

157969

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

GENİŞLEMİŞ SPEKTRUM BETA-LAKTAMAZ (GSBL) ÜRETEN BAKTERİLERİN,
DEĞİŞİK ANTİBİYOTİKLERE KARŞI DUYARLILIKLARININ ARAŞTIRILMASI

UZMANLIK TEZİ

Dr. YUSUF YAKUPOĞULLARI

Tez Danışmanı: Prof. Dr. MUSTAFA YILMAZ

ELAZIĞ / 2004

DEKANLIK ONAYI

..... Prof. Dr. Özge ARDIÇOĞLU
DEKAN Dekan



Bu tez Uzmanlık Tezi standartlarına uygun bulunmuştur.

.....
Prof. Dr. Mustafa YILMAZ
Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı Başkanı

Tez, tarafımızdan okunmuş, kapsam ve kalite yönünden Uzmanlık Tezi olarak kabul edilmiştir.

Prof. Dr. Mustafa YILMAZ
Danışman



Uzmanlık Sınavı Jüri Üyeleri

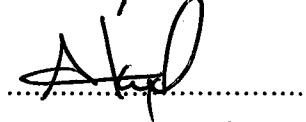
Prof. Dr. Zülal AŞGI TORAMAN




Doç. Dr. Adnan SEYREK



Yrd. Doç. Dr. Ahmet KIRGIL



Yrd. Doç. Dr. Aykut Çaldıranlı



.....

.....

.....

.....

TEŐEKKÜR

Eğitimimde büyük katkıları olan, her konuda destek ve yardımlarını gördüğüm ayrıca tez danıŐmanım olan başta değerli hocam Prof. Dr. Mustafa YILMAZ ve Doç. Dr. Zülal AŐŐI TORAMAN olmak üzere; Yrd.Doç.Dr.Ahmet KIZIRGIL' e, Doç.Dr. Adnan SEYREK' e ve Yrd.Doç.Dr. Aykut ÖZDARENDELİ' ye teŐekkürü borç bilirim.

Uzmanlık eğitimim süresince birlikte çalıŐtıđım ve tezimin çalışmalarında benden yardımlarını esirgemeyen asistan arkadaşlarıma teŐekkür ederim.

Eğitimim ve tez çalıŐmalarım sırasında her zaman yardım ve desteklerini gördüğüm başta Tek. Baki DİKBAŐ olmak üzere diğer personel arkadaşlarıma teŐekkür ederim.

İÇİNDEKİLER

	<u>Sayfa No</u>
1. ÖZET	1
2. ABSTRACT	3
3. GİRİŞ	5
4. GENEL BİLGİLER	7
4.1. Genişlemiş Spektrumlu Beta-Laktamazların Gelişimi ve Diğer Beta-Laktamazlar İçindeki Yeri ve Önemi	7
4.2. Genişlemiş Spektrumlu Beta-Laktamazlar	14
4.3. Genişlemiş Spektrumlu Beta-Laktamazların Genel Özellikleri ve Neden Olduğu Klinik Sorunlar	19
4.4. GSBL Araştırma Yöntemleri	22
4.5. Antibiyotikler Ve Özellikleri	25
5. GEREÇ VE YÖNTEM	32
5.1. Örnekler	32
5.2. Kültür, Bakteri Suşları ve Bakteri İdentifikasyonu	34
5.3. Antibiyotik Duyarlılık Deneyleri	40
6. BULGULAR	47
6.1. Antibiyotik Duyarlılık Oranları	47
6.2. Suşlara Arası Antibiyotik Direnç Oranlarının Karşılaştırılması	48
6.3. Klinikler Göre Antibiyotik Direncinin Karşılaştırılması	49
6.4. Çoklu Direnç	49
6.5. Suşların Duyarlılık Düzeyleri	50
7. TARTIŞMA	53
8. KAYNAKLAR	65
9. ÖZGEÇMİŞ	79

