasına ve gerekli önlemlerin alınması sonucunda bu mikroorganizmanın hastane içinde yayılımının önlenmesine ve epidemilerinin araştırılmasına yardımcı olacaktır.

Bu çalışma Ekim 2006 ile Ekim 2007 tarihleri arasında Fırat Üniversitesi Tıp Fakültesi Enfeksiyon Hastalıkları ve Klinik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı Laboratuvarı'nda yapıldı. Çalışmada yatan hastalardan izole edilen ve hastane enfeksiyonu etkeni olan, GSBL ürettiği çift disk sinerji testi (ÇDST) ile gösterilen 50 adet *E. coli* ve 50 adet *Klebsiella* spp. su unda polimeraz zincir reaksiyonu (PCR) ile direnç genlerinin belirlenmesi amaçlandı.

3. 1. ESCHERICHIA COLI

Escherichia coli, ilk kez 1855 yılında Escherich adında bir ara tırmacı tarafından infantların dış kısmından izole edilmiş ve *Bacterium coli* olarak adlandırılmıştır. Daha sonraları izole eden kişinin adı verilerek *Escherichia coli* olarak tanımlanmıştır (9, 10)

Enterobacteriaceae familyası içerisinde yer alan, kuş ve memelilerin normal barsak florasında bulunan *E. coli*, 2–6 µm boyunda, 1–1.5 µm eninde, düz, uçları yuvarlak bir Gram negatif basildir. Genellikle etraflarında bulunan kirpikleri aracılığıyla hareketli olmakla beraber hareketleri yavaştır. Birçok suya kapsül veya mikrokapsül bulunmaktadır (9, 10).

Fakültatif anaerob olup 15-45°C sıcaklıklar arasında üreyebilmekle birlikte optimal üreme sıcaklığı 37°C'dir. Ortalama pH 7–7.2'de, buyyon ve jeloz gibi genel besi yerlerinde kolayca ürerler. Buyyon ve peptonlu sudayou un üreme gösterirler ve homojen bulanıklık yaparlar. Agarda genellikle 2 – 3 mm. çapında parlak, düzgün kenarlı, konveks, gri-beyaz renkte S tipi koloniler yaparlar. Tekrarlanan pasajlarda ise kaba-mat ve granüler R tipi koloniler oluşur. Bazı kökenler, özellikle idrar yolu enfeksiyonlarından soyutlananlar kanlı agarda hemoliz yapabilirler. Kapsüllü suşları ise mukoid koloniler oluşturabilirler. Üreaz ve diğer karbonhidratları asit ve gaz oluşturarak parçalarlar. Laktoza olan etkileri ve gaz oluşturması diğer barsak bakterilerinden özellikle *Salmonella* ve *Shigella*'lardan ayırımında önemli bir özelliktir. Bu nedenle pratikte laktoz negatif bakterilerden ayırt etmek amacıyla içinde laktoz ve bir ayıraç bulunan çeşitli besiyerleri kullanılır. İçinde laktoz ve eozin metilen mavisi bulunan eozin metilen blue (EMB) agar ile içinde laktoz, sodyum sülfid, diyament füksin içeren Endo agarda mavi-siyah

ye ilimsi parlaklık veren koloniler olu tururken McC onkey ve Salmonella-Shigella (SS) agarda kırmızı koloniler olu tururlar (9 -11).

Oksidaz negatif olup üreyi parçalayamazlar. *E. coli* bakterilerinin IMVIC olarak bilinen biyokimyasal özellikleri (Triptofandan indol olu turma, Metil kırmızısı testi, Voges Proskauer testi, sitrat tüketimi testi) (+ + – –) olarak gösterilir. Bazı kökenleri dı ında Hidrojen sülfür olu turamazlar, ancak sisteinli besiyerinde az miktarda H₂S yaptıkları saptanmı tır. Katalaz pozitif, potasyum siyanür testi olumsuzdur (9,10).

E. coli dı etkilere oldukça dayanıklı bir bakteridir. 55 °C'de bir saat, 60°C' de 20–30 dakika, oda ısısında uzun süre canlı kalırlar. So u a dirençli, dezenfektanlara kar ı ise dirençsizdirler. *E. coli*'nin O (somatik), H (kirpik), K (kapsül) antijenleri bulunmaktadır. Basil, O antijenlerine göre gruplara, H ve K antijenleriyle de serovarlara ayrılır (9,11).

E. coli memelilerin ve ku ların normal barsak florasında bulunur. Burada di er flora bakterileri ve organizma ile bir denge altında kaldı ı sürece hastalık yapmaz. Normal ko ullarda koku ma (pütrefaksiyon) ve mayala ma (fermentasyon) dengesinin düzenlenmesinde ve besinlerin sindirilmesi ile ilgili bazı hususlarda yardımcı olur. Ancak *E. coli* su ları insan ve hayvanlar için patojen olup barsak hastalıklarına neden olur. Barsak kanalı dı ına çıkıp di er dokulara yerle meleri ve çe itli klinik tablolara yol açmaları sık görülen durumlardır. Özellikle idrar yolları, safra kesesi, periton ve meninkslere ula an *E. coli* bakterileri önemli hastalıklara yol açarlar. Organizmanın normal savunma gücünün azalması, örne in yeni do anlarda, ya lılarda, di er hastalıkların terminal dönemlerinde, immünoşüpresyon

durumlarında, vena ve üretra kateterizasyonlarından sonra koliform bakterilerin doku ve kana yayılması için gerekli koşullar ortaya çıkar (12).

E. coli'nin neden olduğu hastalıklar, gastrointestinal sistem (G S) enfeksiyonları ve diğer doku enfeksiyonları olarak iki gruba ayrılabiliriz. Daha çok diyare sendromu ekinde ortaya çıkan G S enfeksiyonları, *E. coli*'nin özel "O" serovarları tarafından meydana getirilirler. Küçük çocuklarda ortaya çıkan ishaller daha çok hastane ve krelerde salgınlar ekinde görülür. Büyükler çoğu kez hasta çocuklardan infekte olurlar. Bununla beraber turist ishali adı verilen bir ishalden de sorumlu etkenlerin enteropatojenik *E. coli* suşları olduğu bilinmektedir. Akut ishal olgularında bu suşlar çocukların ince barsaklarında hatta duodenumda bol sayıda bulunmaktadırlar. Diğer mekanizmalarla ishale neden olan *E. coli*'nin 6 tipi tanımlanmıştır (13-16).

1. Enterotoksijenik *E.coli* (ETEC)
2. Enterohemorajik *E.coli* (EHEC)
3. Enteroinvazif *E.coli* (EIEC)
4. Enteropatojenik *E.coli* (EPEC)
5. Enteroagregatif *E.coli* (EagEC)
6. Diffüz adeziv *E.coli* (DAEC)

Barsak normal florasında bulunan *E. coli* suşları herhangi bir nedenle buldukları yerin dışına baka dokulara geçme olanağını buldukları takdirde çeşitli ve bazen önemli enfeksiyonların oluşmasına neden olabilirler. En çok üriner sistem, safra kesesi, meninksler, akciğer ve peritonea ulaşan *E. coli* suşları bu organda süperatif enfeksiyonlara yol açar. Bunların dışında prostatit, çeşitli perineal absesler, daha az olmak üzere tonsillit, farenjit,

sinüzit, otit, yara enfeksiyonları gibi lokalize enfeksiyonlara rastlanmaktadır (12).

Hastane ortamında güç ya ayan bir bakteri oldu undan bu bakteriye ba lı hastane enfeksiyonlarının ço u endojen kaynaklı olup barsak florasından köken almaktadır. Buna kar ın son yıllarda ço ul dirençli su lar hastane enfeksiyonlarında izole edilmeye ba lamı tır. İlk kez 1940 yılında *E. coli*' de beta-laktam direncine yol açan ve "penisilinaz" adı verilen enzimler tanımlanmı tır (17). 1960'ların sonlarında ampisilin ve di er aminopenisilinlere kar ı *E. coli*'nin direnç geli tirmesi hastane enfeksiyonlarında büyük bir problem olmaya ba lamı tır (18,19). 1965 yılında ilk kez ampisiline dirençli *E. coli* su ları izole edilmi ve direnci sa layan beta-laktamaza TEM-1 adı verilmi tir (20). 1980'li yıllara kadar, kullanımda olan geni spektrumlu beta-laktamların etkisine direnç yanıtı, geni spektrumlu beta-laktamazlar olan TEM-1, onun varyantı TEM-2 ve SHV-1 olarak kalmı tır. SHV-1 *Klebsiella pneumoniae*'da genellikle kromozomal, *E. coli*'de ise genellikle plazmidik olarak bulunur. 1980'li yıllarda ise Gram negatif bakteri enfeksiyonları için oldukça fazla kullanılan yeni sefalosporinlere ya da di er deyimle geni lemi spektrumlu sefalosporinlere (oksiiminosefalosporinler ve üçüncü ku ak sefalosporinler) kar ı geni lemi spektrumlu beta-laktamazlar'ın (GSBL) üretimi yanıtı gelmi tir. GSBL geli imi ilk kez 1983 yılında Almanya'da bir *K. pneumoniae* su unda tanımlanan SHV-2 ile tanımlanmı tır (21). Bu enzim daha sonra *E. coli* ve di er *Enterobacteriaceae* familyasında görülmü , sonra pek çok ve çe itli GSBL enzimi tanımlanmı tır (3).

3. 2. KLEBS ELLA C NS BAKTER LER

Toprakta, sularda, insan ve hayvanların barsakları ile üst solunum yolu normal florasında bulunurlar. *Enterobacteriaceae* ailesinin özelliklerini gösteren hareketsiz, sporsuz, ço unlukla kapsüllü, 0.7–1.5 x 2.0–5.0 µm boyutlarında, bazen iki er bazen kısa zincir olu turan çomak ekinde bakterilerdir. Gram negatif olup bakteriyolojik boyalarla iyi boyanırlar. Kapsül, organizmadan yeni ayrılan ve hastalık materyali içindeki bakterilerde açık seçik ve geni olarak görülür. Kanlı, serumlu besiyerleri nde kapsüllerini saklı tutarlar. En iyi glikozlu besiyerlerinde kapsüllenirler (12).

Klebsiella lar tüm barsak bakterileri gibi genel kullanım besiyerlerinde kolayca ürerler. Ortalama pH 7 ve 37°C üremeleri için en iyi ortamdır. Buyyon gibi sıvı besiyerlerinde homojen bir bulanıklık ve dipte muköz bir çöküntü yaparak ürerler. Katı besiyerlerindeki kolonileri tipik mukoid nitelikte, büyük, sarımtırak gri renkte ve akıcı kolonilerdir. Uygunsuz ko ullarda S ve R kolonilerine dönü ebilirler. Aerop ve fakültatif anaerop olup üredi i ortama bol kapsül maddesi salarlar (12).

Ba ta glikoz olmak üzere mannitol, salisin, adonitol, inozitol ve sorbitolden, ço u kez de laktoz ve sukrozdan gaz yapmak suretiyle birçok ekeri parçalarlar. Ni astadan gaz olu turmaları önemli bir özelliktir. Hidrojen sülfür (H₂S) yapmazlar. Özellikle solunum sisteminden ayrılan bazı kökenler de i ik biyokimyasal reaksiyonlar verebilirler. *Klebsiella* lar fenilalanini deamine etmezler. Az bir kısmı dı nda jelatinaz, ornitin dekarboksilaz olu turmazlar (Tablo 1) (12, 22).

Tablo 1: *Klebsiella*'ların Önemli Biyokimyasal Özellikleri

	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	<i>Klebsiella ozaenae</i>	<i>Klebsiella rhinoscleromatis</i>	<i>Klebsiella oxytoca</i>	<i>Klebsiella terrigena</i>	<i>Klebsiella planticola</i>
Metil kırmızısı	-	+	+	-	+	D
Indol	-			+	-	D
Voger proskauer	+	-	-	+	+	+
Sitrat	+	D	-	+	+	+
44,5°C'de laktozdan gaz	+			-	-	-
+10°C'de üreme	-	-	-	+	+	+
Laktoz	+	G	G	+	+	+
Malonat	+	-	+	D	D	+
Üreaz	+	D	-	+	+	+
Lizin dekarboksilaz	+	D	-	+	+	+
Arjinin	-	D	-	-	-	-
H ₂ S	-			-	-	-

Açıklama: (+): olumlu, (-): olumsuz; (D): de i ken; (G): gaz olu turma

Klebsiella'lar ısıya dayanıksızdırlar ve nemli ısıda 55°C'de yarım saatte ölürler. Ancak kurulu a kar ı oldukça dirençli olup özellikle organik maddeler içinde kurutulursa aylarca canlı kalabilirler. Oda ısısında tutulan kültürlerde haftalarca, +4°C'de so ukta aylarca canlı kalırlar. Antibiyotiklere kar ı oldukça dirençlidirler ve bu dirençleri *E. coli*'ye oranla fazladır. Hastane

ortamından izole edilen kökenlerde dirençlilik düzeyi çok yüksektir. *Klebsiella*'larda lipopolisakkarit yapısında K antijenleri bulunmakta olup bu bakterilerin serolojik tiplendirilmeleri bu antijenlere göre yapılmıştır. Bugün K antijenine bağlı tiplendirme daha kolay olması ve buldukları takdirde O antijenlerinin tepkimelerini engellemeleri yüzünden ön planda uygulanmaktadır. Bu antijenlere karşı elde edilmiş anti serumlarla lam ve tüp aglütinasyonları, kültür süzütüsü ile presipitasyon ve Neufeld'in kapsül i me reaksiyonları ile *Klebsiella*'lar tiplendirilebilirler. Kapsül i me reaksiyonunda aslında özgül serumlarla karşılaştırılan bakterilerin kapsül polisakkaritlerinde oluşan presipitasyon sonucunda kapsül periferinde opak bir çevre oluşmakta olup kapsül i mi gibi görülmektedir. Bu deneylerle *Klebsiella*'ların 82 K tipi antijeni gösterilmiştir (12).

Klebsiella'lar sağlıklı insanların %5'inin barsak ve üst solunum yolları florasında bulunurlar. Bakteriyel pnömonilerin yaklaşık %2'si bu bakteriler tarafından meydana getirilir. Akciğerlerde nekroz ve hemorajik konsolidasyonlarla seyreden ağır bir pnömoniye neden olurlar. Bunun dışında idrar yollarına, prostat, periton, meninksler, kulak ve sinüs boşlukları gibi organlara yerleşerek ve kanda yayılarak çetli tipte ve ağırlıkta enfeksiyonlara neden olurlar. Kapsülün patojenlikle ilişkisi kesin değildir. *Klebsiella*'ların serbest bir toksini yoktur. Bununla beraber kültür süzütüleri bazı hayvanlarda ölüme kadar götürebilen hemorajik lezyonlar yapmaktadırlar. Bazı *Klebsiella*'larda enterotoksin saptanmıştır. Bazı suşları R plazmidlerini kolayca kabul eder ve bu şekilde antibiyotiklere karşı çok direnç kazanırlar (12).

Üst solunum yolu ve barsak florasında bulunabilen *Klebsiella*'ların buldukları yerde uygun koşulların oluşması veya yerlerini değiştirecek diğer organ ve sistemlere yerleşmeleri halinde birçok hastalığa neden olurlar. Son zamanlarda özellikle hastane ortamlarında antibiyotiklere karşı direnç edinimi kökenlerin yaptığı hastane enfeksiyonları yüzünden bu bakterilerin önemi artmıştır. Gram negatif bakteri enfeksiyonlarında yeni sefalosporinlerin ya da diğer deyimle genişlemiş spektrumlu sefalosporinlerin (oksiiminosefalosporinler) oldukça fazla kullanılması genişlemiş spektrumlu beta-laktamazlar (GSBL)'in üretilmesine neden olmuştur. GSBL ilk kez 1983 yılında Almanya'da bir *Klebsiella pneumoniae* suşunda tanımlanmış ve SHV-2 adı verilmiştir (21).

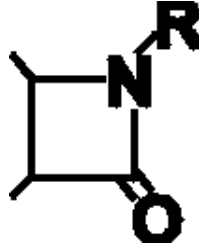
Klebsiella'ların neden olduğu pnömoniler bakteriyel pnömonilerin %2'sini oluşturur. Daha çok iki yıldan küçük ve 40 yıldan büyük kimselerde görülür. Çeşitli nedenlerle vücut direncinin kırılması, virüslara bağlı olanlar başta olmak üzere çeşitli üst solunum yolu enfeksiyonları hazırlayıcı faktör olarak etki yaparlar. *Klebsiella*'lara bağlı idrar yolu enfeksiyonları özellikle hastane ortamında artmış göstermektedir. Piyelit, piyelonefrit ve sistit ekinde ortaya çıkan bu tip enfeksiyonlar tedaviye oldukça direnç göstermektedirler. *Klebsiella*'lar, bu hastalıkların dışında ve daha az olmak üzere prostatit, otitis media, sinüzit, kolesistit, peritonit, anjin, menenjit ve daha az olmak üzere sepsis, karaciğer absesi ve çeşitli organ hastalıkları yaparlar (12).

3. 3. BETA-LAKTAM ANTİBİYOTİKLER

Molekölünün antibakteriyel etkinlikten sorumlu çekirdek kısmında beta-laktam halkası içeren antibiyotiklere beta-laktam antibiyotikler veya beta-laktamlar adı verilir (23).

3. 3. 1. Yapı ve Sınıflandırılmaları

Beta-laktam halkası biri azot, üçü karbon olan dört üyeli doymu heterosiklik bir halkadır (ekil 1.) Her grup beta -laktam antibiyoti in özelli i bu halkaya ba lanan yan zincire (R zinciri) göre belirlenir.



ekil 1. Beta-laktam halkası ve yan zincir (R).

Ökaryotik organizmalara kar ı olan dü ük yan etki insidansı, tüm ya gruplarında uygulanabilmeleri ve neredeyse tüm bakteriyel kökenli enfeksiyonlarda kullanılabilmeleri, üstün etkinlikleri, geni spektrum ve güçlü bakterisid etkilerinin olması bu grup antibiyotiklerin sık tercih edilmesinin sadece birkaç nedenidir. Ancak bu yaygın kullanıma paralel olarak bakterilerin de yeni direnç mekanizmaları geli tirdi i ve ge rek toplum gerekse hastane kökenli etkenlerde beta-laktam antibiyotiklere direnç oranlarının giderek arttı ı gözlenmektedir.

Beta-laktam antibiyotikler ba lıca 5 grupta toplanabilir. Bunlar;

- a. Penisilinler
- b. Sefalosporinler
- c. Karbapenemler

d. Monobaktamlar

e. Beta-laktamaz inhibitörleri

Penisilinler; bir grup doğal ve semisentetik antibiyotiklerdir. Kimyasal olarak bir tiazolidin halkasına bir beta-laktam halkası eklenmesi ile oluşan 6-aminopenisilanik asit (6-APA) çekirdeği içerir. Bu tiazolidin halkası ve ekler antibakteriyel spektrum ve farmakolojik özellikleri belirler. Doğal penisilinler *Penicillium* cinsi küflerden elde edilir. Penisilinler bakterisidal etkilidir. Ancak etki göstermeleri için bakterilerin çoğalma dönemlerinde olmaları gerekir. Çoğalma döneminde yeni peptidoglikan sentezi ve transpeptidasyon reaksiyonu söz konusudur (24).