TABLolar LİSTESİ

TABLO ADI	AÇIKLAMA	Sayfa No
Tablo 1	Beta-laktamaz Enzimlerinin Sınıflandırması	12
Tablo 2	Amblerin beta-laktamaz Sınıflaması	13
Tablo 3	GSBL Üreten Suşların Soyutlandıkları Klinik Örnekler	34
Tablo 4	Örneklerin Geldiği Klinikler	35
Tablo 5	Kullanılan Antibiyotikler için Duyarlılık Kriterleri	47
Tablo 6	Çalışılan Antibiyotiklere Karşı Duyarlılık Oranları ve Suş Sayısı	48
Tablo 7	Kliniklere Göre Antibiyotik Direnci	50
Tablo 8	Çalışılan antibiyotiklerin MİK ₅₀ ve MİK ₉₀ değerleri	52
Tablo 9	Yurtiçi ve Yurtdışı Bazı Çalışmalardaki Duyarlılık Oranları	63

ŞEKİLLER LİSTESİ

ŞEKİL ADI	AÇIKLAMA	Sayfa No
ŞEKİL 1	Beta-laktam Halkası ve Yan Zincir	8
ŞEKİL 2	İsepamisin'in Kimyasal Yapısı	25
ŞEKİL 3	Amikasin'in Kimyasal Yapısı	26
ŞEKİL 4	Gentamisin'in Kimyasal Yapısı	26
ŞEKİL 5	Siprofloksasin'in Kimyasal Yapısı	27
ŞEKİL 6	Moksifloksasin'in kimyasal yapısı	28
ŞEKİL 7	Sefoperazon ve Sulbaktam'ın Kimyasal Yapısı	30
ŞEKİL 8	Piperasilin ve Tazobaktam'ın Kimyasal Yapısı	31
ŞEKİL 9	Çift Disk Sinerji Yöntemi ile GSBL Saptanması	43
ŞEKİL 10	E-Test Yöntemi ile GSBL Saptanması	44
ŞEKİL 11	Aminoglikozitlerin MK Değerlerine Göre Sayısal Dağılımı	51
ŞEKİL 12	Kinolonların MK Değerlerine Göre Sayısal Dağılımı	51
ŞEKİL 13	Beta-Laktamların MK Değerlerine Göre Sayısal Dağılımı	52

'Bir gün birileri etkin maddeyi izole etmenin ve onu büyük miktarda üretmenin bir yolunu bulacak. O zaman, öldürücü olabileceğini bildiğim organizmaların neden olduğu hastalıklara karşı bu ajanların düzenli olarak kullanıldığını göreceğiz'.

Dr. Alexander Fleming (Hastalığın Penisilin İle Keşfi Kitabı:69)

1. ÖZET

Genişlemiş spektrumlu beta-laktamaz enzimleri, son 20 yılda Gram olumsuz enterik bakterilerde en önemli beta-laktam direnci haline gelmiştir. Bu enzimleri üreten bakterilerin neden olduğu infeksiyonlarda kullanılacak antibiyotik sayısı da oldukça sınırlıdır. Bu çalışmanın amacı; Fırat Üniversitesi Tıp Merkezi'ndeki hastalarından soyutlanan ve GSBL enzimi üreten bakterilerin bazı antibiyotiklere karşı olan duyarlılık durumlarının incelenmesi ve klinikler arası bu direncin dağılımının belirlenmesidir.

Bu çalışma, Kasım-2001 ile Mayıs-2003 tarihleri arasında, Fırat Üniversitesi Tıp Fakültesi Araştırma ve Uygulama Hastanesi olan Fırat Tıp Merkezi'nde, değişik kliniklerde yatarak veya ayaktan tedavi gören yaklaşık 200 hastadan soyutlanan, toplam 208 bakteri suşu üzerinde yapılmıştır. Çeşitli bakteriyolojik yöntemler kullanılarak alt tür düzeyinde tanımlanan bu suşların; 88 tanesi *Klebsiella pneumoniae*, 39 tanesi *Klebsiella oxytoca*, 71'i *Escherichia coli*, 6'sı *Proteus mirabilis*, 1'i *Proteus vulgaris* ve 3'ü *Enterobacter aerogenes* olarak tanımlandı. İsepamisin, amikasin, gentamisin, siprofloksasin, moksifloksasin, sefoperazon-sulbaktam ve piperasilin-tazobaktam antibiyotiklerinin in vitro etkinlikleri, Minimal İnhibitör Konsantrasyonları (MİK), mikrodilüsyon veya E-Test yöntemleri kullanılarak saptandı.

Genişlemiş spektrumlu beta-laktamaz üreten bakteri suşlarının isepamisin duyarlılığı %92, amikasin duyarlılığı %90, gentamisin duyarlılığı %49, siprofloksasin duyarlılığı %65, moksifloksasin duyarlılığı %60,

sefoperazon-sulbaktam duyarlılığı %45 ve piperasilin-tazobaktam duyarlılığı %56 olarak saptandı.

Çalışılan bakteri türleri arasında antibiyotik duyarlılık oranları bakımından belirgin bir farklılık bulunmadı. İsepamisin ve amikasinin MIK_{50} ve MIK_{90} değerleri duyarlı sınırlar içinde saptandı. Piperasilin-tazobaktam, sefoperazon-sulbaktam ve gentamisin antibiyotiklerinin hem MIK_{50} hem de MIK_{90} değerleri dirençli sınırlar içinde bulundu. Siprofloksasin ve moksifloksasin olmak üzere, her iki kinolon antibiyotiğinin MIK_{50} değeri duyarlı sınırlarda iken, MIK_{90} değerleri dirençli sınırlarda saptandı.

Çalışılan tüm antibiyotiklere karşı en yüksek direnç değerleri cerrahi klinik izolatlarda gözlemlendi. Cerrahi klinik izolatlarında kinolon direnci pediatrik izolatlardan yaklaşık 4 kat fazla olarak saptandı.

Sonuç olarak, GSBL üreten bakterilere karşı isepamisin ve amikasinin yüksek düzeyde etkin olduğu, siprofloksasin ve moksifloksasin orta düzeyde etkin olduğu ve gentamisin, sefoperazon-sulbaktam ve piperasilin-tazobaktamın ise düşük düzeyde etkin oldukları saptanmıştır. Bu antibiyotikler, antibiyotik duyarlılık deneylerinde etkin bulunmaları koşulu ile GSBL (+) infeksiyonlarda karbapenemlere alternatif olabilirler.

Hastanelerimizde genişlemiş spektrumlu beta-laktamazların sıklığının azaltılması için uygun antibiyotik kullanımının sağlanması ve infeksiyon kontrol komitelerinin daha da etkin bir şekilde çalıştırılması gereklidir.

Anahtar Kelimeler: ESBL, MIK , isepamisin, amikasin, gentamisin, siprofloksasin, moksifloksasin, sefoperazon-sulbaktam, piperasilin-tazobaktam, *E. coli*, Klebsiella, Proteus, Enterobacter.

2. ABSTRACT

SUSCEPTIBILITY OF EXTENDED SPECTRUM BETA-LACTAMASE PRODUCING BACTERIAL STRAINS AGAINST TO VARIOUS ANTIBIOTICS

Extended spectrum of beta-lactamases have become a major beta-lactam resistance mechanism in Gram negative enteric bacilli, in recent two decades. The number of the choice of antibiotic that is appropriate for usage in the infections by extended spectrum beta-lactamase producing organisms is severely limited. The aim of this study is to detect the in vitro activity of some beta-lactam and non beta-lactam antibiotics against the ESBL producing bacterial species that were isolated from the patients in Firat Medical Center. Also, an another purpose is to investigate the distribution of the antibiotic resistance in medical clinics, in our institute.

This study was included in total 208 ESBL (+) organisms that were isolated from nearly 200 inpatients or outpatients in Firat University's hospital, between Nov-2001 and May-2003. Isolates were identified at species level by using conventional bacterial identification methods. Eighty-eight of 208 were identified as *Klebsiella pneumoniae*, 39 were identified as *Klebsiella oxytoca*, 71 were identified as *Escherichia coli*, 6 were identified as *Proteus mirabilis*, 1 was identified as *Proteus vulgaris* and 3 were *Enterobacter aerogenes*. In vitro activity of isepamicin, amikacin, gentamicin, ciprofloxacin, moxifloxacin, cefoperazon-sulbactam and piperacillin-tazobactam were measured with using microdiution and E-Test methods.

Antibiotic susceptibility of ESBL producing isolates were determined as isepamicin 92%, amikacin 90%, gentamicin 49%, ciprofloxacin 65%

moxifloxacin 60%, cefoperazon-sulbactam 45% and piperacillin-tazobactam 56%.