Sefalosporinler; *Cephalosporicum acremonium*'un fermantasyon ürünlerinden elde edilir. Ancak sefoksitin, *Streptomyces*'den elde edilir. Sefalosporinlerde, penisilinlerin aksine beta-laktam halkasına bağılanmış halde bulunan ikinci halkalar beta (tiazolidin) dekil altı (dihidrotiazin halkası) üyeli. Böylece ana yapı 7-aminosefalosporinik asitten (7-ASA) oluşmaktadır. Özellikle stafilokoklar tarafından salınan çeyitli beta-laktamazlara dirençli olmaları bu yapısal değişiklik nedeniyle. Bu yapıya değişik ürünlerin bağlanması, sefalosporinlerin antibakteriyel aktivite ve farmakokinetik özelliklerini belirlemektedir. Penisilinler gibi bakterisidal etkilidirler (24).

Karbapenemlerin yapısı penisilinlerden ve sefalosporinlerden farklıdır. Bunlarda beta-laktam halkasına kaynağı beta üyeli halkanın birinci pozisyonunda sülfür bulunmaz, bunun yerine bir karbon atomu vardır ve halkada bir adet çift bağ bulunur. mipepenemde altıncı pozisyonda açılaminoyan zinciri yerine hidroksietil yan zinciri bulunması beta laktamazlara dirençli

olmasını sağlar. Karbapenemler halen kullanılmakta olan antibiyotikler içerisinde en geniş spektrumlu olanlardandır (24).

Monobaktamlar; bir beta-laktam halkasından oluşurlar ve monosiklik yapıdadırlar. Diğer çoğu beta-laktam antibiyotiklerin aksine etki spektrumunda büyük ölçüde Gram negatif bakterilerin bulunmasını, beta-laktam halkasına eklenmiş olan aminotiazolil halkası sağlar. Yapısındaki alfa-metil grubu ise TEM-1, 2 ve SHV gibi plazmid aracılı beta laktamazlara karşı stabilite sağlar (24).

Beta-laktamaz inhibitörleri ise şu şekildedir;

Klavulanik asit; zayıf antibakteriyel etkili bir madde olup *Streptomyces clavuligerus* kültüründen izole edilmiştir. Stafilokokların ve diğer Gram olumsuz bakterilerin ürettikleri beta-laktamazları inhibe eder. Beta-laktamaz ile birleşip, geri dönüşümsüz açil enzim kompleksi oluşturarak beta-laktamaz enziminin aktivitesini yok ederler. Penisilin ve sefalosporinlerle sinerjistik etkilidir.

Sulbaktam; zayıf antibakteriyel aktiviteye sahip bir 6-dezaminopenisilin sülfon'dur. Beta-laktamaz enzimini inhibe eder. Penisilin ve sefalosporinlerle sinerjistik etkilidir.

Tazobaktam; yapısal olarak sulbaktama benzeyen bir penisilinik asit sülfon türevidir. Penisilin Bağlayan Protein (PBP) 1 ve 2'ye bağlanarak beta-laktamazları inhibe eder. Tek başlarına antibakteriyel etkisi zayıftır (24).

3. 3. 2. Etki Mekanizması:

Beta-laktam antibiyotikler bakteriyel hücre duvar sentezini inhibe ederler. Bakteriler ökaryotlardakine benzer bir sitoplazmik membrana sahiptirler. Özellikle Gram negatif bakterilerde bu membrana saran bir periplazmik bölük

ve takiben peptidoglikan tabaka bulunur. En dı ta ise bir dı tabaka bulunur. Peptidoglikan yapımında bakteri ilk olarak üridin difosfat ba lı N-asetil muramik asit (NAMA) pentapeptit prekürsörlerini sentez eder. Bu prekürsörler sitoplazmada sentez edilip sitoplazmik membrana ta nırlar. Trans -glikozilasyon peptidoglikan üzerindeki serbest N-asetil glukozamin (NAGA) ile eker zinciri uzatır. Bu çapraz ba lantı NAMA'in yapısında yer alan D -alanil-D-alanin moleküllerinin arasında köprü kuran bir glisin pentapeptitle sa lanır. A sı bir yapı gösterir (23, 25).

Çapraz ba lanma reaksiyonu (transpeptidasyon); sitoplazmik membranın dı yüzünde yer alan serin proteaz derivesi enzimlerle (transpeptidazlar ve karboksipeptidazlar) katalize edilmektedir. Bu enzimlere Penisilin Ba layan Protein (PBP) denmektedir; membran proteinlerinin %1 kadarını olu tururlar. Sayıları Gram negatif basillerde 10, Gram pozitif ve negatif koklarda 3 –4 kadardır. Yüksek moleköl a ırlıklı olandan dü ü e do ru PBP 1, 2 ve 3 olarak numaralandırılırlar (26–28)

Beta-laktam antibiyotiklerin etki mekanizması 'moleküler benzerlik' temeline dayanır. Beta-laktamlar transpeptidaz enziminin aktif bölgesine kovalan ve irreversibl olarak ba lanırlar ve D-alanil-D-alanin ile kompleks olu turmasını önleyerek hücre duvarındaki peptidoglikan sentezinin tamamlanmasına engel olurlar (28). Beta -laktamların trans-glikozilasyona etkileri yoktur. D-alanil-D-alanin karboksipeptidazları yanısıra regülatuar etkisi olan bazı peptidoglikan endopeptidazlarını inhibe ederler (25).

3. 4. BETA-LAKTAM ANTİBİYOTİKLERE KARŞI DİRENÇ GELİŞİMİ :

Bakteriler arasında beta-laktam ajanlara karşı direnç geliştirmek için 4 temel yol vardır.

- a. Dış membrandan geçmek için gereken kanalların (porinler) daralması veya bazı kanalların sayısının azalması (örneğin; *Pseudomonas aeruginosa*'da Opr-D ve Opr-M porinlerinde down regülasyon ile AmpC dereprese mutant suşlarda karbapenem direncinin sağlanması) (29, 30).
- b. Periplazmik bölükte yerleşen bazı pompa sistemleri sayesinde içeri girmiş olan antibiyotiklerin aktif olarak dışarı pompalanması (örneğin; *P. aeruginosa*'da Mex-A ve Mex-B efflux sistemleri). (29, 30).
- c. Beta-laktamların bağlanarak etkinliklerini gösterdikleri PBP yapısında değişiklik yaparak (yapısal değişim) antibiyotik bağlanmasının engellenmesi veya azaltılması (örneğin; *Staphylococcus aureus* suşlarının penisilin direnci) (30).
- d. Beta-laktam antibiyotikleri parçalayan beta-laktamaz enzimlerinin üretimi (hemen hemen tüm bakteri türlerinde rastlanan genel beta -laktam direnci).

3. 5. BETA LAKTAMAZLAR:

Beta-laktam halkası içeren antimikrobiyal ajanlara karşı gelişen direnç mekanizmalarından en önemlisi beta-laktamaz enzimlerinin üretimidir.

Beta-laktamazlar; penisilinler, sefalosporinler ve benzeri beta -laktam halkası içeren antibiyotikleri hidrolize eden ve bu antibiyotiklere karşı direnç gelişimine neden olan enzimlerdir (31, 32). Bu enzimler, penisilinler ve 1. kuşak sefalosporinleri etkin bir biçimde parçaladıkları halde sefotaksim, seftazidim ve aztreonam gibi geniş lemi spektrumlu beta -laktam ajanlara kısıtlı etki gösterirler. Ancak 1980'li yıllardan başlayarak geniş spektrumlu

beta-laktam ajanların klinik tedavide yaygın kullanımları neticesi, bu ana enzimleri kodlayan genlerdeki nokta mutasyonlarına ba lı olarak yeni enzimler geli mi tir. Bu enzimler geni spektrumlu beta -laktam ajanları inaktive edebilmekte ve bu nedenle "geni lemi spektrumlu beta-laktamaz GSBL"olarak adlandırılmaktadırlar (31). GSBL'ler geni spektrumlu sefalosporinler ve monobaktamları hidrolize ederek etkisiz hale getirirler. Buna kar ılık sefamisinleri (örn. Sefoksitin) parçalayamazlar ve klavulanik asit gibi beta-laktamaz inhibitörleri ile inhide edilebilirler (33, 34)

GSBL'ler Gram negatif bakteriler arasında öncelikle *Enterobacteriaceae* ailesinin üyeleri tarafından üretilir, ancak di er Gram negatif bakterilerde de GSBL'ye rastlanılmaktadır (33–35). *Enterobacteriaceae* ailesi içinde de GSBL üretimi açısından baskın olan *E. coli* ve *K. pneumoniae* iken *K. oxytoca* da bunlara eklenmi tir (33, 35).

Beta-laktamaz üretiminden sorumlu genler kromozomlar, transpozonlar ve plazmidlerde yerle ik olabilir; ancak plazmidlerde yerle ik genetik bilgi en büyük tehdidi olu turmaktadır. Zira plazmidlerin direnç genlerini konjugasyonla mikroorganizmalar arasında kolayca aktarmaları, bu genlerin birçok farklı türe hızla yayılabilece i anlamına gelir. Böylece beta -laktamazlara ba lı direncin patojen su lar arasında yayılımı kolayla ır (34, 36). Nitekim edinilmi GSBL varlı ını gösteren ilk klinik izolat 1968 yılında Almanya'da ortaya çıkmı tır (33). Bunun yanı sıra di er birçok nedenden dolayı da GSBL'ler ciddi bir klinik problem olarak kar ımıza çıkmaktadır. Bu nedenlerin ba ında GSBL'lerin geni substrat özgüllü üne sahip olmaları gelmektedir. Daha öncede belirtildi i gibi tüm penisilinler, sefamisinler di indaki tüm sefalosporinler ve monobaktamlar etkisiz hale

getirilebilmektedir. Bir di er sorun ise, GSBL üreten mikroorganizmaların sıklıkla *in vitro* olarak bazı GSBL substratlarına duyarlı gözükme leridir (34, 37). Ayrıca bir di er önemli nokta *in vitro* testlerde GSBL'lerin klavulanik asit gibi beta laktamaz inhibitörleri ile inhibe edilebilmelerine rağmen, tedavide beta-laktam/beta-laktamaz inhibitör kombinasyonunun etkisinin, enfekte eden bakteri miktarı, ilacın dozu ve var olan GSBL'nin tipine özgül olarak farklılık gösterebilece i dir (36). Bunun yanı sıra GSBL üreten izolatlar, genellikle aminoglikozidler, florokinolonlar ve ko-trimoksazolü de içeren di er tip antibiyotiklere de dirençlidirler. Çünkü GSBL'yi kodlayan genlerle birlikte örne in aminoglikozid modifiye edici enzimler (AMEs) sıklıkla aynı birle ik plazmide yerle irler ve böylece bir su tan di erine birle ikte geçi gösterirler. Bunun anlamı; farklı yapıdaki iki ilaca kar ı, sadece birinin kullanılmasıyla direnç olu abilece i dir (34, 36, 38, 39).

3. 6. BETA-LAKTAMAZLARIN SINIFLANDIRILMASI

1940 yılında Abraham ve Chain'in bildirdikleri penisilinaz ile birle ikte beta laktamazların ilk sınıflandırması yapılmı tır. Bundan sonra yapılan ve kabul gören ilk sınıflandırma, Sawai ve ark.'larının yaptı ı sınıflandırma olmu tur. Sawai 1968 yılında enzimleri penisilinaz ve sefa losporinaz olarak ayırmı , ayrıca anti-serum ile reaksiyonu buna eklemi tir. Richmond ve Sykes ise 1973 yılında yaptıkları sınıflandırmada o güne de in bilinen tüm Gram negatif bakteri beta-laktamazlarını substrat profillerine göre 5 grupta topladı tır. Daha sonra Mathew özgül beta-laktamazların izoelektrik noktalarına göre tanımlanaca ını gösterdikten sonra 1976'da bu ema Sykes ve Mathew tarafından tekrar düzenlenmi tir (40). 1989'da Bush tarafından

önerilen grupta tüm bakterilerin beta-laktamazları yer almı ve ilk kez substrat ve inhibitör özellikleri moleküler yapı ile ilişkilendirilmiştir (41).

Moleküler yapı ile ilgili sınıflandırma ilk kez 1980 yılında Ambler tarafından yapılmı , grup C sefalosporinazlar 1981 yılında Jaurin ve Grundstrom tarafından tanımlanmıştır (42). Oksasilini hidrolize eden grup D enzimler ise 1980'lerin sonunda diğer serin enzimlerinden ayrılmıştır (43). Bugüne değin, daha çok biyokimyasal ve genetik temele dayanan çeşitli parametreler beta-laktamazların tiplendirilmesi için kullanılmıştır. Bunlar içinde en önemli kriterlerden biri substrat profilleri olmuştur. Bundan başka inhibisyon profilleri ve fiziksel özellikleri de sınıflama için kullanılmaktadır. Substrat profili, beta laktamazların sınıflandırılması ve tanımlanması için kullanılan birinci parametredir ve enzimin çeşitli beta-laktam antibiyotikleri hidroliz etme aktivitesini göstermektedir (41).

Ambler, beta-laktamazları aminoasit ve nükleotid dizilerine (moleküler yapısı), Richmond-Sykes izoelektrik noktalarına, Bush ise biyokimyasal özelliklerine (substrat profilleri) göre sınıflandırmıştır. Yukarıda değinildiği gibi moleküler yapıya göre sınıflandırma ilk kez 1980 yılında Ambler tarafından grup A ve grup B olarak yapılmıştır. O tarihten beri dört moleküler sınıf ayrılmıştır.

Grup A: Aktif bölgesinde "serin" aminoasiti taşırlar ve moleküler ağırlığı yaklaşık olarak 29.000 dalton civarındadır. Öncelikli olarak penisilinleri hidrolize ederler. Gram olumsuz bakterilerde çok sık rastlanan TEM –1 tipi enzimler bu grubun en iyi örnekleridir (29,44).

Grup B: Aktivasyon için çinko veya bakır gibi divalent katyonlara gereksinim duyan metallo-enzimlerdir. Klasik inhibitörlere dirençli olan bu enzimler,

EDTA ve merkapto bileşikleri gibi metal elatörleri ile inhibe olurlar. Son 10 yılda plazmidlerle aktarılabılır hale geldikleri saptanmıştır. İnsan sağlığı açısından ciddi bir tehdit olarak ortaya çıkmıştır. Karbapenemler beta-laktam olmak üzere hemen hemen tüm beta-laktam antibiyotiklerini hidrolize edebilme potansiyelleri vardır. Ülkemizde henüz çok az sayıda tanınmasına rağmen, izole edilen suşuların hemen hemen tüm beta-laktam antibiyotiklerini hidrolize edebilme potansiyelleri vardır (45).

Grup C: Esas olarak sefalosporinaz aktivitesi gösteren ve yaklaşık olarak moleküler ağırlığı 39.000 dalton olan büyük protein molekülleridir. Aktif bölgelerinde serin bulunur (29, 44).

Grup D: Oksasilini hidrolize eden enzimlerdir. Jacoby sınıflandırması ile 1995 yılında Bush'un yaptığı listeye eklenmiştir (29, 44).

Beta laktamazların en yeni sınıflandırması 1995 yılında yapılan Bush-Medeiros Jacoby sınıflandırmasıdır (46). Bu sınıflandırma 1989 yılında Karen Bush'un yaptığı sınıflandırmanın bir uyarlamasıdır ve aynen Bush'un sınıflandırmasında olduğu gibi enzimler dört ana gruba toplanmıştır.

Beta-laktamaz enzimlerinin kısaca sınıflandırılması ve kararlaştırılması Tablo 2 ve 3'de gösterilmiştir.

Tablo 2. Beta- laktamazların kar ıla tırmalı olarak sınıflandırılması

Bush, Jacoby, Medeiros	Sykes ve Richmond	Ambler'in Moleküler Sınıflaması	nhibe Olan Antibiyotik	nhibitör		Temsilci Enzimler
				Klav.	EDTA	
1	la, lb, ld	C	SS	-	-	Gram (-) bakterilerin kromozomal ve plazmid kökenli AmpC enzimleri (MIR-1,BIL-1, MOX-1. vb.)
2a		A	Pen	+	-	Gram (+) bakterilerin penisilinazları (NSP-1 (P), <i>S. aureus</i> (P)..vb.)
2b	III	A	Pen, SS	+	-	TEM-1SHV-1..vb
2be	IV	A	Pen, SS Mbact	+	-	TEM-3..29, TEM-42..43.60., 61 (P), SHV-2.K-1..
2br		A	Pen	+	-	TEM-30..41..59
2c	II, V	A	Pen Crb	+	-	PSE-1, PSE-3, PSE-4 ROB-1, OHIO-1, LXA-1..
2d	V	D	Pen Cloks	+	-	OXA-1-21, PSE-2 -
2e	lc	A	SS	+	-	<i>P. vulgaris</i> 'in indüklenebilir sefalosporinazı
2f		A	Pen SS Car	+	-	<i>E. cloaca</i> 'nın NMC-A ve <i>Serratia</i> 'nın Sme-1 enzimi
3		B	CAR ve tüm B-lac	-	+	<i>S. maltophilia</i> 'nın L1ve <i>B. fragilis</i> 'in Cer-A enzimi
4		?	Pen	-	?	<i>B. cepacia</i> 'nın penisilinazları

Ambler'in moleküler sınıflandırılması günümüzde daha çok kullanılmaktadır. Tablo 3' de gösterilmiştir.

Tablo 3. Amblerin beta-laktamaz sınıflandırması

Ambler'in genetik sınıflaması	Grup	Enzim Tipi	Hidroliz-spektrum Özellikleri	Organizma	Yerleşim
A	2b	Dar spektrumlu beta-laktamazlar TEM-1, TEM-2, SHV-1	Amino ve karboksipenisilinler. Klavulanat duyarlı	<i>Enterobacteriaceae</i> , <i>P.aeruginosa</i>	Plazmid ve kromozomal aracılı
A	2be	Geni spektrumlu beta-laktamazlar TEM-3...TEM-29, 42, 43, 47, 48, 49, 50, 52, 60, 61, SHV-2..., 12.	Geni spektrumlu beta-laktamazlar Klavulanat duyarlı	<i>Enterobacteriaceae</i> , <i>K.pneumoniae</i> , <i>P.aeruginosa</i> .	Plazmid aracılı
A	2br	İnhibitör dirençli beta-laktamazlar: TEM-30..., 41, 44, 45, 51, 59.	Aminopenisilinler ve karboksipenisilinler. Klavulanat dirençli	<i>Enterobacteriaceae</i> <i>E. coli</i>	Plazmid aracılı
A	-	İnhibitör dirençli ve geni spektrumlu beta-laktamazlar: SHV-10, isimlendirilmemiş TEM serisi (TEM-33 ve TEM-15).	Geni spektrumlu beta-laktamazlar Klavulanat dirençli	<i>E. coli</i>	Plazmid aracılı
A	-	Karbapenamazlar: NmcA, Sme-1, IMI-1.	Karbapenemler, aztreonam. Klavulanik aside duyarlı	<i>Enterobacteriaceae</i> , <i>Serratia marcescens</i>	Kromozomal
B	3	Karbapenamazlar: IMP-1.	Geni spektrumlu beta-laktamazlar Klavulanat dirençli	<i>Enterobacteriaceae</i> , <i>P.aeruginosa</i>	Plazmid ve kromozomal aracılı
D	2d	OXA-11...21	Penisilinler, kloksasilin Klavulanat dirençli	<i>Enterobacteriaceae</i> , <i>P.aeruginosa</i>	Plazmid aracılı
C	1	Plazmid aracılı sefalosporinazlar: MIR-1, MOX-1, CMY-1...5, LAT-1, BIL-1, FOX-1, ACT-1.	Sefamisinler, oksiminosefalosporinler ve aztreonam. Klavulanat dirençli	<i>Enterobacteriaceae</i> , <i>K.pneumoniae</i>	Plazmid aracılı

3. 7. GEN LEM SPEKTRUMLU BETA LAKTAMAZLAR (GSBL)

Enterobacteriaceae'da en sık karılaılan plazmid kaynaklı beta-laktamazlar 1. kuak sefalosporinlere karşı zayıf aktivite gösteren TEM-1, TEM-2 ve SHV-1 enzimleridir. Bu enzimler 3. kuak sefalosporinlerden hiçbirini, aztreonam ve karbapenemleri parçalayamaz. Ancak 1980'lerin ortalarından sonra yaygınlaşmaya başlayan mutant enzimler 3. kuak sefalosporinleri ve aztreonamı da etkisiz hale getirmeye başlamıştır. Bu mutant enzimlerde sefotaksim, seftazidim ve diğer geni spektrumlu sefalosporinlere ve aztreonama de i ik derecelerde direnç vardır. Fakat sefamisinlere ve karbapenemlere 1988 yılına kadar direnç bildirilmemiştir. Bu enzimler çok geni bir substrat profiline sahip olduğundan 1989 yılında Jacoby ve ark.'ları Geni lemi spektrumlu beta-laktamaz (GSBL) olarak isimlendirmişlerdir (4, 47)

GSBL ilk olarak 1983 yılında Almanya'da, 1987 yılında Fransa'da ve 1991 yılında bütün dünyada bildirilmeye başlandı. Halen çok sayıda ve çeşitli GSBL enzimi ve bunların üretimini düzenleyen mekanizmalar mevcuttur ve GSBL bütün dünyada hızlı bir şekilde artmaktadır. Bu nedenle GSBL üreten suşlarla oluşan enfeksiyonların tedavisi için beta-laktam seçiminde çok dikkatli olunmalıdır (44).