We did not find any significant difference at antibiotic susceptibility between ESBL producing bacterial species. It was found that the MIC₅₀ and MIC₉₀ values of isepamicin and amikacin were both in susceptible boarders. The MIC₅₀ of the both quinolones, ciprofloxacin and moxifloxacin, were in susceptible boarders, whereas MIC₉₀ of these antibiotics were in resistant boarders. Furthermore, neither MIC₅₀ nor MIC₉₀ values of cefoperazon-sulbactam, piperacillin-tazobactam and gentamicin were in susceptible boundaries.

The highest resistance rates of the tested antibiotics were found in surgical isolates. Quinolone resistance of the surgical isolates was detected as 4 fold higher than the pediatric isolates.

As a result, we found that isepamicin and amikacin were have the highest activity, ciprofloxacin and moxifloxacin were have the moderate activity and cefoperazon-sulbactam, piperacillin-tazobactam and gentamicin were have the lowest activity against ESBL producing strains.

Appropriate antibiotic usage and more active infection control committees are provided for reduction of ESBLs prevalence in the hospitals.

Key Words: ESBL, MIC, isepamicin, amikacin, gentamicin, ciprofloxacin, moxifloxacin, cefoperazon-sulbactam, piperacilin-tazobactam. *E. coli*, Klebsiella, Proteus, Enterobacter.

3. GİRİŞ

Antibiyotiklere karşı direnç gelişimi, antibiyotiklerin evrimi ile birlikte olmuştur. 1930 ve 40' lı yıllarda penisilinin kullanıma girmesi ile bakteriyel hastalıkların tedavisinde büyük bir ilerleme sağlanmıştır. Ancak kısa bir süre sonra, bazı etkenlerin penisiline karşı olan duyarlılıklarında azalma görülmüştür. Beta-laktamazlar diğer adıyla penisilinazlar, kullanıma giren her beta-laktam antibiyotiği takiben değişen zaman devrinde ortaya çıkmış ve bu ilaçların etkinliğinin azalmasına neden olmuşlardır.

Hastalık etkeni mikroorganizmaların antibiyotiklere direnç kazanabilmeleri ve bu direncin yerel değişiklikler gösterebilmesi, antibiyotik kullanımının en önemli zorluklarından biridir. Bin dokuz yüz doksan beş yılında 324 adet olduğu bilinen beta-laktamaz enzimi, 2000 yılı verilerine göre yaklaşık 600 adet olmuş ve bu süreç içinde genişlemiş spektrumlu beta-laktamaz (GSBL) sayısı da en az 3 kat artmıştır (1).

Genişlemiş spektrumlu beta-laktamazlar (GSBL), son 20 yıl içinde tanımlanmış ve hızla tüm dünyaya yayılmışlardır. Gram-olumsuz enterik çomaklar başta olmak üzere, daha nadir olarak pseudomonas ve acinetobacter gibi etkenlerce de üretilen bu enzimler, tüm penisilinleri, 1., 2. ve 3. kuşak sefalosporinleri ve aztreonamı hidrolize etmektedir. Dolayısıyla, özellikle hayatı tehdit eden ciddi infeksiyonların sağaltımında kullanılabilecek etkin antibiyotik sayısı azalmaktadır. Ne yazık ki karbapenemler, (imipenem ve meropenem) GSBL üreten etkenlerce oluşturulan ciddi infeksiyonların tedavisinde en etkin bir şekilde kullanılabilen yegane antibiyotiklerdir (2,3).

Bazı çalışmalarda GSBL üreten bakterilerin hastanelerde yaygınlaşması sonucu, ampirik tedavi veya profilaksi gibi gerekçeler ile karbapenem kullanımında son birkaç yıllık süreç içinde birkaç kat artış olduğu bildirilmiştir (4,5). Ancak diğer taraftan, yoğun karbapenem kullanımı, karbapenem dirençli organizmaların ortaya çıkışını hızlandırmıştır. Üstün etkinliklerinin mümkün olduğunca daha uzun süre korunabilmesi ve yüksek maliyetlerinden dolayı her GSBL üreten etkenin neden olduğu infeksiyonda karbapenem kullanımı uygun görülmemektedir. GSBL üreten bakterilerin neden olduğu infeksiyonlarda karbapenemlere alternatif olabilecek daha ucuz ve kullanımı kolay antibiyotik rejimlerinin geliştirilmesine ihtiyaç vardır. Bu ilaçların başında kinolonlar, aminoglikozitler ve beta-laktamaz inhibitörlü kombinasyonlar gelebilir.