Bulduğundan günümüze kadar GSBL'lerin sayısında ve çeşidinde hızlı bir artış dikkati çekmiştir. Bu enzimler enterik çomaklarla sınırlı kalmayarak *Pseudomonas* ve *Acinetobacter* gibi non-fermantatif etkenlere de yayılmışlardır (48). Bunun yanında, sadece bu tip bakteriler tarafından üretilen özel GSBL'ler bildirilmemiştir (49). Ülkemizde 1992 yılından beri GSBL'ler araştırılmakta ve bildirilmektedir (50, 51)

GSBL enzimlerinin yayılımı hakkında birçok epidemiyolojik çalışma vardır. İngiltere, İspanya, Portekiz, Yunanistan, ABD, Kuzey Afrika, Güney Amerika, Japonya ve Çin başta olmak üzere hemen hemen tüm uzak doğu ülkelerinde tespit edilmiştir (4). Predominant tipler çoğunlukla olarak dekolonizasyon göstermektedir. Mesela; SHV-2 ve SHV-5 Almanya'da, SHV-3, SHV-4 ve TEM-3 Fransa'da ve SHV-5 ise Yunanistan'da daha yaygın enzimlerdir (52). Türkiye de dahil olarak uluslararası en yaygın tip SHV-2'dir (4).

GSBL enzimlerinin, başta *K. pneumoniae* olmak üzere kökeni, *Enterobacteriaceae* ailesidir (29, 53). Özellikle hastane kökenli *K. pneumoniae* enfeksiyonlarında GSBL ciddi bir sorun olarak karşımıza çıkmaktadır (54, 55).

GSBL enzimlerinin *Klebsiella* türlerinde yaygın olmalarının nedenlerinden biri bu organizmaların deri ve yüzeyle temas eden enterik bakterilere göre daha uzun süre canlı kalabilmeleridir. Ancak plazmid aracılığıyla geçişleri de direncin yayılmasında etkilidir (2, 52).

Bazı yazarlar tarafından GSBL enzimleri 6 ana başlık altında incelenmiştir (48). Bunlar;

1. TEM ve SHV kökenli olanlar
2. TEM ve SHV kökenli olmayanlar
3. inhibitör dirençli beta-laktamazlar
4. inhibitör dirençli ve geniş spektrumlu beta-laktamazlar
5. Karbapenemazlar
6. Plazmid aracılı sefalosporinazlar (sefamisinazlar)

3. 7. 1. TEM ve SHV kökenli GSBL'ler:

GSBL enzimlerinin tasnifi açısından bugün en çok kabul gören görüş, aminoasit dizilimlerine göre bu enzimlerin sınıflandırılmasıdır. Promoter sekansında olabilecek değişiklikler de yeni GSBL türlerinin oluşumu açısından yeterli değildir. Sinyal sekansında olabilecek değişiklikler ise enzimin protein yapısını belirlemekle birlikte, epidemiyolojik açıdan tanımlanması için iyi bir belirteçdir. Enzimde olabilecek herhangi bir aminoasit değişikliği fonksiyonel değeri yok e yola açmasa dahi yeni bir varyasyon olarak değerlendirilir (56)

GSBL enzimleri esas olarak TEM ve SHV türü enzimlerden 1–4 aminoasit değişikliği ile oluşurlar. Tüm bakterilerde yaygın, plazmid aracılığı ile sentezlenen beta-laktamaz olan TEM–1'in yapısında bir aminoasit değişikliğine neden olan mutasyon sonucu TEM–2, bu enzimin yapısında iki aminoasit değişikliği ile de TEM–3 ortaya çıkar. TEM–1 ve TEM–2 etki spektrumu açısından benzer (penisilin ve türevlerine karşı aktif) birer penisilinaz iken, TEM–3 üçüncü kuşak sefalosporinleri de parçalayabilen bir GSBL'dir. TEM–1 ve TEM–2 de, başka bir aminoasit ile değiştirildiğinde enzim substrat spesifitesinde azalmaya yol açan ve GSBL oluşumuna neden olan 7 aminoasit bulunmaktadır (39, 104, 164, 237, 238, 240, 265. pozisyonlar) (57). Bugün için aminoasit dizilimi tanımlanmış TEM kökenli 66 ve SHV kökenli 12 çeşit GSBL mevcuttur (58). Bu enzimler en sık olarak *K. pneumoniae* suşlarında ortaya çıkarlar (GSBL üreten suşların %80') (59). Plazmidlerin aktarılabiliş olmasından dolayı GSBL bütün dünyada hızlı bir şekilde artmaktadır.

TEM ve SHV kökenli GSBL'lerin tümü klavulanat, sulbaktam ve tazobaktam gibi beta-laktamaz inhibitörlerine duyarlıdır. Bu üç inhibitörden en etkili olanı klavulanatdır. Sulbaktamın etkisi sınırlıdır ve bu enzimin SHV türevlerine karşı çok etkili olmadığı bilinmektedir (42). Bu grubun en önemli özelliği yayılımının kolay olmasıdır ve hastane enfeksiyonlarında önemli bir problemdir.

3. 7. 2. TEM ve SHV kökenli olmayan GSBL'ler:

Bu enzimler plazmid kaynaklı olup klavulanata dirençlidirler. Moleküler sınıflamada A grubuna dahildirler. Bu enzimler MEN-1, MEN-2, CTX-M1, CTX-M2, PER-1, PER-2, VEB-1 ve TOHO-1'dir (24). İlk defa 1992 yılında Fransa'da Bernard ve ark.'ları (60) tarafından onkoloji servisinde yatan bir hastadan izole edilen *E. coli* ve *K. pneumoniae* suşlarında bulunmuş ve MEN-1 olarak adlandırılmıştır. Bu enzim *K. oxytoca*'nın kromozomal kökenli enzimi ile %72 ve TEM deriveleri ile %38 oranında benzerlik göstermektedir. Buna ilave olarak, Arjantin'de MEN-1 rapor edilmiş ve CTX-M1 olarak adlandırılmıştır. 1992 yılında da Almanya'da CTX-M2 rapor edilmiştir. CTX-M2, MEN-1 ile %84'lük bir aminoasit benzerliğine sahiptir (61). PER-1 enzimi ise Fransa'da Türkiye'den Paris'e yeni dönen bir hastada izole edilen *P. aeruginosa*'da bildirilmiştir (49). PER-1 diğer *Enterobacteriaceae*'lar gibi Türk *Salmonella typhimurium* suşlarından izole edilmiştir ve genleri dört farklı plazmidde lokalize olmuştur (62, 63). Bu enzim TEM türevi beta-laktamazlarla %35'lik aminoasit benzerliğini göstermektedir. Daha sonra Almanya'da *E.coli*, *K.pneumoniae*, *Proteus mirabilis* ve *S. typhimurium* suşlarından PER-2 rapor edilmiş olup PER-1 ile %86'lık bir aminoasit benzerliğini göstermektedir (64). 1994 yılında Japonya'da ise TOHO-1 izole

edilmi tir ve bu enzim de TEM türevleri ile sadece %60'lık bir aminoasit benzerli i göstermektedir (65).

TEM ve SHV kökenli olmayan GSBL'leri dört grupta incelemek mümkündür (66).

- a. MEN-1 (CTX-M1) ve CTX-M2
- b. PER-1 ve PER-2
- c. TOHO-1
- d. VEB-1

PER-1 haricindeki di er enzimler hakkında bilgiler kısıtlıdır ve bu sebeple belirgin epidemiyolojik de erlendirmeler yoktur.

D grubunda bulunan plazmid kontrolündeki beta -laktamazlar birçok bakteride bulunmaktadır. Ancak enterik bakteriler ve *Pseudomonas*'larda az görülürler (52). Bu enzimler, OXA-1'den OXA-21'e kadar isimlendirilmi lerdir (67-69). Bunlar içinde en sık gözlenen OXA-1, *E. coli*'lerin %1-10'nunda bildirilmektedir. OXA enzimleri isimlerini oksasilin ve kloksasiline olan etkilerinden almı lardır. Bush sınıflamasına göre 2d'de yer almaktadırlar (46). Karbenisilin ve dar spektrumlu sefalosporinlere dirençli, ancak sefamisinler, karbapenemler, aminotiazolil sefalosporinler (sefotaksim, seftriakson, seftizoksım, seftazidim, sefpirom, sefepim) ve monobaktamlara duyarlıdırlar. OXA-10 enzimi OXA-1'e göre daha geni bir aktiviteye sahiptir. Çok miktarda sentezlenirse sefotaksim, seftriakson ve aztreonamı yava olarak hidrolize etmekte, bunlara kar ı dü ük düzeyde direnç olu turmaktadır. Seftazidim, karbapenem ve sefamisinlere etk ileri yoktur (52).

Bu enzimler, klavulanat ve sulbaktam gibi beta -laktamaz inhibitörlerine dirençli olmaları ve plazmid kontrolünde olmaları nedeniyle çok önemlidirler.

3. 7. 3. nhibitör Dirençli Beta -Laktamazlar (IRBLs):

Beta-laktamaz inhibitörlü kombinasyonlara farklı mekanizmalar ile direnç geli ebilmektedir. Bu mekanizmalar;

- a) TEM enzimlerinin a ırı sentezlenmesi
- b) nhibitörlere dirençli B, C veya D sınıfı enzim içeri i
- c) Klasik beta-laktamazlarla birlikte porin eksikli i olanlar

Son yıllarda bunlara ek olarak TEM enzimlerinin inhibitörlere dirençli mutantları tanımlanmı tır (56). Ayrıca TEM kaynaklı olmayan SHV –10 enzimi de inhibitör dirençli ve geni spektrumlu bir beta -laktamazdır. Bu inhibitör dirençli TEM beta-laktamazlar (IRBLs) daha önce inhibitör direnç TEM derivelere (IRT) olarak bilinirdi (IRT 1–10: TEM 30–39). Bunlar dar spektrumlu beta-laktamazlar olan TEM–1 ve TEM–2'den türemi lerdir (56). Bush sınıflamasında 2br grubunda yer alan bu enzimler GSBL enzim aktivitesini veren enzimlerden farklı bir iki aminoasit de i ikli ine sahiptir. IRBL klavulanat, sulbaktam ve tazobaktam gibi beta -laktamaz inhibitörlerine hassas de ildir. Ancak GSBL enzim aktivitesi de içermemektedir (46). Günümüze kadar 26 IRT enzimi bildirilmis tir. IRT enzimleri ba ta *E. coli* olmak üzere *K. pneumoniae*, *Citrobacter freundii* ve di er *Enterobacteriaceae* üyelerinde bulunmaktadır (70)

3. 7. 4. nhibitör Dirençli ve Geni Spektrumlu Beta -Laktamazlar:

Bu enzimler *E. coli*'de tanımlanmı plazmid kökenli inhibitör dirençli geni spektrumlu beta-laktamazlardır. 1997 yılında Fransa'da *E. coli* su undan, TEM–15 ve TEM–33 beta-laktamazlarına denk gelen mutasyonlu bir TEM–1 beta-laktamaz kompleks mutanı tanımlanmı tır (71). Bu beta -laktamazlar, dü ük düzeyde beta -laktamaz inhibitörlerine ve yüksek düzeyde

de geni spektrumlu sefalosporinlere direnç gösterir. Yine 1997 yılında Yunanistan'da inhibitör direnç gösteren SHV türevi bir su tarif edilmiştir (72).

3. 7. 5. Karbapenemazlar:

Karbapenem grubu ajanlara da etkili beta-laktamazlar genetik ve biyokimyasal olarak birbirinden farklı, çoğu yalnız karbapenemlere değil beta-laktam ajanlara da etkili enzimlerdir (73). Bu nedenle sadece karbapenem grubu beta-laktam ajanlara afinitesi diğer beta-laktamlara kıyasla daha fazla olan metalloenzimler 'karbapenemaz' olarak adlandırılmaktadır.

Metallobeta-laktamazlar, Bush sınıflamasında fonksiyonel grup 3 içerisinde yer alan ve şimdiye kadar gördüğümüz enzimlerden farklı olarak aktif bölgelerinde bir Zn^{+2} iyonu bulunan enzimlerdir (74). Dolayısıyla bu enzimler klavulanat, tazobaktam, sulbaktam gibi klasik beta-laktamaz inhibitörlerinden etkilenmezken EDTA gibi bir metal elatörü ile inaktive olurlar. Bu enzimlerin en önemli özelliği monobaktamlar hariç tüm beta-laktamları ve bu arada karbapenemleri de hidrolize edebilmeleridir. Önceleri bu grupta sadece kromozomal enzimlerin varlığı bilinirken 1991'de Japonya'da *S. marcescens* ve *P. aeruginosa* suşlarında plazmid kökenli bir metallo-beta-laktamaz (IMP-1) saptanması, karbapenemlerin geleceği konusunda endişe doğurmuştur (75, 76).

3. 7. 6. Plazmid Aracılı Sefalosporinazlar (Sefamisinazlar):

GSBL'lerle birlikte plazmid aracılı sefalosporinazların ortaya çıkması 1980'li yılların sonuna rastlar. Bunlar kromozomal (AmpC) olarak yerleşmiş sefalosporinazlarla bağlantılıdır. Bu grubun ilk enzimi olan MIR-1, *K. pneumoniae*'dan izole edilmiştir (77). Bu enzimlerin ortak özelliklerinin başında klavulanat, sulbaktam veya tazobaktam ile inhibe olmamaları

gelmektedir. Tüm sefalosporinler, monobaktamlar ve sefamisin'ler bu enzimler tarafından etkin bir şekilde hidrolize edilmektedir (3).

ABD' de 20 de i ik hastanede 1995 yılında yapılan bir çalı mada, AmpC tipi plazmid kaynaklı enzimlerin görölme sıklı ının, TEM tipi GSBL'lerden çok oldu u gösterilmi tir (66). Bu enzimler sefamisinle re daha fazla direnç olu turmaları ve seftazidim direncinin klavulanat ile giderilememesi ile geni spektrumlu beta -laktamazlardan ayırt edilmektedirler (52).

3. 8. GEN LEM SPEKTRUMLU BETA-LAKTAMAZ ARA TIRMA YÖNTEMLER :

Günümüzde, günlük laboratuvar uygulamaları esnasında geni lemi spektrumlu beta-laktamazların tanınması için kullanılan bazı yöntemler geli tirilmi tir. Bununla birlikte GSBL su larının saptanmasında bazı sorunlarla kar ıla ılmaktadır.

Öncelikle soyutlanan su ların GSBL enzimini dü ük seviyede üretmesi nedeniyle *in vitro* deneylerde antibiyotik duyarlılı ı gözlenmesine ra men klinik kullanımda ba arısızlık izlenebilir (44). GSBL üreten su ların ço u seftazidim ve aztreonama kar ı belirgin direnç gösterirken, sefotaksim'e kar ı o derece dirençli olmayabilmektedir. Dolayısıyla, 3. ku ak sefalosporinlerin duyarlılı ının saptanmasında sefotaksim tek ba ına kullanıldı ında, bazen test edilen su 3. ku ak sefalosporinlere kar ı duyarlı olarak gözlenebilir. Bu ise hem klinik kullanımda yanılgılara, hem de GSBL'nin atlanmasına neden olacaktır. Soyutlanan su ların antibiyotik duyarlılık deneyleri esnasında inokulum etkisi ile yalancı dirençlilik veya yalancı duyarlılık gibi tablolara rastlanılabilmektedir. GSBL saptanması için yapılacak i lemlerde beli rtülen

standartlara uyulmaması sonucu sorunlar olabilir. Örne in; seftazidim, sefotaksim ve aztreonam disklerinin klavulanata olan uzaklı ı ortalama 25 mm olarak önerilmektedir (NCCLS) (20–30 mm arası). Bu de erler dikkat edilmeden yapılacak i lemler sonuc u yalancı pozitif veya yalancı negatiflikler artacaktır (78).

Bazı GSBL tipleri klavulanat sinerjizmi göstermeyebilir. GSBL tanımında sinerjizmin gözlenmesine a ırı güvenmemek gereklidir (52). GSBL üreticisi olabilen su lar, AmpC gibi GSBL olmadı ı halde sefalosporin direnci sa layan enzimler üretebilmektedir. Böylesi bir durumda, bu su ların sefamisin direncinin veya duyarlılı ının saptanması; ayrıca, beta -laktam ajanlar arasında, Livermore tarafından belirtildi i ekilde, antagonist zon daralmasının görülmesi enzimlerin ayırımında faydalı olacaktır (52).

Günümüzde GSBL gösterilmesinde kullanılan bazı yöntemler unlardır;

3. 8. 1. Çift Disk Sinerji Testi:

Bu yöntemde, GSBL varlı ı ara tırılan izolattan McFarland 0,5 standardı yo unlu unda olacak ekilde hazırlanan bakteri süspansiyonu Mueller Hinton agar pla ına yayılır. Pla ın ortasına bir amoksisilin -klavulanik asit diski (AMC; 20/10 mg) ile etrafına disk merkezleri arasındaki uzaklık 30 mm olacak ekilde seftazidim (CAZ), seftriakson -sefotaksim (CRO-CTX), aztreonam (AZT) veya sefpodoksim (POD) diskleri yerle tirilir. 18 –20 saat 35°C'de inkübasyondan sonra sefalosporin veya AZT etrafındaki inhibisyon zonunun AMC diskine do ru geni lemesi veya arada bakterinin üremedi i bir sinerji alanının bulunması GSBL varlı ını gösterir (79, 80).

3. 8. 2. Üç Boyutlu Test;

Bu testte de disk difüzyon yöntemi esas alınır, disk difüzyon testinden teknik olarak farkı ek olarak petri kutusunun merkezine yakın tarafta ve antibiyotik disklerinin 3 mm uza ndan besiyerinin dai resel ekilde kesilmesidir.

Bu yöntemin esası kesilen yarı a ekilen su un GSBL üretip üretmedi inin saptanmasıdır. E er yarı a ekilen su GSBL üretiyorsa antibiyotiklere ait inhibisyon zonunda yarı k hizasında bozulma ya da kesilme görülecektir.

Yöntemde sefriakson, sefotaksim, seftazidim ve aztreonam diskleri kullanılır. Besi yeri 37°C'de 18–20 saat inkübasyona bırakılır ve sonuç çıplak gözle de erlendirilir (79–81).

3. 8. 3. Kombine Disk Metodu:

Bu metod, sefalosporin ve sefalosporin-klavulanat içeren disklerin zon çaplarının kar ıla tırılması ile yapılır. GSBL varlı ında klavulanik asit içeren kombinasyonun zon çapı daha geni olacaktır. NCCLS, sefotaksim - sefotaksim/klavulanat (30+10 mg CTX -CTX/L) ve seftazidim– seftazidim/klavulanat (30+10 mg CAZ -CAZ/L) disklerinin kullanılmasını önermektedir (78). Bu tip diskler ticari olarak mevcuttur (Oxoid 'kombine disk' / ngiltere ve MAST DD). Zali ve ark (82) NCCLS için Mast DD diskleri ile çalı malar yapmı ve bu diskler ile GSBL varlı ını %93 gibi bir oranda tespit edebilmi tir. Sadece CAZ ve CTX çiftlerinin tek ba larına kullanılması ile tespit oranı %86 ve 66 da kalmı tır (82). Di er kombine disk sistemi olan Oxoid ise sefpodoxim-sefpodoxim/klavulanat içermektedir (10–10+1 mg). Bu disklerin kullanımında inhibitör eklenmi taraftaki zon çapının inhibitörsüz

olan taraftaki çaptan >5 mm fazla olması GSBL tanısı koymak için yeterlidir. Bu yöntem NCCLS ile metodolojisine göre do rulanđ ında GSBL üreten *Klebsiella*lar için yakla ık %100 duyarlılık ve özgülü e sahiptir. Bu metod ile ayrıca GSBL üretenlerle AmpC veya K1 enzimi üreten *Klebsiella*lar da ayrılabilir. AmpC veya K1 enzimi üretenler klavulanat eklenmi tarafta herhangi bir geni lemeye veya çok az bir açılıma neden olurlar (52).

3. 8. 4. E-Test:

Bir ucunda seftazidim (CAZ) [veya sefotaksim (CTX)] di er ucunda seftazidim-klavulanat (CAZ-L) [veya sefotaksim-klavulanat (CTX-L)] gradienti bulunan E-Test stripleri ile yapılır. (AB Biodisk Solna/ sveç ve Cambridge Diagnostic Service/ ngiltere). Test edilecek su plak üzerine yayıldıktan sonra strip yerle tirilir. Bir gecelik 35⁰C inkübasyondan sonra CAZ/CAZ-L (veya CTX/CTX-L) oranına bakılır. Oran 8 ve üzeri ise GSBL üretimi var demektir. Yine CTX-M tip GSBL üretiminin oldu u durumlarda CTX-CTX/L stripleri kullanılması daha uygundur (52, 78, 82).

3. 8. 5. Mikrodilüsyon Testi:

Pratik olarak uygulanan GSBL saptama testlerinden de ildir. Bu durumda sefotaksim ve seftazidim minimum inhibitör konsantrasyon (M K) de erleri, hem tek ba larına hem de klavulanik asit (4 µgr/mL) varlı ında saptanır. Klavulanik asit varlı ında M K de erlerinde 3 log 2 (8 kat) azalma GSBL göstergesi olarak kabul edilir (83).

3. 8. 6. Otomatize Sistemlerle GSBL Tanımlanması (VITEC GSBL Kartları Bio Mérieux/Fransa):

Seftazidim ve ya sefotaksim tek ba ına ve klavulanik asit ile birlikte kombinasyonu yöntemine dayanan GSBL testidir. Klavulanat içeren

kuyucuklar, tek başına ilaç içeren kuyucuklarla karıştırıldı. İnda önceden tahmin edilen üremedeki azalma miktarı GSBL varlığını göstermektedir (84).

3. 8. 7. Moleküler Tayin Yöntemleri:

Yukarıda tarif edilen testler sadece GSBL varlığını ortaya koymaktadır. Klinik izolatta hangi özgül GSBL tipinin olduğunu aydınlatılması ise çok daha karmaşıktır. GSBL çalmalarının ilk dönemlerinde izoelektrik noktanın tayini, genellikle GSBL varlığının gösterilmesi için yeterliydi. Sayıları gittikçe artan TEM tipi beta-laktamazların benzer izoelektrik noktalara sahip olmaları nedeniyle GSBL'nin izoelektrik noktayla tayini artık mümkün değildir. Aynı durum GSBL'lerin SHV, CTX-M ve OXA aileleri için de geçerlidir (85).

Bir enzim ailesine ait beta-laktamazların varlığını tayin etmek için kullanılan en kolay ve en yaygın moleküler yöntem beta-laktamaz genine özgül oligonükleotid primerlerinin kullanılması 'polimeraz zincir reaksiyonu (PCR)' dir. Bununla birlikte PCR, TEM veya SHV'nin farklı varyantlarını ayırt edemez(85).

TEM tipi beta laktamazların alt tiplerinin saptanmasında kullanılan bir yöntem; PCR'a "restriction fragment length polymorphism" (RFLP) analizinin eklenmesidir. Bu testte amplifiye edilmiş PCR ürünleri restriksiyon endonükleazları ile sindirime tabi tutulur ve arta kalan fragmanlar elektroforez ile ayrılır (85).

SHV türevlerinin tayini ve tanımlanması için ise farklı birkaç test geliştirilmiştir. Bunların içinde en basiti yine polimeraz zincir reaksiyonu - restriction fragment length polymorphism (PCR-RFLP) dir (85).

3. 9. PCR VE BETA LAKTAMAZLARIN PCR İLE BELİRLENMESİNİN ÖNEMİ :

Kary Mullis'in bulduğu olan ve kendisine Nobel ödülü kazandıran PCR nükleik asitlerin *in vitro* olarak çoğaltılmasını sağlayan bir yöntemdir. Aslında deoksiribonükleik asit (DNA) çoğaltma yöntemi de denebilir çünkü ribonükleik asit (RNA) çoğaltılmak istendiğinde önce revers transkriptaz kullanılarak DNA kopyası çıkarılır ve PCR ile bu DNA molekülü çoğaltılır (86).

Hücre içinde gerçekleşen doğal DNA replikasyonu, PCR ile tüp içerisinde taklit edilir. DNA'nın yüksek ısıya dayanıklı bir molekül olması sayesinde, hücre içerisinde DNA replikasyonunu sağlayan enzimlerin görevini burada ısı gibi fiziksel etmenler sağlar. Örneğin replikasyonun başlayabilmesi için gerekli olan iki DNA zincirinin birbirinden ayrılması ortamın 94°C'a ısıtılması ve böylece iki zincir arasındaki hidrojen bağlarının kırılması ile sağlanır. Yine hücre içinde replikasyonun başlamasını primaz denen enzim sağlarken PCR'da replikasyonun başlayacağı bölgeye özgül olarak bağlanan primerler tepkime karışımına önceden konur (86).

PCR ile DNA'nın çoğaltılması için tepkime karışımında şu maddeler bulunmalıdır:

1. Çoğaltılacak olan kalıp DNA
2. Bu DNA'dan çoğaltılması planlanan bölgenin iki ucundaki DNA dizisine özgül olarak tanıyıp bağlanacak olan primer
3. Primerlere bağlanıp 3' ucundan nükleotidleri ekleyerek sentez yapacak olan Taq DNA polimeraz
4. Sentezde kullanılacak olan deoksi nükleotid trifosfatlar (dNTP),

5. Polimerazın çalı ması için gerekli tampon görevi yapacak maddeler
6. Tuzlar (genellikle tris ve KCl)
7. Enzimin çalı ması için önemli bir kofaktör olan Mg⁺⁺ iyonları (86).

PCR üç de i ik sıcaklıkta çalı an basama kların bir döngü halinde tekrarlanması ile gerçekleşir. İlk basamak 94 °C'de iki DNA zincirinin birbirinden ayrılması denatürasyon basama ıdır. İkinci basamak sıcaklı ın dü ürülmesi ile (50-70°C) primerlerin ço altılarak bölgelerin uçlarında kendine özgül dizileri tanıyıp ba lanması (annealing), üçüncü basamak ise DNA polimerazın çalı tı ı optimum sıcaklı a karı ımın getirilmesi ve kalıp DNA'ya uygun nükleotidlerin 3' ucundan itibaren eklenerek primerlerin uzamasıdır (extension). Bu üç basamak bir döngüyü ol u turur ve her tekrarlanı ta iki primer arasında kalan özgül DNA parçasının her iki zincirinin birer kopyası çıkarılmı olur (86).

Ço altılan DNA parçaları birçok de i ik yöntemle belirlenebilir. Bunlardan en yaygın olanı agaroz jel elektroforezdir. Elde e dilen ürünler elektroforezde ayrı tırılır ve DNA bantları etidyum bromidle boyanarak görünür hale getirilir. Elektroforez esnasında DNA molekül a ırlı ı standardı kullanılır ve PCR ürünlerinin büyüklü ü önceden bilinen DNA molekülleri ile kar ıla tırılarak belirlenir (86).

PCR teknikleri birçok laboratuvar tarafından klinik örneklerden spesifik bakteri, virüs ara tırılmasında ve kısıtlı çalı malarda direkt beyin omurilik sıvısı ve balgamdan bakteriyel direnç genlerinin ara tırılmasında kullanılmaktadır (87).

Genotipik yaklaşımla antibiyotik direncini DNA seviyesinde belirlemek önemli bir alternatif sunar. Bu yöntemle ciddi enfeksiyonlarda duyarlı, özgül ve hızlı bir şekilde klinisyene bilgi sağlanır. PCR direnç mekanizmalarının ortaya çıkarılmasının yanı sıra direnç genlerinin epidemiyolojisi için de kullanılır (88).

Moleküler yöntemler, enzimlerin tanımlanmasında rutin laboratuvarlar için uygun yöntemler olmamakla birlikte epidemiyolojik araştırma maksadıyla yaygın olarak uygulanmaktadır. Klinik izolatlarda özgül GSBL'yi gösteren moleküler yöntemler daha komplikedir. GSBL çalışmaları erken dönemlerde izoelektrik noktanın belirlenmesi genellikle GSBL testinde yeterliydi. Bununla birlikte izoelektrik noktası hemen hemen aynı olan doksanın üzerinde TEM tipi beta-laktamaz bulunmasıyla izoelektrik nokta tarafından GSBL belirlenmesi uzun dönem mümkün olmadı. Beta -laktamaz tiplendirmesinde sık olarak uygulanan izoelektrik odaklama yöntemi sadece enzim ailesini göstermekte, enzimin kesin olarak tanımlanması ise diziy analizi ile mümkün olmaktadır (9,10).

Önceleri beta-laktamaz genlerinin tespitinde SHV ve TEM enzimleri için spesifik olan DNA probları kullanılmaktaydı. Beta -laktamaz genleri için spesifik olan oligonükleotid primerlerinin gösterildiği PCR yöntemi beta-laktamaz belirlenmesinde kullanılan en yaygın ve en kolay moleküler yöntemdir. Bu primerler genellikle meydana gelen nedeni bilinmeyen çeşitli nokta mutasyonları ile oluşur. Bununla birlikte PCR; TEM ve SHV'nin çeşitleri içindeki farklılıkları ayıramaz. Zincirler olmaksızın GSBL'nin belirlenmesi ve tiplendirilmesini amaçlayan başka moleküler metotlarda önerilmektedir (9, 10).

Moleküler yöntemlerin dikkatli bir epidemiyolojik ara tırma ile birlikte kullanılması ço unlukla problem olan mikroorganizmalar ın kayna ını bulmamıza ve gerekli önlemlerin alınmasıyla bu mikroorganizmanın hastane içinde yayılımının önlenmesine ve epidemilerinin ara tırılmasına yardımcı olacaktır (9, 10).

4. GEREÇ VE YÖNTEM

Fırat Üniversitesi Fırat Tıp Merkezi'nde yatan hastalardan Enfeksiyon Hastalıkları Laboratuvarı'na 14 Ekim 2006 - 14 Ekim 2007 tarihleri arasında gönderilen kültür örneklerinden (idrar, kan, yara vb.) izole edilen ve GSBL oldu u çift disk sinerji testi (ÇDST) ile gösterilen 50 adet *E. coli* ve 50 adet *Klebsiella* spp. su u çalı maya alındı.

4. 1. Klinik zolatların dentifikasyonu:

Kültürü yapılmak üzere laboratuara gönderilen çe itli klinik örnekler %5 koyun kanlı ve eosin methylene blue (EMB) agar besiyerlerine e kildi. Ekimler aerobik ko ullarda 37°C'de 24 saatlik inkübasyona bırakıldı. EMB'de üreyen mikroorganizmalar laktozu kullanma özelliklerine göre de erlendirildi. Laktoz kullanımı pozitif olan kolonilerin Gram boyama ile Gram negatif oldu u gösterildi. Bu kolonilerden daha sonraki i lemlerde kullanılmak üzere kanlı agar besiyerine pasaj alındı. 5–6 saat 37°C'de tekrar inkübe edildi. Üreyen mikroorganizmalarda oksidaz deneyi yapıldı. Oksidaz negatif koloniler için ileri tanımlama i lemlerine geçildi. Hareket b esiyerine, glukozdan asit ve gaz olu turma, sukroz ve laktoza etki ve H₂S olu turma özelliklerini incelemek için üç ekerli demirli besiyerine (TS), indol, metil kırmızısı ve Voges Proskauer, sitrat tüketimi ve üreye etkilerini ara tırmak için ilgili besiyerlerine ekimler yapıldı. 24 saatlik inkübasyondan sonra de erlendirildi. *E. coli*, *K. pneumonia* ve *K. oxytoca* oldu u gösterilen su lar çalı maya alındı (12).

4. 2. Antibiyotik Duyarlılık Durumunun Belirlenmesi:

Tanımlanan su ların antibiyotik duyarlılıkları Committee for Clinical Laboratory Standarts (CLSI) kriterlerine göre Kirby Bauer disk difüzyon

yöntemi ile ticari antibiyotik diskleri (Oxoid Basingstoke, Hampshire, İngiltere) kullanılarak yapılmı tır.

Bu amaçla; *E. coli* ve *Klebsiella* spp. olarak tanımlanan su lar 5 ml'lik buyyonlara ekildikten sonra 35°C'de 18-24 saat inkübe edildi. Taze bakteri kültürlerinden steril fizyolojik tuzlu su içerisinde 0.5 McFarland bulanıklı ında süspansiyonları hazırlandı. Bu bakteri süspansiyonuna steril pamuklu eküvyon batırıldı ve eküvyon tüpün kenarına bastırılarak fazla inokulum uzakla tırıldı. Bakteri emdirilmi eküvyon, 120 mm çapındaki plaklara 4 mm kalınlı ında dökülmü Mueller Hinton agar besiyeri yüzeyine pla ı tamamen kaplayacak ekilde sürüldü. Plaktaki nemin kaybolması için 5-6 dakika bekletildikten sonra antibiyotik diskleri Kirby-Bauer disk difüzyon yöntemine uygun ekilde steril pens ile besiyeri yüzeyine yerle tirildi. Tüm plaklar 35 °C de 18 saat inkübe edildi. nkübasyon sonrası plaktaki inhibisyon zon ç apları cetvel ile ölçüldü. Sonuçlar CLSI'nın önerdi i yorumlama kriterlerine uygun de erlendirildi (90).

Su ların antibiyotik duyarlılı ını belirlemek için; amoksisilin klavulanat (AMC 20/10 mcg), seftriakson (CRO 30 mcg), seftazidim (CAZ 30 mcg), Sefotaksim (CTX 30 mcg), Aztreonam (ATM 30 mcg), Sefoksitin (FOX 30 mcg), mipenem (PM 10 mcg), Meropenem (MEM 10 mcg), sefoperazon -sulfaktam (CES 75/30 mcg), piperasilin-tazobaktam (TZP 100/10 mcg), amikasin (AN 30 mcg), siprofloksasin (CIP 5 mcg), Ko-trimaksazol (SXT 23,75/1,25 mcg) diskleri kullanıldı.

4. 3. Geni lemi Spektrumlu Beta Laktamaz Ara tırılması:

Bu amaçla çift disk sinerji testi (ÇDST) kullanıldı. Bakteri süspansiyonları 0,5 McFarland bulanıklı ında hazırlanarak Mueller Hinton

agar üzerine yayıldı. Pla ın ortasına amoksisilin -klavunat diski (AMC 20/10 mcg), çevreye ise merkezden merkeze uzaklığı 30 mm olacak şekilde seftazidim (CAZ 30 mcg), sefotaksim (CTX 30 mcg), seftriakson (CRO 30 mcg), aztreonam (ATM 30 mcg) diskleri yerleştirildi. 35 °C'de 18–20 saatlik inkübasyondan sonra çevredeki disklerden herhangi birinin inhibisyon zonunun AMC diskine doğru belirgin şekilde genişlemesi olumlu sonuç olarak değerlendirildi. Inhibisyon zonunun çok dar veya geniş olduğu durumlarda, diskler arası mesafe 20 mm ve 40 mm olarak ayarlanıp test tekrar edildi (80, 91–93).

4. 4. Su ların Saklanması:

GSBL olduğu gösterilen su lar mikrobanklara (Pro-lab Diagnostics/Richmond Hill, Canada) pasaj alındı ve genotipik direnç paternleri çalışılincaya kadar -70 °C de muhafaza edildi.

4. 5. Polimeraz Zincir Reaksiyonu;

Genotipik direnç paternleri Selçuk Üniversitesi Meram Tıp Fakültesi Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı'nda PCR yöntemi ile çalışıldı.

4. 5. 1 Kullanılan çözeltiler ve hazırlanması

1. Proteinaz K çözeltisi
2. Buffer AL (lysis buffer)
3. Buffer AW1 (yıkama tamponu 1)

Hazırlanması: İlk kullanımdan önce 19 ml'lik tüplerdeki konsantre Buffer AW1 solüsyonu üzerine son hacmi 44 ml olacak şekilde %96-100'lük etanol (25 ml) eklendi.

4. Buffer AW2 (yıkama tamponu 2)

Hazırlanması: İlk kullanımdan önce 13 ml'lik konsantre Buffer AW2 solüsyonu üzerine son hacmi 43 ml olacak şekilde %96 -100'lük etanol (30 ml) eklendi.

5. Buffer AE solüsyonu (Elution buffer)

6. Buffer ATL solüsyonu (Tissue lysis buffer)

4. 5. 2. DNA izolasyonu (Ekstraksiyon):

Steril ependorflara 180 mikrolitre (μ l) buffer ATL solüsyonu konuldu. Kanlı agarda üretilen taze kültür plağından steril inokülasyon halkasıyla birkaç koloni alındı ve buffer ATL'nin içinde iyice çalkalanarak çözüldü.

Üzerine 20 μ l Proteinaz K çözeltisi konularak vortekslendi ve örnek tamamen parçalanana kadar 56°C bekletildi. Örneğin da ıllmasını kolayla tırmak için 20 dk'da bir vortekslendi. Karışım tamamen homojen hale geldikten sonra ependorfun kenarındaki damlacıkların ağırla ıya inmesi için kısaca santrifüjlendi.

Örneğin üzerine 200 μ L Buffer AL eklendi. 15 saniye vortekslendikten sonra 70°C'de 10 dk bekletildi. Yine damlacıkların ağırla ıya inmesi için kısa süre santrifüjlendi.

Örneğin üzerine 200 μ L etanol (%96–100) eklenip 15 saniye vortekslendi. Tüpün kenarındaki damlacıkları ağırla ıya indirmek için kısa süreli santrifüjlendi ve homojen bir solüsyon elde etmek için 5 dk bekletildi.

Bir QIAamp Spin kolonu 2 ml'lik temiz bir toplama tüpünün içine yerleştirildi. Elde edilen karışım QIAamp Spin kolonuna dikkatlice konuldu. Kapağı kapatılıp 8000 rpm'de 1 dakika santrifüjlendi. İçinde sıvı biriken toplama tüpü atıldı. QIAamp Spin kolonu 2 ml'lik temiz bir toplama tüpünün içine yerleştirildi.

Kolonun kapa ı açıldı ve tüpün çeperine de meden 500 µL Buffer AW2 eklendi. Kapa ı kapatılıp 8000 rpm de 1 dk santrifüjlendi. ine sıvı biriken toplama tüpü atıldı. QIAamp Spin kolonu 2 ml'lik temiz bir toplama tüpünün içine yerle tirildi.

Kolonun kapa ı tekrar açıldı ve tüpün çeperine de meden 500 µL Buffer AW2 eklendi. Kapa ı kapatılıp 13.000 rpm' de 3 dakika santrifüjlendi. ine sıvı biriken toplama tüpü atıldı.

QIAamp spin kolonu 1.5 ml'lik temiz bir mikrosantrifüj tüpünün içine yerle tirildi. Kolonun kapa ı tekrar açıldı ve tüpün çeperine de meden 200 µL buffer AE eklendi. Kapa ı kapatılıp oda ısısında 1 dk bekletildikten sonra 8000 rpm de 1 dk santrifüjlendi.

Genomik DNA PCR reaksiyonuna kadar -20°C saklandı.

Çalı mada pozitif kontrol olarak İstanbul Üniversitesi İstanbul Tıp Fakültesi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı'ndan temin edilen TEM ve SHV pozitif su lar kullanıldı. Bu su lardan da DNA izolasyonu yapıldıktan sonra çalı maların tüm a amalarında pozitif kontrol olarak kullanıldı.

4. 5. 3. TEM Tipi Beta-Laktamaz Genleri in Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PCR):

Çalı mada PCR yöntemi ile TEM grubuna özgü primerler kullanılarak su ların sahip oldu u TEM tipi beta-laktamaz enzimi ara tırıldı. TEM geninin saptanmasında TEM-F: 5'-GTGTCGCCCTTATTCCCTTT-3' ve TEM-R: 5'-GCTTAATCAGTGAGGCACCTATCT-3' (ontek-Türkiye) primerler kullanıldı. Toplam hacim 25 µL olacak ekilde amplifikasyon karı ımı hazırlandı. Amplifikasyon tüpünün içeri i, 100 µM 10X amplifikasyon tamponu, 10 mM

dNTP miks, 0.5 µM her bir primer, 5 mM MgCl₂, 2.5 U Taq DNA polimeraz ve 3 µL DNA ekstraksiyon ürünü ile elde edildi.

Amplifikasyon için GeneAmp PCR System 9700 (Applied Biosystems/Kaliforniya, Amerika Birle ik Devletleri) cihazı kullanıldı. Amplifikasyon tüpleri cihaza yerle tirilerek 95°C'de 15 dakika; 95°C'de 45 saniye, 58°C'de 45 saniye, 72°C'de 90 saniye toplam 50 siklus; 72°C'de 5 dakika inkübasyon uygulandı. Ço altma sonrası örnekler agaroz jel elektroforez hazırlanana kadar +4°C de tutuldu.

4. 5. 4. SHV Tipi Beta Laktamaz Genleri için Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PCR):

SHV Tipi beta laktamaz genlerinin varlı nı göstermek için SHV grubuna özgü primerler kullanılarak PCR yapıldı. SHV geninin saptanmasında SHV-F: 5'-CTGAATGAGGCGCTTCCC-3' ve SHV-R: 5'-CCCGCAGATAAATCACCA-3' (ontek-Türkiye) primerler kullanıldı. Toplam volüm 25 µL olacak ekilde amplifikasyon miksi hazırlandı. Amplifikasyon tüpünün içeri inde, 100 µM 10X amplifikasyon tamponu, 10 mM dNTP miks, 0.5 µM her bir primer, 5 mM MgCl₂, 2.5 U Taq DNA polimeraz ve 3 µL DNA ekstraksiyon ürünü ile elde edildi.

Amplifikasyon için GeneAmp PCR System 9700 (Applied Biosystems/Kaliforniya Amerika Birle ik Devletleri) cihazı kullanıldı. Amplifikasyon tüpleri cihaza yerle tirilerek 95°C'de 15 dakika; 95°C'de 45 saniye, 55°C'de 45 saniye, 72°C'de 90 saniye toplam 50 siklus; 72°C'de 5 dakika inkübasyon uygulandı. Ço altma sonrası örnekler agaroz jel elektroforez hazırlanana kadar +4°C de tutuldu

4. 5. 5. Amplifikasyon Ürünlerinin Agaroz Jel Elektroforezde Görüntülenmesi:

Agaroz jelin hazırlanması; 2 gr agar (Sigma, St. Louis, Amerika Birle ik Devletleri) 100 cc 0,5X TBE (Trisbuffer EDTA, Sigma, St. Louis, Amerika Birle ik Devletleri) ile karı tırıldı. Tamamen çözümlmesi için 5 dakika kadar kaynatıldı. Üzerine 1 damla %1'lik Etidyum bromür damlatılarak 10 dakika kadar so umaya bırakıldı.

Elektroforez tankının jel dökme kalıbı yıkanıp kurulandıktan sonra jelin dı arıya akmasını önlemek için kalıbın her iki ucuna birbirine paralel 0.75 mm kalınlı ında iki adet plastik çubuk yerle tirilerek jel havuzu olu turuldu. Kalıbın bir ucuna yakın olacak ekilde kuyucukları olu turmak üzere 15 di li bir tarak yerle tirildi Hazırlanan jel kalıbın üzerine plastik çubuklar arasında kalacak ekilde yakla ık 1 cm kalınlı ında hava kabarcı ı olu turmadan döküldü. Kalıbın içindeki jelin katıla ması için oda sıcaklı ında yakla ık 30 dk bekletildi. Katıla an jel kalıbı taraklar çıkartıldıktan sonra kuyucuklar negatif kutupta olacak ekilde dikkatlice elektroforez tankının içine yerle tirildi. Tankın içi jelin üzeri tamamen kapanıncaya kadar 0.5X TBE ile dolduruldu. Ço altılmı DNA örneklerinin her birinden 2 µL alınıp parafin üzerinde 0.3 µL Loading dye solüsyonu ile karı tırıldı. Karı m daha sonra agaroz jel kuyucuklarına yerle tirildi. Son kuyucuklara bir pozitif bir de negatif kontrol konuldu. Sonra tankın kapa ı kapatıldı, pozitif ve negatif elektrotları yerle tirildi ve 150 voltta 20 dakika yürütüldü. Olu an bantlar DNA moleküler a ırlık standardı GeneRuler 100bp DNA Ladder (#SMO241, Ferment es) ile kar ıla tırılarak de erlendirildi.

5. BULGULAR

Fırat Üniversitesi Fırat Tıp Merkezi'nde yatarak takip ve tedavi edilen hastalardan Enfeksiyon Hastalıkları Laboratuvarı'na rutin olarak gönderilen kültür örneklerinden izole edilen ve çift disk sinerji testi (ÇDST) ile GSBL oldu u gösterilen 50 adet *E. coli*, 37 adet *K.pneumoniae* ve 13 adet *K. oxytoca* olmak üzere toplam 100 adet su çalı maya alındı.

5. 1. Örneklerin izolasyon Yerleri:

Çalı maya alınan su ların büyük ço unlu u (%75) idrar örneklerinden elde edildi. kinci sırada cerrahi yara örnekleri mevcuttu (%8).

Çalı ılan örneklerin izolasyon yerlerine göre dağılımı Tablo 4'de gösterilmi tir.

Tablo 4. Örneklerin izolasyon yerlerine göre dağılımı .

BAKTERLER								
ÖRNEK	E. coli		K. pneumoniae		K.oxytoca		Toplam	
	Sayı	%	Sayı	%	Sayı	%	Sayı	%
İdrar	40	80	24	65	11	84.7	75	75
Kan	5	10	2	5.4	0	0	7	7
ETA	1	2	6	16.2	0	0	7	7
Cer. yara	3	6	3	8	2	15.3	8	8
Diğer	1	2	2	5.4	0	0	3	3
TOPLAM	50	100	37	100	13	100	100	100

Açıklama: ETA: endotrakeal aspirat, Cer. yara: cerrahi yara, Diğer; periton mayı, vajinal akıntı, damar içi kateterler vb.

5. 2. Antibiyotik Duyarlılık Durumu:

Çalı maya alınan *E.coli* ve *Klebsiella* spp. su larında karbepenemlere karşı direnç saptanmadı.

Beta-laktamaz inhibitörü içeren kombine antibiyotiklerden sefaperazon-sulbaktam (CES)'a karşı duyarlılığın hem *E. coli* de hem de *K. pneumoniae* ve *K. oxytoca*'da daha iyi olduğu saptandı. Bu oranlar sırası ile %84, %54 ve %54 idi.

Beta-laktam antibiyotiklerindeki diğer grup antibiyotiklere karşı tırdığında GSBL pozitif sularda en duyarlı antibiyotik olarak amikasin olduğu saptandı. *E. coli* için amikasin duyarlılığı %94, *K. oxytoca* için %92, *K. pneumoniae* için %86 olarak bulundu.

En az duyarlı *E. coli* için siprofloksasin (%12) bulunurken *K. pneumoniae* ve *K. oxytoca* için SXT (sırası ile %11 ve %54) olduğu saptandı.

Çalı maya alınan suların antibiyotiklere karşı duyarlılıkları Tablo 5'de sunulmuştur.

Tablo 5: Mikroorganizmaların antibiyotik duyarlılıkları. (Not: Her sütundaki yüzdeler kendi sayıları ile oranlanarak elde edilmiştir)

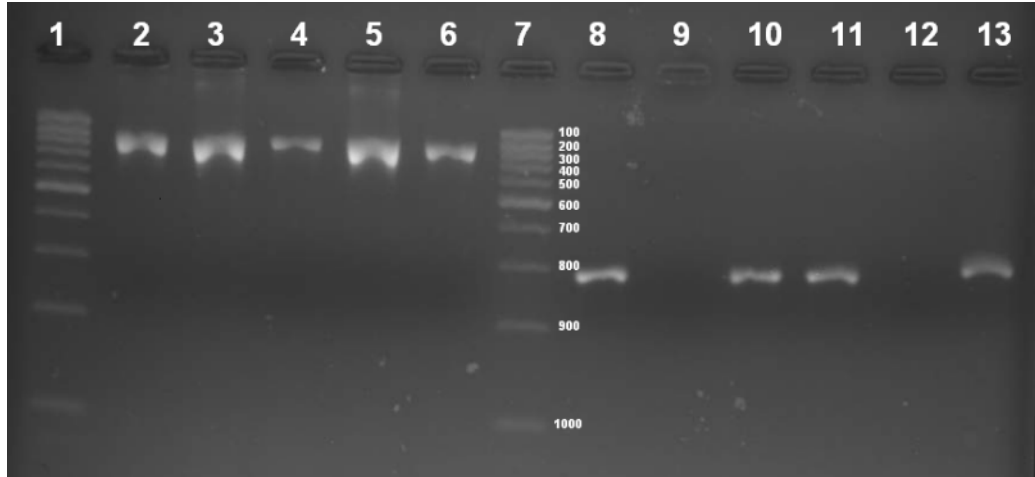
ÖRNEK								
Antibiyotikler	E. coli		K. pneumoniae		K.oxytoca		Toplam	
	Sayı	%	Sayı	%	Sayı	%	Sayı	%
PM	50	100	37	100	13	100	100	100
MEM	50	100	37	100	13	100	100	100
AN	47	94	32	86	12	92	91	91
CES	40	80	20	54	7	54	67	67
FOX	38	76	20	54	10	77	68	68
TZP	33	66	16	43	6	46	55	55
SXT	22	44	4	11	7	54	33	33
AMC	7	14	5	14	2	15	14	14
ATM	7	14	8	22	2	15	17	17
C P	6	12	19	51	10	77	35	35

Açıklama: MEM: Meropenem, PM: mipenem, TZP: Piperasilin tazobaktam CES: Sefaperazon sulbaktam AMC: Amoksisilin klavulanat, SXT: Ko-trimoksazol, C P: Siprofloksasin AN: Amikasin, ATM: Aztreonam FOX: Sefoksitin

5. 3. Enzim Tipleri:

Elektroforez sonrası ayrılan bantlar UV ışık kaynağı altında video kamera ile görüntülendi. Oluşan bantlar DNA moleküler ağırlık standardı GeneRuler 100bp DNA Ladder (#SMO241, Ferment as Ontario, Kanada) ile karşılaştırılarak değerlendirildi. TEM için beklenen bantlar 836 baz çifti (bp)

ve SHV için beklenen bantlar 291 bp uzunlu undaydı. Jelde bu baz çiftlerine denk gelen bantlar o gen için pozitif olarak kabul edildi (ekil 2).



ekil 2: Elektroforezde TEM ve SHV bantlarının gösterilmesi .

1. bant SHV için, 7. bant TEM için DNA moleküler a ırlık standardını göstermektedir (GeneRuler 100bp DNA Ladder, #SMO241, Fermentas Ontario, Kanada). 2, 3 ve 5. bantlar SHV (291 bp) pozitif örneklere, 4 ve 6. bantlar SHV negatif örneklere ait bantlardır. 8, 10, 11, 13. bantlar ise TEM (836 bp) pozitif örneklere ait iken 9 ve 12. kuyucuklar TEM negatif örneklerdir.

Çalı maya dahil edilen GSBL pozitif 50 *E. coli* su undan %76'sında (38 su ta) TEM pozitif bulunurken %24'ünde (12) TEM negatifti. ETA, cerrahi yara enfeksiyonu ve kandan izole edilen tüm örnekler (toplam 9 örnek) TEM (+) idi. Örneklere göre TEM pozitif ve negatif su ların da ılımı tablo 6'da gösterilmi tir.

Tablo 6. *E. Coli*'de izole edildi i yerlere göre enzim tiplerinin da ılımı.

ÖRNEK	ENZ M T P					
	TEM(+)		TEM(-)		TOPLAM	
	Sayı	%	Sayı	%	Sayı	%
drar	28	70	12	10	40	80
ETA	1	100	0	0	1	2
Cer. Yara	3	100	0	0	3	6
Kan	5	100	0	0	5	10
Di er	1	100	0	0	1	2
TOPLAM	38	76	12	24	50	100

Çalı ma grubuna alınan 50 *Klebsiella* spp. su u içinde 43'ünde (%86) SHV pozitif bulunurken 7'sinde (%14) SHV negatif olarak saptandı. SH V pozitif su ların da 33'ü (%76.7) *K. pneumoniae*, 10'u (%23.3) *K. oxytoca* idi. drar ve ETA'dan izole edilen *Klebsiella* spp. su larında SHV pozitifli inin daha yüksek oranda oldu u (s ırası ile %91.7 ve %100) saptandı.

zole edildikleri örneklere göre *K. pneumoniae* ve *K. oxytoca* su larında enzim tiplerinin da ılımı tablo 7'de gösterilmi tir.

Tablo 7. *K. pneumoniae* ve *K. oxytoca* su larında izole edildikleri yerlere göre enzim tiplerinin dağılımı.

M KROORGAN ZMALAR							
ÖRNEKLER	ENZ M T P	<i>K. pneumoniae</i>		<i>K. oxytoca</i>		TOPLAM	
		Sayı	%	Sayı	%	Sayı	%
drar	SHV(-)	2	8.3	2	18.2	4	11.4
	SHV(+)	22	91.7	8	81.8	31	86.6
ETA	SHV(-)	-	-	-	-	-	-
	SHV(+)	6	100	-	-	6	100
Cer. Yara	SHV(-)	1	33.3	1	50	2	40
	SHV(+)	2	66.7	1	50	3	60
Kan	SHV(-)	1	33.3	-	-	1	33.3
	SHV(+)	2	66.7	-	-	2	66.7
Di er	SHV(-)	-	-	-	-	-	-
	SHV(+)	1	100	-	-	1	100
TOPLAM	SHV(-)	4	10.8	3	22.1	7	14
	SHV(+)	33	89.1	10	76.9	43	86

6. TARTI MA

Hastaneler giri msel tanı ve tedavi yöntemlerinin giderek artan sıklıkla uygulandı ı ve antibiyotiklerin yo un olarak kullanıldı ı dolayısıyla da dirençli bakterilerin ortaya çıkması ve yayılması için uygun ortamlardır. Antibiyotiklerin, direnç olu umuna do rudan bir etkileri olmayıp, duyarlı bakterileri ortadan kaldırarak dirençli olanların seleksiyonunu sa lamalarının yanı sıra, ortamda antibiyotik oldu unda bakte riler arasında direnç geni aktarımının daha fazla oldu u da bilinmektedir (94).

Hastane enfeksiyonlarından izole edilen etkenlerin antibiyotiklere direnç oranları hastane dı ından izole edilenlere göre daha yüksektir. Türkiye'den dokuz merkezin katıldı ı bir çalı mada hastane enfeksiyonlarından en fazla izole edilen Gram negatif bakterilerin *Pseudomonas* spp., *Klebsiella* spp. ve *E. coli* oldu u gösterilmi (95).

Gram negatif bakterilerde beta-laktamlara direnç geli mesinde en önemli mekanizma beta-laktamaz olu turmalarıdır. Beta-laktamazlar; penisilinler, sefalosporinler ve benzeri beta-laktam halkası içeren antibiyotikleri hidrolize eden ve bu antibiyotiklere kar ı direnç geli imine neden olan enzimlerdir (31, 32). Bu enzimler, penisilinler ve 1. ku ak sefalosporinleri etkin bir biçimde parçaladıkları halde, sefotaksim, seftazidim ve aztreoman gibi geni lemi spektrumlu beta-laktam ajanlara kısıtlı etki gösterirler.

1980'li yıllardan ba layarak geni lemi spektrumlu beta-laktam ajanların klinik tedavide yaygın kullanımları sonucunda bu ana enzimleri kodlayan genlerdeki nokta mutasyonlarına ba lı olarak yeni enzimler geli mi tir. Bu enzimler geni lemi spektrumlu beta-laktam ajanları inaktive

edebildikleri için “geni lemi spektrumlu beta-laktamazlar (GSBL)” olarak adlandırılmı lardır.

İlk GSBL enzimi 1983 yılında Almanya’da bir *K. pneumoniae* su unda tanımlanmı tır (2). Bu tarihten sonra birçok ülkeden GSBL enzimlerini bildiren çalı malar sıralanmı ve GSBL enzimleri yakla ık 10 yıllık bir süre içinde tüm dünya için ciddi bir sa lık sorunu haline gelmi tir. Ülkemizde dahil olmak üzere tüm dünyada görülme sıklıklarındaki bu hızlı artı , GSBL enzimleri ile ilgili ba lıca kaygılardan biridir. Kromozomal kaynaklı GSBL üretimi bildirilmekle birlikte üretimin genellikle plazmid kaynaklı olması bakteriler arasındaki hızlı yayılımın en önemli nedenidir (2, 4). GSBL üreten su ların ço u hastane kökenli olup toplum kökenli su larda bu enzimlerin üretimi daha az görülmektedir. Özellikle hastane ortamlarında GSBL üreten b akteri kolonizasyonları görülmekte ve nozokomiyal salgınlara neden olmaktadır. 1998 yılında hastane kökenli su larda yapılmı çok merkezli bir çalı mada, merkezlere göre de i mekle birlikte *K. pneumoniae* su larının %33-74’ünün, *E. coli* su larının ise %0-27’sinin GSBL üretti i gösterilmi tir (52). *Klebsiella* su larında bu enzimlerin daha yaygın olmalarının nedenlerinden biri, bu mikroorganizmaların deri ve yüzeylerde di er enterik bakterilere göre daha uzun süre canlı kalabilmeleridir. Ancak plazmidlerin geç i i de direncin yayılmasında etkilidir (2, 52, 96)

Geni lemi spektrumlu beta-laktamazlar ba ta seftazidim olmak üzere tüm 3. ku ak sefalosporinlere ve aztreonama kar ı direnç geli mesine neden olurlar. Ayrıca bu enzimleri ta ıyan bakteriler piperasilin ve mezlosilin gibi geni spektrumlu penisilinlere kar ı da direnç gösterirler. Bu bakterilerde karbapenem türevlerine kar ı nadiren direnç gösterilmesine kar ın, genellikle

duyarlı kabul edilirler (53). Yapılan birçok istatistiksel çalı mada, GSBL pozitif su larının beta-laktam olmayan antibiyotik direncinin GSBL üretmeyen su lara göre anlamlı derecede yüksek oldu u bulunmu tur (97). Karbapenemler, GSBL üreten bakterilere kar ı kullanılabilecek en etkili antibiyotik olma özelliklerini hala devam ettirmektedir (98-100). Ancak hayatı tehdit edici enfeksiyonlar dı ında her GSBL pozitif mikroorganizmanın neden oldu u enfeksiyonda karbapenemler kullanılmamalıdır. Son yıllarda, GSBL enzimlerinin hastanelerde a ırı yaygınlaşması sonucu klinisyenler gerek ampirik gerekse proflaktik amaçla ba lanan antibiyotik tedavilerinde karbapenemleri daha çok tercih etmektedirler. Bu ise, gereksiz ve yo un karbapenem kullanımını beraberinde getirmi , imipenem veya meropenem dirençli bakteri su larının neden oldu u ciddi hastane kö kenli enfeksiyonların geli mesine neden olmu tur (98, 101). Lepper ve ark. (102) imipenem tüketiminin *P. aeruginosa*'daki beta-laktam direnci ile korelasyon gösterdi ini saptamı lardır.

Gültekin ve ark.'ları (103) 1995–1997 yılları arası hastane enfeksiyonu etkeni olarak izole ettikleri, GSBL pozitif *E. coli*'de %7, *K. pneumoniae*'de %4 oranında imipenem direnci saptamı larken, Günseren ve ark.'ları (51) 1996'da GSBL pozitif *E. coli* ve *K. pneumoniae*'de %8 oranında imipenem direnci saptamı lardır.

Mumcuolu ve ark.'ları (104) 2001–2003 yılları arsında izole ettikleri GSBL pozitif *E. coli*, *Klebsiella* spp. ve *Proteus* spp. su larında imipenem direnci saptamamı lardır.

Yurt dı ında yapılmı bir çalı mada ise GSBL pozitif *E. coli* ve *K. pneumoniae*'de %8 oranında imipenem ve meropenem direnci saptamı tır

(105). Aynı yazarlar bir ba ka ara tırmada bu direncin %14'e yükseldi ini belirtmi lerdir (106). Dandekar ve ark.'larının (107) 2004 yılında yayınlanan çalı malarında ise 392 GSBL pozitif *E. coli* ve *Klebsiella* spp. izolatlarında meropenem duyarlılı ı %100 olarak bildirilmi tir.

Yine ubat 2003-Mart 2004 yılları arasında Kolombiya hastanelerinde yapılan bir ara tırmada GSBL pozitif su larda karbapenem direnci saptanmamı tır (108).

Çalı mamızda da hastane enfeksiyon u etkeni olarak izole edilen GSBL pozitif 50 *E.coli* ve 50 *Klebsielle* spp. su larında karbapenemlere kar ı direnç saptanmadı. Bu sonuç Mumcuo lu, Dandekar ve ark.'larının yaptı ı çalı malarla uyumlu bulunmu tur.

Beta-laktamaz kökenli direncin önüne geçmek için yakla ımlardan birisi de beta-laktamaza dayanıklı olmayan bir antibiyotikle bir beta -laktamaz inhibitörünü kombine etmektir. Bunun için bazı antibiyotikler klavulanik asit, sulbaktam ve tazobaktam ile kombine edilmi tir (amoksisilin -klavulanat, sefoperazon-sulbaktam, tikarsilin-klavulanat ve piperasilin-tazobaktam gibi). nhhibitörler beta-laktamızı dönü ümsüz olarak inaktive ettiklerinden birlikte oldu u antibiyoti in hidrolize olmasını önleyebilmektedirler. Böylece antibiyoti e dirençli olan pek çok su bu kombinasyonlara duyarlı hale gelmektedir. TEM tipi enzimler için sefaperazon -sulbaktam en iyi kombinasyondur (3).

Gültekin ve ark.'ları (103) GSBL üreten *E. coli* ve *K. pneumoniae* su larında piperasilin-tazobaktam (TZP) duyarlılı nı %70 ve %62, Uraz ve ark.'ları (109) %94.7 ve %61.8 oranında bildirmi lerken, Günseren ve ark.

(51) GSBL üreten *E. coli* ve *K. pneumoniae* su larında %12.5 gibi oldukça düşük bir oranda bildirilmiştir.

Asya-Pasifik Sürveyans Programı (SENTRY) (1998–1999) çalışmaları sonucuna göre GSBL üreten su ların TZP duyarlılığının ülkelere göre farklılıklar gösterdiği ve *E. coli*'de %50–100 arasında, *K. pneumoniae*'da ise %50–96 arasında değişen düzeylerde olduğu saptanmıştır (110).

Babini ve ark.'larının (111) yaptığı çalışmada da GSBL üreten *Klebsiella*'ların piperasilin/tazobaktam'a direncinin yıllara göre giderek arttığı saptanmıştır (1994'de %30, 1997-8'de %63).

GSBL üreten *Enterobacteriaceae* üyelerinde sefaperazon-sulbaktam (CES) duyarlılığı Özbilge ve ark.'larının (112) yaptığı çalışmada %91, Lim ve ark. (113) yaptığı çalışmada %90 gibi yüksek oranlarda bulunulmuştur.

Çalışmamızda da GSBL pozitif *E. coli*, *K. pneumoniae* ve *K. oxytoca* su larında sefaperazon-sulbaktam duyarlılığı sırasıyla %80, %54 ve %54 iken piperasilin-tazobaktam duyarlılığı %66, %43 ve %46 olarak saptanmıştır. Bu sonuçlar karşılaştırıldığında CES duyarlılığının incelenen literatürler ile uyumlu şekilde daha iyi olduğunu saptanmıştır.

GSBL üretiminden sorumlu plazmidler aminoglikozid, kloramfenikol, tetrasiklin ve sülfonamid direnç genlerini de taşıyabildiklerinden GSBL üreten su lar sıklıkla çoklu dirençlidir. 1995 yılında Gülay ve ark.'larının (114) hastane kökenli *K. pneumoniae* su ları ile yaptıkları çalışmada seftazidim direncine yol açan ve izoelektrik noktası 8.2 olan bir enzimle birlikte beta kanamisin ve trimetoprim olmak üzere amikasin, netilmisin, tobramisin, tetrasiklin direncinin de nakledildiği gösterilmiştir.

Mumcuolu ve ark.'ları (104) yaptıkları çalışmalarında beta-laktam dirençli antibiyotiklerden en etkili antibiyotiklerin amikasin ve siprofloksasin olduğunu bildirmişlerdir.

Kocazeybek (115) amikasin ve siprofloksasinin en etkili antibiyotikler olduğunu bildirirken, Gülay ve ark.'ları (116) gentamisin ve siprofloksasini en etkili antibiyotikler olarak bildirmişlerdir.

Kizirgil ve arkadaşları (117) kan kültürü örneklerinden izole edilen GSBL pozitif enterik basillerde yaptıkları çalışmada beta-laktam dirençli antibiyotiklerde duyarlılığı isepamisin, amikasin ve siprofloksasin için sırası ile %91, %89 ve %64 olarak saptanmıştır.

2000 yılında 8 hastane yoğun bakımından izole edilen gram negatif izolatlar arasında GSBL pozitif 138 *E. coli* suşunda karbapenemlerden sonra en duyarlı antibiyotikler amikasin (%85.5) ve siprofloksasin (%81.2), *Klebsiella* spp. suşlarında siprofloksasin (%70.3) ve amikasin (%53.2) olarak bildirilmiştir (118).

Avrupa ve Amerika'da yapılan çeşitli çalışmalarda GSBL üretimi ve kinolon direnci birlikteliğinin *K. pneumoniae*'larda %40–60 gibi yüksek oranlarda olduğunu bildirilirken (119, 120). Villegas ve ark.'nın (108) yaptıkları çalışmada amikasin direnci *E. coli*'de %27, *K. pneumoniae*'de %48 iken siprofloksasin direnci *E. coli*'de %59, *K. pneumoniae*'de %12 olarak bulunmuştur.

Dandekar ve ark.(107) ise siprofloksasin duyarlılığını %67, gentamisin duyarlılığını %33 olarak bildirmişlerdir.

Çalı mamızda da beta-laktam dı ı antibiyotikler arasında amikasinin *E. coli*'de %94, *K. pneumoniae*'de %86 ve *K. oxytoca*'da %92 duyarlılı ı saptanarak en duyarlı beta-laktam dı ı antibiyotik oldu u tespit edildi.

Buna kar ın beta-laktam dı ı antibiyotikler arasında en az duyarlı antibiyotik *E. coli* için siprofloksasin (%12) *K. pneumoniae* ve *K. Oxytoca* için trimetoprim-sulfometaksazol (sırası ile %11 ve %54) olarak bulundu. Bu sonuçta özellikle son yıllarda hastanemiz genelinde ampirik tedavide aminoglikozid grubu antibiyotiklerden ziyade florokinolon grubu antibiyotiklerin tercih edilmesi ile açıklanabilir.

Geni lemi spektrumlu beta-laktamazlar, genellikle seftazidim ve/veya sefotaksim minimal inhibitör konsantrasyon de erlerinde orta dereceli bir artı a yol açtıkları için bu enzimlerin rutin laboratuarlarda tanımlanmaları güç olabilmektedir. Bunun sonucunda da antimikrobiyal duyarlılıkları yanlı de erlendirilerek geni lemi spektrumlu bir beta -laktam ile tedavi ba lanabilmekte ve özellikle bakteremi gibi ciddi enfeksiyonlarda fatal olabilen tedavi ba arısızlıkları görülebilmektedir. Dolayısıyla hasta prognozu ve uygun tedavi seçimi için GSBL'lerin özel testler uygulanarak tanımlanması, klinisyenlerin de bu enzimler hakkında bilgi sahibi olması gereklidir.

Enterobacteriaceae'lerde GSBL üretme prevalansındaki artı ve tedavideki problemler, klinik izolatlarda bu enzimlerin varlı ını kesin olarak tayin edecek laboratuvar yöntemlerine büyük oranda ihtiyaç duyulmasına yol açmı tır. 1983 de Knothe ve ark.'ları (121) *K. pneumoniae* ve *Serratia marcescens* klinik izolatlarında geni lemi spektrumlu sefalosporinlere kar ı direncin aktarılabılır oldu unu belirlemi lerdir.

Benzer antibiyotik direnç profili gösteren su lar farklı genotipi k patern gösterebilecekleri gibi, benzer direnç profiline sahip olmayan su lar da genetik olarak aynı olabilirler. Sık görülen veya normal flora üyesi mikroorganizmaların incelenmesinde geleneksel yöntemler yanında, modern moleküler epidemiyolojik tiplendirme yöntemlerine de ihtiyaç vardır (7, 8).

Epidemiyolojik tiplendirme hem fenotipik hem de genotipik yöntemleri içermektedir. Antibiyotik duyarlılık profili, biyotip, serotip, bakteriyofaj duyarlılık profili ve protein yapım analizine dayanan fenotipik yöntemler, bazı epidemilerin tanımlanmasını sağlamakla birlikte, izole edilen mikroorganizmaların birbiriyle kesin ilişkinin araştırılmasında her zaman yeterli olmazlar ve DNA'ya dayalı moleküler genotipik yöntemlere gereksinim duyulur. Fenotipik karakterler çevresel faktörlerden etkilenebilir, genotipik yöntemler ise daha stabildirler. Ayrıca fenotipik testler GSBL'nin bulunmasında sadece olasılık bildiren testlerdir (7, 8).

Son zamanlarda bazı moleküler metodlar GSBL'ların belirlenmesinde ve farklılıklarının saptanmasında yardımcı olmaktadır. GSBL çalışmaları ilk dönemlerinde izoelektrik noktanın tayini, genellikle GSBL varlığının gösterilmesi için yeterliydi. Bununla birlikte sayıları gittikçe artan TEM tipi beta-laktamazların benzer izoelektrik noktalarına sahip olmaları nedeniyle, GSBL'nin izoelektrik noktayla tayini artık mümkün değildir. Aynı durum GSBL'lerin SHV, CTX-M ve OXA aileleri için de geçerlidir (122).

Bu enzim ailesine ait beta-laktamazların varlığını tayin etmek için kullanılan en kolay ve en yaygın yöntem beta-laktamaz genine özgül oligonükleotid primerlerinin kullanılmasıdır. "polimeraz zincir reaksiyonu

(PCR)"dur. Bununla birlikte PCR, TEM veya SHV'nin farklı varyantlarını ayırt edemez (122).

Geni lemi spektrumlu beta-laktamaz enzimlerin en önemli kaynağı plazmid ve transpozonlarla aktarılabilen TEM ve SHV türü beta-laktamazlardır (52). En sık görüleni ise TEM-1'dir. SHV-1 ve TEM-2 daha az oranda görülmektedir (62). Klasik olarak tanımlanan GSBL'lerin büyük çoğunluğu TEM, SHV veya OXA enzimlerden köken almıştır. Günümüzde TEM türü beta-laktamazların sayısı 130'u, SHV türü beta-laktamazların sayısı 50'yi geçmiştir (53,123). Bu grup enzimlerin her ikisinde de geni lemi spektrum fenotipini veren genin içinde birkaç nokta mutasyon olmaktadır.

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 (85). *E. coli*'deki ampisilin direncinin %90'dan fazlası TEM-1 üretimine bağlıdır. TEM-1'den ilk türeyen enzim olan TEM-2, orijinal beta-laktamazdan tek bir aminoasit yerleşimindeki farklılık ile ayrılır. Bu değişiklik izoelektrik noktanın 5.4'den 5.6'ya kaymasına yol açar fakat substrat profilinde bir değişiklik söz konusu değildir. 1989'da bildirilen TEM-3 enzimi GSBL fenotipi gösteren ilk TEM tipi beta-laktamazdır (32, 34, 85)

SHV grubu enzimler *K. pneumoniae*'dan başta *Citrobacter diversus*, *E. coli* ve *P. aeruginosa*'da bildirilmiştir (85). *K. pneumoniae*'da görülen plazmide başlıca ampisilin direncinin %20 kadarından SHV tipi enzimler sorumludur. TEM tipi beta-laktamazların aksine, SHV-1'in nisbeten daha az sayıda türevi vardır. GSBL fenotipine sahip SHV varyantlarının çoğunluğu, 238. pozisyondaki glisin yerine serin girmesi ile karakterizedir (85). Bazı SHV

türlerinin bazı ülkelerde daha yaygın olduğunu bildirilmektedir. Ülkemizde *K. pneumoniae* izolatlarında SHV-5 ve SHV-12 bildirilmiştir, ancak bu enzimlerin sıklığı ile ilgili yeterli veri yoktur (124,125).

Bir bakteri birden fazla plazmid taşıyabilir (126, 127). *E. coli*'de TEM enziminin aşırı üretimine plazmidlerin fazla miktarda kopyalanması, tek plazmidde aynı genin birden fazla kopyalanması ve genin çok etkili bir promoter bölgesinin olması neden olur (128). TEM-1 enzimi günümüzde *E. coli*'lerin % 50-60'ında, enterik bakterilerin %20 ila %50'sinde, *P. aeruginosa*'larda ise nadir bulunmaktadır (46, 52). SHV-1 ve TEM-2 beta laktamazlarını kodlayan plazmidler ise TEM-1'e oranla çok daha az bulunmaktadır (62).

Sohn ve ark.'larının (129) Kore'de 1996 yılında iki üniversite hastanesinde yaptıkları ve 55 *E. coli*, 92 *K. pneumoniae* izolatını içeren çalışmalarında *E. coli* izolatlarının %53'ünde TEM tipi beta-laktamaz saptamışlarken, *K. pneumoniae* izolatlarının %93.5'inde SHV tipi beta-laktamaz saptamışlardır. Bu çalışmada *E. coli*'lerde TEM tipi, *Klebsiella*'larda SHV tipi beta-laktamazların predominant olduğunu gösterilmiştir.

Park ve ark.'larının (130) Kore'de 13 hastaneyi ve 6567 *E. coli*, 2652 *K. pneumoniae* izolatını kapsayan çalışmalarında TEM, SHV veya CTX-M tipi beta laktamazların en yaygın geneli spektrumlu beta-laktamazlar olduğunu saptamıştır.

Ma ve ark.'larının (131) çalışmasında *E. coli*, *K. pneumoniae* ve *E. cloacae*'yi içeren 171 klinik izolatın 53'ünde SHV, 81'inde TEM ve 43'ünde CTX tipi beta-laktamaz enzimi belirlenmiştir, Hosseini-Mazinani ve

ark.'larının (132) alı malarında idrardan izole edilen 76 *E. coli* su unda %60 TEM, %26 SHV ve %24 ampC tipi beta -laktamaz enzimi saptanmı tır.

Cao ve ark.'larının (133) yaptı ı çalı mada GSBL pozitif 32 *E. coli*, 13 *K. pneumoniae* izolatından 27 *E. coli* izolatında TEM, 7 *K. pneumoniae* izolatında SHV tipi beta-laktamaz enzimi pozitif saptanmı tır

Tayvan'da GSBL üreten *K. pneumoniae* prevalansının oldukça yüksek oldu u (%30) ve enzim tipi olarak TEM ve SHV–12 enziminin daha yaygın oldu u bildirilmi tir (134, 135)

Xiong ve ark.'larının (136) in'de yaptıkları çalı mada 54 *E. coli* izolatından 34'ünde TEM tipi beta-laktamaz, 81 *K.pneumoniae* izolatından 6'sında SHV tipi beta-laktamaz pozitif bulunmu ken, TEM+SHV birlikteli inin *E. coli*' de 2 ve *K. pneumoniae*'de 21 izolatta oldu u saptanmı tır.

Kore'de Pai ve ark.'larının (137) yaptı ı çalı mada 14 GSBL pozitif *E. coli* izolatından 10'unda (%71) TEM–52 tipi beta-laktamaz enzimi bulunurken, 12 GSBL pozitif *K. Pneumoniae* izolatının tamamında TEM grubu GSBL saptanmı tır. Di er yandan aynı ekibin 1998 yılında yaptı ı çalı mada *K. Pneumoniae* izolatlarında SHV–2a ve SHV–12 ba ta olmak üzere SHV tipi GSBL'nin en sık görülen enzim tipi oldu u tespit edilmi tir (137).

Liu ve ark.'ları (134) 31 GSBL pozitif *K. pneumoniae* izolatının %71'inde SHV–5 tipi enzim üretimi oldu unu saptamı lardır.

Spanu ve ark.'larının (138) 2002 yılında yaptı ı çalı mada GSBL pozitif 55 *E. coli* izolatında 11 (%20) TEM, 189 *K. pneumoniae* izolatında 104 (%55) ve 25 *K. oxytoca* izolatında 10 (%40) SHV tipi beta-laktamaz enzimi saptanmı tır.

Yine 2006 yılında talya'da yayınlanan ikinci ulusal sü rveyans raporunda GSBL pozitif 188 *E. coli*, 81 *K. pneumoniae*, 18 *K. oxytoca* klinik izolatında TEM sırasıyla %26.6, %0, %11.1 SHV sırasıyla %11.7, %58, %77.8 bildirilmi ken TEM+SHV birlikteli i %6.4, %29.6, %11.1 olarak gözlendi i rapor edilmi tir (139)

Gündes'in (140) 4 hastanede yaptı ı çalı mada seftazidim dirençli 61 *E. coli* ve 43 *K. pneumoniae* izolatında TEM tipi beta-laktamaz sırasıyla %65 ve %47 bulunurken SHV tipi beta-laktamaz %12 ve %40 olarak saptamı tır.

Çalı mamızda GSBL pozitif 50 *E. coli* klinik izolatında 38 (%76) TEM tipi beta-laktamaz enzimi saptanmı ken 50 *Klebsiella* spp. izolatında 43 (%86) SHV tipi beta-laktamaz enzimi saptanmı tır. SHV pozitif *Klebsiella* izolatlarının 10'nu (% 23.3) *K. oxytoca* iken 33'ü (% 76.7) *K. pneumoniae* idi.

Ba langıçta antibiyotik direnç geli iminin bakteri kromozomundaki mutasyonların sonucu olu tu u bunun da oldukça nadir geli en bir durum oldu u dü ünölmekteydi. Ancak, bakterilerde çoklu direnç ilk görölmeye ba landı ında esas sorumlunun plazmidler oldu u ortaya çıkmı tır. Transpozon ve integronların ke fi ile kromozomal mutasyonların rolünün aslında daha sınırlı oldu u vurgulanmı tır. Bununla birlikte, mevcut direnç genlerinde olu abilecek ilave mutasyonların direnç düzeyini artırabilece i veya direnç spektrumunu geni letebilece i de bilinmektedir. Soruna bu perspektiften yakla ıldı ında, GSBL'nin geli imi spektrumun artı ına bir örnek olarak kabul edilebilir.

Günümüzde immünsüpresif hastalar daha uzun süre ya ayabilmektedirler. Ba ı klık sistemini uzun süreli baskılayan organ transplantasyonları artmı , tedavi yakla ımları ise oldukça invaziv karakter

kazanmı tır. Santral kateterler, diyaliz i lemleri, mekanik ventilasyon gibi uygulamalar istemedenden yeni bir hasta popülasyonu olu turmu tur. Bu hasta grubunda; sıkça kar ıla ılan uzamı yo un bakım takibi, uzun süreli antibiyotik uygulamaları, hastaların sıkça hastaneye yatırılı ı GSBL üreten bakteri enfeksiyonlarını arttırmaktadır.

Hastanelerde, hastane dı ı sa lık kurumlarında, huzur evlerinde ve hatta hayvan yemlerinde antibiyotiklerin yaygın olarak kullanılması antibiyotik direnç geli imindeki artı nı ana nedeni olarak kabul edilmektedir. Hastanelerde ise antibiyotik direncinin antimikrobial kullanımı ile paralel seyretti i bilinmektedir. Tedavi dozlarında antibiyotik kullanımının mikr oflorayı etkiledi i, florada bulunan ya da dı arıdan dirençli mikroorganizmaların seçilerek duyarlı bakterilerin yerini aldıkları bilinen gerçeklerdir. Dolayısıyla, bir direnç fenotipi olan GSBL üretimi bu uygulamaların sonucunda giderek öne çıkmaktadır.

GSBL ilk kez 1983 yılında Almanya'da saptanmı ve o günden itibaren pek çok sa lık kurumunda bu tip enzimleri üreten bakterilerin olu turdu u salgınlar ortaya çıkmı tır. Bu durum sadece antibiyoterapiyi karma ık hale getirmemi , aynı zamanda dirençli su ların di er hastalara yayılmasını engelleyecek etkin enfeksiyon kontrol politikalarına olan gereksinimi de ortaya çıkarmı tır. Rutin uygulamalarda GSBL enzimlerini üreten su ların saptanması ya da saptanan direnç düzeyinin ölçülmesi zor olabilmektedir. Artan GSBL direnci; laboratuvar tetkiklerinde, antibiyoterapide ve enfeksiyon kontrolünde yeni açılımlar getirmektedir. Yapılan öncül sürveyans çalı maları, ülkemizde GSBL üretiminin Avrupa ülkeleri arasında en yüksek düzeylere ula tı nı göstermektedir.

Hastanelerde antibiyotik kullanımı ço unlukla ampiriktir. Bazı yo un bakım hastalarında antibiyoterapi, sendroma yönelik olmakla birlikte ço u vakada enfeksiyonun kayna ı tanımlanamamaktadır. Uygunsuz ampirik antibiyoterapi artmı mortalite ile birlikte ve a ırı antibiyotik tüketimi de direnci artırmaktadır. Bu nedenle enfeksiyonlarda akılcı antibiyotik kullanımı olası patojenleri kapsamalı ve aynı zamanda GSBL üreten su ların seleksiyonunu en aza indirgemelidir.

Sorunun profesyonelce kontrol edilebilmesi i için sa lık kurumları kendi kapasitelerinin izin verdi i ölçüde teknik alt yapı olu turmak zorundadırlar. Kolay ve özgün bir yöntem olan çift disk sinerji yönteminden, moleküler uygulamalara kadar de i en bir yelpazesi bulunan laboratuvar uygulamalarını kurumsal tercihler ile yerle tirmelidirler.

Moleküler yöntemler, enzimlerin tanımlanmasında rutin laboratuvarlar için uygun yöntemler olmamakla birlikte fenotipik dirençten daha önemli olan genotipik direncin ortaya konulmasında ve ara tırılmasında yaygın olarak uygulanmaktadır. Dönem dönem hastane ve bölge genelinde bu enzimlerin sıklı ı ara tırılarak klinisyenlerin bu enzimler ve direnç durumu hakkında bilgilendirilmeleri tedaviye yön verme açısından yararlı olacaktır.

Moleküler yöntemlerin dikkatli bir epide miyolojik ara tırma ile birlikte kullanılması ço unlukla problem olan mikroorganizmaların kayna ının saptanmasına, gerekli enfeksiyon kontrol önlemlerinin alınmasına, bu mikroorganizmaların hastane içinde yayılımının önlenmesine ve epidemilerinin ara tırılmasına yardımcı olacaktır.

7. KAYNAKLAR

1. Livermore DM. β -lactamases in laboratory and clinical resistance. Clin Microb Rev 1995; 8:557-584.
2. Philippon A, Arlet G, Lagrange PH. Origin and impact of plasmid mediated extended-spectrum beta-lactamases. Eur J Clin Microbiol Infect Dis 1994; 13 (Suppl. 1): 17-29.
3. Sirot D. Extended-spectrum plasmid-mediated beta-lactamases. J Antimicrob Chemother 1995; 36 (Suppl. A): 19-34.
4. Jacoby GA, Medeiros AA. More extended spectrum beta -lactamases. Antimicrob Agent Chemother 1991; 35:1697-1704.
5. Rahal JJ. Extended spectrum beta-lactamases: how big is the problem. Clin Microbiol Infect 2000; 6 (suppl. 2): 2-6.
6. Thomson KS. Controversies about extended spectrum and AmpC beta -lactamases. Emerg Infect Dis 2001; 7:333-336.
7. Struelens MJ, ESGEM, ESCMID. Consensus guidelines for appropriate use and evaluation of microbial epidemiologic typing systems . Clin Microbiol Infect 1996; 2:2-11.
8. Graser Y, Klare I, Halle R, et al. Epidemiological study of an *Acinetobacter baumannii* outbreak by using polymerase chain reaction fingerprinting. J Clin Microbiol 1993; 31:2417-2420
9. Baron EJ, Peterson LR, Finegold SM. Enterobacteriaceae. Baron EJ, Peterson LR, Finegold SM (editors). Bailey & Scott's Diagnostic Microbiology. Mosby, Baltimore. 1994; 362-387.
10. Bilgehan H. Enterobacteriaceae. Klinik Mikrobiyolojik Tanı. Ankara: Fakülteler Kitabevi, 1992; 387-411
11. Ryan KJ. Enterobacteriaceae. Ryan KJ (Editor). Sherris Medical Microbiology (an Introduction to Infectious Diseases). Montreal: Prentice-Hall International, 1994: 323-329.
12. Bilgehan H. Enterobacteriaceae Familyası. Klinik Mikrobiyoloji , Özel Bakteriyoloji ve Bakteri Enfeksiyonları. Bilgehan H., zmir: 2000; 1-103.

13. Echeverria P, Sethabutr O, Pitarangsi C. Microbiology and diagnosis of infections with *Shigella* and Enteroinvasive *Escherichia coli*. Rev Infect Dis 1991; 13 (Suppl. 4): 220-225.
14. Riley LW. The Epidemiological, clinical and microbiological features of hemorrhagic colitis. Ann Rev Microbiol 1987; 41:383-407.
15. Thielman NM. Enteric *Escherichia coli* infection. Curr Opin Infect Dis 1994; 7:582-591.
16. Vial PA, Browne R, Lior H. Characterization of Enteroadherent Aggregative *Escherichia coli*, a putative agent of diarrheal disease. J Infect Dis. 1998; 58:70-79.
17. Medeiros AA. Beta-lactamases. Br Med Bull 1984; 40:18-27.
18. Sanders CC. Beta-lactamases of gram-negative bacteria: new challenges for new drugs. Clin Infect Dis 1992; 14:1089-1099.
19. Neu HC. Beta-lactamases: a perspective on the contribution of these enzymes to bacterial resistance. Postgraduate Medicine 1984; 7-21.
20. Datta N, Kontomichalou P. Penicillinase synthesis controlled by infectious R-factors in Enterobacteriaceae. Nature 1965; 208:239-41.
21. Kliebe C, Nies BA, Meyer JF, Tolxdorf-Neutzling RM, Wiedemann B. Evolution of plasmid-coded resistance to broad-spectrum cephalosporins. Antimicrob Agent Chemother 1985; 28:302-307.
22. Ewing WH. The genus *Klebsiella* identification of Enterobacteriaceae. Edwards PR, Ewing WH (editors). Identification of Enterobacteriaceae. 4th ed., New York, Amsterdam, Oxford, Elsevier Science Publishing Company Inc. 1986; 365-380
23. Kayaalp SO. Rasyonel Tedavi Yönünden Tıbbi Farmakoloji. VIII. Baskı, Ankara: Hacettepe Ta Kitapçılık 1998: 201-239.
24. Çolak D. Antimikrobial ilaçlar ve Etki Mekanizmaları. Ustacelebi . (editör). Temel ve Klinik Mikrobiyoloji. Ankara: Güne Kitabevi Ltd. ti. 1999: 81-89.

25. Vahapo lu MH. Antibiyotik Direnç Mekanizmaları. Klimik Dergisi 1993; 6 (Ek. 1): 6-8.
26. Chambers HF. Penicillins. Mandell GL, Bennett JE, Dolin R (editors). Principles and Practice of Infectious Diseases. 6th ed., Philadelphia: Churchill Livingstone, 2005: 281-293.
27. Progulske-Fox A. Bacterial structure. Murrey PR, Kobayashi GS, Pfaller MA, Rosenthal KS (editors). Medical Microbiology. 2nd Ed., St. Louis, Missouri, Mosby-Year Book, 1994: 6.
28. Mutlu G, Ö enç D. Mikroorganizmalarda hücre yapısı. Ustacelebi (editör). Temel ve Klinik Mikrobiyoloji. Ankara: Güne Kitabevi Ltd. ti. 1999: 7.
29. Steven MO, Medeiros AA. Molecular mechanisms of antibiotic resistance in bacteria. Mandell GL, Bennett JE, Dolin R (editors). Principles and Practice of Infectious Diseases. 6th ed., Philadelphia: Churchill Livingstone, 2005: 253-270.
30. Livermore DM. Of pseudomonas, porins, pumps and carbapenems. J Antimicrob Chemother 2001; 47:247-250.
31. Gülay Z. Antimikrobiyal laçlara Direnç. Ustacelebi (editör). Mikrobiyoloji Kitabı. Ankara: Güne Kitabevi Ltd. ti., 1999: 91-108.
32. Knox JR. Extended-spectrum and inhibitor-resistant TEM-type β -lactamases: Mutations, specificity and three-dimensional structure. Antimicrob Agents Chemother 1995; 39:2593-2601.
33. Morris D, O'Hare C, Glennon M, Maher M, Corbett-Feeney G, Cormican M. Extended-spectrum β -lactamases in Ireland, including a novel enzyme, TEM-102. Antimicrob Agents Chemother 2003; 47:2572-2578.
34. Gniadkowski M. Evolution and epidemiology of extended-spectrum β -lactamases (ESBLs) and ESBL-producing microorganisms. Clin Microbiol Infect 2001; 7:596-608.
35. Gür D. Bakterilerde Antibiyotiklere Kar ı Direnç. Topcu AW, Söyletir G, Do anay M (editörler). nfeksiyon Hastalıkları ve Mikrobiyoloji Kitabı. Cilt 1., 2. baskı. stanbul: Nobel Tıp Kitabevi, 2002:182 -191

36. Rupp ME, Fey PD. Extended-spectrum beta-lactamases (ESBL)-producing *Enterobacteriaceae*: Considerations for diagnosis, prevention and drug treatment. *Drugs* 2003; 63:353-365.
37. Kim YK, Pai H, Lee HJ, et al. Bloodstream infections by extended-spectrum beta-lactamases-producing *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae* in children: epidemiology and clinical outcome. *Antimicrob Agents Chemother* 2002; 46:1481-1491.
38. Akata F, Tatman-Otkun M, Ozkan E, Tansel O, Oktun M, Turul M. Prevalence of extended-spectrum beta-lactamases-produced by nosocomial isolates of *Enterobacteriaceae* in Trakya University Hospital, Turkey. *New Microbiol* 2003; 26:257-262.
39. Sturenburg E, Marc D. Extended-spectrum beta-lactamases: implications for the clinical microbiology laboratory, therapy, and infection control. *J Infect* 2003; 47:273-295.
40. Sykes RB, Matthews M. The beta-lactamases of gram-negative bacteria and their role in resistance to beta-lactam antibiotics. *J Antimicrob Chemother* 1976; 2:115-157.
41. Bush K. Characterization of beta-lactamase. *Antimicrob Agents Chemother* 1989; 33:259-263
42. Gür D. Beta-laktamazların sınıflandırılması. *Flora Dergisi* 1996; 1:80-86
43. Huovinen P, Huovinen S, Jacoby GA. Sequence of PSE-2 beta-lactamase. *Antimicrob Agents Chemother* 1988; 32:134-136
44. Özsoy MF, Öncül O, Yıldırım A, Pahsa A. Geniş lemi spektrumlu beta-laktamazlar: klinik önemi ve getirdiği sorunlar. *Flora Dergisi* 2001; 6 (Ek 1): 3-23.
45. Poirel L, Nordman P. Acquired carbapenem hydrolysing beta-lactamases and their genetic support. *Curr Pharm Biotechnol* 2002; 3:117-127.
46. Bush K, Jacoby GA, Medeiros AA. A functional classification scheme for beta-lactamases and its correlation with molecular structure. *Antimicrob Agents Chemother* 1995; 39:1211-1233

47. Jacoby GA. Genetic of extended-spectrum beta-lactamases. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 1994; 13 (Suppl. 1):2–11.
48. Nordmann P, Guibert M. Extended-spectrum beta-lactamases in *Pseudomonas aeruginosa*. *J Antimicrob Chemother* 1998; 42:128-131.
49. Nordmann P, Ronco E, Naas T, Duport C, Michel By, Labia R. Characterization of a novel extended spectrum beta-lactamase from *Pseudomonas aeruginosa*. *Antimicrob Agents Chemother* 1993; 37:962-969.
50. Gür D, Pitt TL, Hall LMC, Akalın HE, Livermore DM. Diversity of *Klebsiella* with extended-spectrum β -lactamases at a Turkish University Hospital. *J Hosp Infect* 1992; 22:163-178
51. Günseren F, Mamıko lu L, Öztürk S, et al. A surveillance study of antimicrobial resistance of gram-negative bacteria isolated from intensive care units in eight hospitals in Turkey. *J Antimicrob Chemother* 1999; 43:373-378.
52. Livermore DM, Williams JD. Beta-lactams: Mode of action and mechanism of bacterial resistance. Lorian M (editor). *Antibiotics in Laboratory Medicine*. 4th ed., Baltimore: Williams & Wilkins, 1996: 502-578.
53. Akova M. Beta-laktam antibiyotikler. Beta-Laktamazlara Ba lı Antibiyotik Direnci: Sorunlar ve Çözüm Önerileri. stanbul: MSD laçları, 1995: 2-4.
54. Pfaller MA, Jones RN, Biedenbach DJ. Antimicrobial resistance trends in medical centers using carbapenems: report of 1999 and 2000 results from the MYSTIC program. *Diagnose Microbiol Infect Dis* 2001; 41:177-182.
55. Karen B. New beta-lactamases in Gram-negative bacteria: diversity and impact on the selection of antimicrobial therapy. *Clin Infect Dis* 2001; 32:1085-1089.
56. Bush K, Jacoby G. Nomenclature of TEM beta-lactamase. *J Antimicrob Chemother* 1997; 39:1-3

57. Sutcliffe JG. Nucleotide sequence of the ampicillin resistance gene of *Escherichia coli* plasmid pBR322. Proceedings of the National Academy of Science of the USA 1978; 75:3737-3741
58. Essack SY, Hall LMC, Livermore DM, Pillay DG. TEM -62 and TEM-63, novel beta-lactamases isolated in South African, nosocomial *Klebsiella pneumoniae* isolates. Program Abst. 38th Intersci. Conf. Antimicrob Agents Chemother. Abst. C-9. 1998.
59. Gür D, Ünal S, Akalın HE. Resistance patterns in Turkey. Intern J Antimicrob Agents 1995; 6:23-26.
60. Bartelemy M, Peduzzi J, Bernard H, Tancrede C, Labia R. Close amino - acid sequence relationship between the new plasmid -mediated extended-spectrum beta-lactamase, MEN-1 and chromosomally-encoded enzymes of *Klebsiella oxytoca*. Biochim Biophys Acta 1992; 1122:15-22.
61. Bauernfeind A, Stemplinger I, Jungwirth R, Ernst S, Casellas JM. Sequence of beta-lactamase genes encoding CTX-M1 (MEN-1) and CTX-M2 and relationship of their amino-acid sequence with those of other beta-lactamases. Antimicrob Agents Chemother 1996; 40:509-513.
62. Gür D. Beta-laktamazlar. Flora Dergisi 1997; 2 (Ek. 3): 3-18.
63. Vahapo lu MH, Hall LMC, Mülazimo lu L, Dodan lı S, Yıldırım I, Livermore DM. Resistance to extended-spectrum cephalosporins, caused by PER-1 beta-lactamase, in *Salmonella typhimurium* from stanbul, Turkey. J Med Microbiol 1995; 43:294-299.
64. Bauernfeind A, Stemplinger I, Jungwirth R. Characterization of beta-lactamase gene bla PER-2 which encodes an extended-spectrum class a beta-lactamase. Antimicrob Agents Chemother 1996; 40:616-620.
65. Ishii Y, Ohno A, Taguchi H. Clonning and sequence of the gene encoding a cefotaxime-hydrolyzing class A beta-lactamase isolated from *Escherichia coli*. Antimicrob Agents Chemother 1995; 39:2269-2275.
66. Nordmann P. Trends in beta-lactam resistance among Enterobacteriaceae. Clin Infect Dis 1998; 27 (suppl. 1):100-106.

67. Hall LMC, Livermore DM, Gür D, Akova M, Akalın HE. OXA-11, an extended-spectrum variant of OXA-10 (PSE-2) beta-lactamase from *Pseudomonas aeruginosa*. *Antimicrob Agents Chemother* 1993; 37:1637-1640
68. Munnier P, Casin I, Bouthors AT, Collats E. Novel OXA-10-derived extended-spectrum beta-lactamase selected in vivo or in vitro. *Antimicrob Agents Chemother* 1998; 42:3113-3116.
69. Naas T, Sougakoff W, Casetta A, Nordmann P. Molecular characterization of OXA-20, and a novel class D beta-lactamase and its integron *Pseudomonas aeruginosa*. *Antimicrob Agents Chemother* 1998; 42:2074-2083
70. Chang FY, Siu LK, Fung CP, Huang MH, Ho M. Diversity of SHV and TEM -lactamases in *Klebsiella pneumoniae*, gene evolution in northern Taiwan and two novel -lactamases, SHV-25 and SHV-26. *Antimicrob Agents Chemother* 2001; 45:2407-2413.
71. Sirot D, Recule C, Chaiba EB. A complex mutant of TEM-1 beta-lactamases with mutations encountered in both ITR-4 extended-spectrum TEM-15 beta-lactamase produced by an *Escherichia coli* clinical isolates. *Antimicrob Agents Chemother* 1997; 41:1322-1325.
72. Prinarakis EE, Miriagou V, Tzelepi E, Gazouli M, Tzouvelekis LS. Emergence of an inhibitor-resistant beta-lactamase (SHV-10) derived from an SHV-5 variant. *Antimicrob Agents Chemother* 1997; 41:838-840.
73. Rasmussen BA, Bush K. Carbapenem-hydrolyzing beta-lactamases. *Antimicrob Agents Chemother* 1997; 41:223.
74. Bush K. Metallo -lactamses; A class apart. *Clin Infect Dis* 1998; 27 (suppl. 1): 49-53.
75. Watanabe M, Iyobe S, Inoue M, et al. Transferable imipenem resistance in *Pseudomonas aeruginosa*. *Antimicrob Agents Chemother* 1991; 35:147-151.

76. Senda K, Arakawa Y, Ichiyama S, et al. PCR detection of metallo-beta-lactamase gene (*bla_{ipm}*) in gram negative rods resistant to broad spectrum β -lactams. *J Clin Microbiol* 1996; 34:2909-2913.
77. Papnicolaou GA, Medeiros AA, Jacoby GA. Novel plasmid-mediated beta-lactamase (MIR-1) conferring resistance to oxyimino- and-methoxy beta-lactams in clinical isolates of *Klebsiella pneumoniae*. *Antimicrob Agents Chemother*. 1990; 34:2200-2209.
78. National Committee for Clinical Laboratory Standards. Performance standards for antimicrobial disk susceptibility tests. Approved standards M2 A7. Wayne, PA: NCCLS, 2000.
79. Sanders CC, Thomson KS, Bradford PA. Problems with detection of beta-lactam resistance among nonfastidious gram-negative bacilli. *Infect Dis Clin North America*. 1993; 7:411-423.
80. Thomson KS, Sanders CC. Detection of extended-spectrum beta-lactamases in members of the family Enterobacteriaceae: comparison of the double-disk and three-dimensional tests. *Antimicrob Agents Chemother* 1992; 36:1877-1882.
81. Thomson KS, Mejgle ZA, Pearce GN, Regan TJ. 3-dimensional susceptibility testing of beta-lactam antibiotics. *J Antimicrob Chemother* 1984; 13:45-54.
82. M'Zali MF, Chanawong A, Kerr KG, Birkenhead D, Hawkey PM. Detection of extended spectrum beta-lactamases in the members of the family *Enterobacteriaceae*: a comparison of Mast DD method, the double disk test and E-test ESBL. *J Antimicrob Chemother* 2000; 45:881-885.
83. Thomson KS, Sanders CC, Moland ES. Use of microdilution panels with and without beta-lactamase inhibitors as a phenotypic test for beta-lactamase production among *Escherichia coli*, *Klebsiella spp*, *Enterobacter spp*, *Citrobacter freundii* and *Serratia mercenscens*. *Antimicrob Agents Chemother* 1999; 43:1393-1400.
84. Sanders CC, Peyret M, Moland ES, et al. Ability of the V TEK 2 Advanced Expert system to identify β -lactam phenotypes in isolates of

- Enterobacteriaceae* and *Pseudomonas aeruginosa*. J Clin Microbiol 2000; 38:570-574.
85. Bradford PA. Extended-spectrum beta-lactamases in the 21st century: Characterization, epidemiology, and detection of this important resistance threat. Clin Microbiol Rev 2001; 14:933-951.
86. Kocagöz T. Polimeraz zincir tepkimesi. Medikal Biyoteknoloji ve Moleküler Tıp Dergisi. 1996; 3112-3118.
87. Curran D, Talbot CS, Towner KJ. A Rapid Immunoassay Method for The Direct Detection of PCR Products: Application to Detection of TEM β -lactamase Genes. 1996; 45:78-79.
88. Arlet G, Philippon A. PCR Based Approaches for the Detection of Bacterial Resistance. Garth DE (editor). PCR Based Diagnostics in Infectious Disease Boston: 1994: 669-680.
89. Bilgehan H. Enterobacteriaceae. Klinik Mikrobiyolojik Tanı. 2. Baskı, zmir: Barı Yayınları Fakülteler Kitabevi, 1995: 425 -450
90. National Committee for Clinical Laboratory Standards: Performance Standards for Antimicrobial Disk Susceptibility Test. NCCLS Document, 6th ed., M2-A6 (M57-100), Wayne Pa, Approved Standard 1997.
91. Brun-Buisson C, Legrand P, Philippon A, Montravers F, Ansquer M, Duval J. Transferable enzymatic resistance to third-generation cephalosporins during nosocomial outbreak of multiresistant *Klebsiella pneumoniae*. Lancet 1987: 302-306.
92. Jarlier V, Nicolas MH, Fournier G, Philippon A. Extended broad-spectrum beta-lactamases conferring transferable resistance to newer beta -lactam agents in *Enterobacteriaceae*: hospital prevalence and susceptibility patterns. Rev Infect Dis 1988; 10:867-878.
93. Ho PL, Chow KH, Yuen KY, Ng WS, Chau PY. Comparison of a novel, inhibitor-potentiated disc-diffusion test with other methods for the detection of extended-spectrum beta-lactamases in *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae*. J Antimicrob Chemother 1998; 42:49-54.

94. French GL, Philips I. Antimicrobial resistance in hospital flora and nosocomial infections. Mayhall CG (editor). Hospital Epidemiological and Infection Control. Baltimore: Williams and Wilkins, 1996: 980-999.
95. Gür D, Ünal S, ve ark. Yo un Bakım Ünitelerinden zole Edilen Gram Negatif Bakterilerin Çe itli Antibiyotiklere n-vitro Duyarlılıkları. Flora Dergisi 1996; 3:153-159.
96. Quinn JP. Clinical significance of extended-spectrum β -lactamases. Eur J Clin Microbiol Infect Dis 1994; 13 (suppl. 1): 2-11.
97. Spanu T, Luzzaro F, Perili M, Amicosante G, Toniolo A, Fadda G, and the Italian ESBL Study Group. Occurrence of extended-spectrum β -lactamases in members of the family Enterobacteriaceae in Italy implications for resistance to β -lactams and other antimicrobial drugs. Antimicrob Agents and Chemother 2002; 46 (Suppl. 1): 196-202.
98. Wang H, Chen M, Wei X, Xu Y, Zhang X, Zhang Y, et al. In vitro activity of meropenem and four other antibiotics against 554 clinical strains obtained from Beijing in 1999. J Infect Chemother 2000; 6:178-183.
99. Goossens H. MYSTIC Program: summary of European data from 1997 to 2000. Diagn Microbiol Infect Dis 2001; 41:183-189.
100. Patterson JE. Antibiotic utilization is there an effect on antimicrobial resistance. Chest 2001; 119:426-430.
101. Rahal JJ. Class restriction of cephalosporin use to control total cephalosporin resistance in nosocomial *Klebsiella*. JAMA 1998; 280:1233-1237.
102. Lepper PM, Grusa E, Reichl H, Högel J, Trautmann M. Consumption of imipenem correlates with β -lactam resistance in *Pseudomonas aeruginosa*. Antimicrob Agents Chemother 2002; 46:2920-2925.
103. Gültekin M, Ö ünç D, Günseren F, Çolak D, Kırbacı, Mamiko lu L. Hastane infeksiyonu etkeni *Klebsiella pneumoniae* ve *Escherichia coli* su larının geni lemi spektrumlu beta-laktamaz ve antibiyotik duyarlılık özelliklerinin ara tırılması. nfek Derg 1999; 13:515-520.

104. Mumcuo lu , Gündüz T, Baydur H. *Escherichia*, *Klebsiella* ve *Proteus* su larında geni lemi spektrumlu beta-laktamaz varlı ı ve çe itli antibiyotiklere direnç durumu. ANKEM Derg 2004; 18 (ek. 1): 9-11.
105. Kader AA, Kumar A. Prevalance and antimicrobial susceptibility of extended-spectrum beta-lactamase-producing *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae* in a general hospital. Ann Saudi Med 2005; 25 (ek. 3): 239-242.
106. Kader AA, Angamuthu K. Extended-spectrum beta-lactamases in urinary isolates of *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae* and other gram-negative bacteria in a hospital in Eastern Providence, Saudi Ara bia. Saudi Med J 2005; 26 (suppl. 6): 956-959.
107. Dandekar PK, Tetreault J, Quinn JP, Nightingale CH, Nicolau DP. Prevalence of extended spectrum -lactamase producing *Escherichia coli* and *Klebsiella* isolates in a large community teaching hospital in Connecticut. Diagn Microbiol Infect Dis 2004; 49:37-39.
108. Villegas MV, Correa A, Perez F, Miranda MC, Zuluaga T, Quinn JP, the Colombian Nosocomial Resistance Study Group. Prevalence and characterization of extended-spectrum -lactamases in *Klebsiella pneumoniae* and *Escherichia coli* from Colombian hospitals. Diagn Microbiol Infect Dis 2004; 49:217-222.
109. Uraz G, Ece Vural G, Sipahi BA, Sultan N. *K.pneumoniae*, *K.oxytoca* ve *E.coli* su larında geni lemi spektrumlu beta-laktamaz enzimi varlı ının ve antibiyotik direnciyle ili kisinin ara tırılması. 12. Türk Klinik Mikrobiyoloji ve nfeksiyon Hastalıkları Kongre Kitabı, 2005: 225.
110. The SENTRY Asia-Pacific Participants. Prevalence of extended -spectrum beta-lactamase-producing clinical isolates in the Asia-Pacific region and South Africa: regional results from SENTRY Antimicrobial Surveillance Program (1998-99). Diagnostic Microbiology and Infectious Disease 2002; 42:193-198.
111. Babini GS, Livermore DM. Antimicrobial resistance among *Klebsiella* spp. collected from intensive care units in Southern and Western Europe in 1997-1998. J Antimicrob Chemother 2000; 45:183-189.

112. Özbilge H, Zeyrek FY, nanç Y. Gram negatif çomaklarda geni lemi spektrumlu beta-laktamaz varlı ı ve çe itli antibiyotiklere direnç durumu. ANKEM Derg 2003;17:13
113. Lim VK, Halijah MY. In vitro activity of sulperazon against recent isolates of ceftazidime-resistant bacteria. Med J Malaysia 2001; 56:365-369.
114. Gülay Z, Thomson CJ, Yulu N, Amyes SGB. High prevalance of extended spectrum beta-lactamase protuction among *Klebsiella pneumoniae* isolated at a university hospital in Turkey. J Chemother 2000; 12:145-152
115. Kocazeybek BS. Antimicrobial resistance surveillance of gram negative bacteria isolated from intensive care units of four different hospitals in Turkey. Evaluation of the prevalence of extended spectrum and inducible beta-lactamases using different E-test strips and direct induction methods. Chemotherapy 2001; 47:396.
116. Gülay Z, Atay T, Esen N, Biçmen M, Çetintepe L, Ocak B, Yulu N. Geni lemi spektrumlu beta-laktamaz üreten *Klebsiella pneumoniae* su larının moleküler epidemiyolojisi. 29. Türk Mikrobiyolojisi Ko ngresi, Program ve Özet Kitabı, 2000: 96.
117. Kizirgil A, Yakupo lulları Y, enol FF, Toraman ZA. Kan kültürü örneklerinde geni lemi spektrumlu beta-laktamaz üreten enterik basillerin prevalansı ve antibiyotik duyarlılıklarının ara tırılması. Turkish J Infection 2005; 19 (1): 111-114.
118. Aksaray S, Dokuzo uz B, Güvener E, Yücesoy M, Yulu N, Kocagöz S, et al. Surveillace of antimicrobial resistance among Gram -negative isolates from intensive care units in eight hospitals in Turkey . J Antimicrob Chemother 2000; 45:695-699.
119. Itokazu GS, Quinn JP, Bell-Dixon C, Kahan FM, Weinstein RA. Antimicrobial resistance rates among aerobic gram-negative bacilli recovered from patients in intensive care units: evaluation of a national post marketing surveillace program. Clin Infect Dis 1996; 23:779-784.

120. Livermore DM, Yuan M. Antibiotic resistance and production of ESBLs amongst *Klebsiella* spp. from intensive care units in Europa. *J Antimicrob Chemother* 1996; 38:409-424.
121. Knothe H, Shah P, Kremey V, Antal M, Mitsuhashi S. Transferrable resistance to cefotaxime, cefoxitin, cefamandole, and cefuroxime in clinical isolates of *Klebsiella pneumoniae* and *Serratia marcescens*. *Infection* 1983; 11:315–317.
122. Dolapçı . Geni lemi spektrumlu beta-laktamazlar: Klinik mikrobiyoloji laboratuvarı, tedavi ve enfeksiyon kontrolündeki rolleri. *Mikrobiol Bül* 2005; 39:229-240.
123. Stürenburg E, Mark D. Extended-spectrum beta-lactamases: Implications for the clinical microbiology laboratory, therapy, and infection control. *J Infect* 2003; 47:273-295.
124. Paterson DL, Hujer KM, Hujer MA, Yeiser B, Bonomo MD, Rice LB, and the International *Klebsiella* Study Group. Extended-spectrum beta-lactamases in *Klebsiella pneumoniae* bloodstream isolates from seven countries: dominance and widespread prevalence of SHV - and CTX-M-type beta-lactamases. *Antimicrob Agents Chemother* 2003; 47:3554-3560.
125. Gür D. Geni lemi Spektrumlu Beta-Laktamazlar. Ulusoy S (editor). *Mezuniyet Sonrası Eğitim Dizisi 2: Beta-Laktamazlar ve Klinik Önemi*. Ankara: Bilimsel Tıp Yayınevi, 2005: 70 -88.
126. Du Bois SK, Marriot MS, Amyes SGB. TEM and SHV derived extended-spectrum β -lactamases relationship between selection, structure and function. *J Antimicrob Chemother* 1995; 35:7-22.
127. Sirot D, Recule C, Chaibe EB, Bret L, et al. A complex mutant of TEM-1 β -lactamase with mutations encountered in both ITR-4 and extended-spectrum TEM-15 produced by an *E. coli* clinical isolate. *Antimicrob Agents Chemother* 1997; 41 (suppl. 6): 1322-1325.

128. Wu PJ, Shanon K, Philips I. Mechanisms of hiperproduction of TEM -1 β -lactamase by clinical isolates of *Escherichia coli*. Antimicrob Agents Chemother 1995; 36:927-939.
129. Sohn SH, Lee DJ, Kim CI, Pai HJ. Prevalence of TEM - and SHV-type beta-lactamase gene in *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae* in Korea. Korean J Infect Dis 1997; 29 (suppl. 4): 271 -276.
130. Park JH, Lee SH, Jeong SH, Kim BN, Kim KB, Yoon JD, Jeon BC. Characterization and prevalence of *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae* isolates producing an extended-spectrum beta-lactamase from Korean hospitals. Korean J Lab Med 2003; 23 (suppl. 1): 18-24.
131. Ma I, Chang FY, Fung CP, et al. Variety of TEM-, SHV-, and CTX-M-type beta-lactamases present in recent clinical isolates of *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, and *Enterobacter cloacae* from Taiwan. Microb Drug Resist 2005; 11 (suppl. 1): 31-39.
132. Hosseini-Mazinani SM, Eftekhar F, Milani M, Ghandili S. Characterization of β -lactamases from Urinary isolates of *Escherichia coli* in Tehran. Iranian Biomedical Journal 2007; 11 (suppl. 2): 95-99.
133. Cao V, Lambert T, Nhu DQ, Loan HK, Hoang NK, Arlet G, Courvalin P. Distribution of extended- spectrum beta-lactamases in clinical isolates of *Enterobacteriaceae* in Vietnam. Antimicrob Agents Chemother 2002; 46 (suppl. 12): 3739-3743.
134. Liu PY, Tung JC, Ke SC, Chen SI. Molecular epidemiolgy of extended broad- spectrum β -lactamase-producing *Klebsiella pneumoniae* isolates in a district hospital in Taiwan. J Clin Microbiol 1998; 36:2759-2762.
135. Yan JJ, Wu SM, Tsai SH, Wu JJ, Su IJ. Prevalence of SHV -12 among clinical isolates *Klebsiella pneumoniae* producing extended-spectrum β -lactamases and identification of a noval AmpC enzyme (CMY -8) in Southern Taiwan. Antimicrob Agents Chemother 2000; 44:1438-1442.
136. Xiong Z, Zhu D, Want F, Zhang Y, Okamoto R, Inoue M. Investigation of extended-spectrum β -lactamases in *Klebsiella pneumoniae* and

Escherichia coli from China. Diagnostic Microbiology and Infectious Disease 2002; 44:195-200.

137. Pai H, Lyu S, Lee JH, Kim J, Kwon Y, Kim JW, Choe KW. Survey of extended-spectrum β -lactamases in clinical isolates of *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae*: prevalence of TEM-52 in Korea. J Clin Microbiol 1999; 37 (suppl. 6): 1758-1763.
138. Spanu T, Luzzaro F, Perili M, Amicosante G, Ton iolo A, Fadda G, and the Italian ESBL Study Group. Occurrence of extended -spectrum β -lactamases in members of the family *Enterobacteriaceae* in Italy: implications for resistanceto β -lactams and other antimicrobial drugs. Antimicrob Agents Chemother 2002; 46 (suppl. 1): 196-202.
139. Luzzaro F, Mezzatesta M, Mugnaioli C, Perili M, Stefani S, Amicosante G, et al. Trends in production of extended-spectrum β -lactamases among Enterobacteria of Medical interest: report of the second Italian Nationwide Survey. J Clin Microbiol 2006; 44 (suppl. 5): 1659-1664.
140. Gündes S. Ceftazidim-resistance *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae* isolates from four Turkish hospitals: identification of TEM -, SHV-, and GES-type β -lactamases. European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases 2004 Abstract no. 902:1718.

9. ÖZGEÇM

1972 yılında Konya'nın Çumra ilçesi Apa Köyü'nde doğdum. İlkokul, ortaokul ve lise eğitimimi Seydişehir'de tamamladım. 1990 yılında Erciyes Üniversitesi Tıp Fakültesinde tıp eğitimime başladım. 1997 yılında mezun oldum. 1997 – 2000 yılları arasında Çumra Ana-Çocuk Sağlığı Merkezi ve Çumra Sağlık Müdürlüğü Bulaıcı Hastalıklar Şubesi'nde pratisyen hekim olarak çalıştım. 2000 – 2002 yılları arasında Elazığ Kültür Sağlık Ocağında pratisyen hekimliğe devam ettim. Aralık 2002 tarihinde Fırat Üniversitesi Enfeksiyon Hastalıkları ve Klinik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı'nda ihtisas eğitimime başladım. Evli ve iki çocuk annesiyim.