Yeni bir aminoglikozit olan isepamisin ve yeni bir kinolon olan moksifloksasin, Türkiye ilaç piyasasına son zamanlarda girmiş antibiyotikler olup, bilgimize göre henüz ülkemizde bu ilaçların GSBL üreten mikroorganizmalara karşı etkinliklerini bildirir geniş çaplı bir çalışma mevcut değildir. Sefoperazon-sulbaktam ve piperasilin-tazobaktam gibi beta-laktamaz inhibitörlü kombinasyonlar ise klasik TEM ve SHV tip beta-laktamaz üreten suşlara karşı oldukça etkin olarak kullanılabilmelerine rağmen, genişlemiş spektrumlu beta-laktamaz üreticisi suşlara karşı etkinlikleri hakkında yeterli sayıda veri yok denecek kadar azdır.

Günümüzde sayısı 100'ü geçmiş bulunan genişlemiş spektrumlu beta-laktamazlar'ın neden olduğu hayatı tehdit edici infeksiyonlar, hemen hemen tüm dünya ülkelerinden yaygın olarak bildirilmektedir. Bu enzimlerim,

üretim sıklığı, tipi, sayısı, fenotipik ve genotipik özellikleri bulunduğu coğrafi bölgelere göre değişiklik gösterebilmektedir (1).

Özellikle hastane kaynaklı infeksiyonlara neden olduğu bildirilen GSBL, mortalite, morbidite ve tedavi maliyetleri üzerinde olumsuz sonuçlara neden olmaktadır (6). Mikrobiyolojik kültürlerden üretilen şüpheli organizmalar için rutin GSBL tanıma testlerinin yapılıp-yapılmaması hakkındaki tartışmalar yerini, her laboratuvar için optimal şartlarda belirlenecek yöntemlerin kullanılması ile bu enzimlerin üretiminin araştırılmasının hasta ve hastane infeksiyon kontrolü için elzem olduğu yönündeki düşüncelere bırakmıştır (7).

GSBL'lerin yayılımının engellenmesi ve uygun tedavi yöntemlerinin bulunması amacıyla, her hastane kendi direnç profilini iyi bilmeli ve etkin antibiyotiklerin seçilmesi için duyarlılık testlerine azami dikkat sarf etmelidir. Bu noktada, ampirik veya profilaktik amaçla başlanan antibiyotiklerin seçiminde bu bilgilerin oldukça faydalı olacağı açıktır.

4. GENEL BİLGİLER

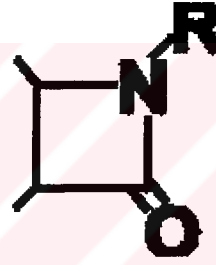
4.1. Genişlemiş Spektrumlu Beta-Laktamazların Gelişimi, Diğer Beta-Laktamazlar İçindeki Yeri ve Önemi

4.1.1. Beta-Laktam Antibiyotikler

İlk keşfedilen antibiyotik olan penisilin ile başlayan beta-laktam serüveni zamanla temel yapı esas alınarak geliştirilmiş ve bugün oldukça ileri bir noktaya gelmiştir. Yapılan geniş anket uygulamaları ve ilaç sanayii verilerine göre beta-laktamlarlar, tüm dünyada en çok kullanılan antibiyotiklerdir (4). Ökaryotik organizmalara karşı olan düşük yan etki

insidansı, tüm yaş gruplarında uygulanabilmeleri ve neredeyse tüm bakteriyel kökenli infeksiyonlarda kullanılabilmeleri, üstün etkinlikleri, geniş spektrum ve güçlü bakterisit etkilerinin olması bu yoğun tercihin altında yatan sadece birkaç nedendir. Ancak ne yazık ki bu aşırı tercih edilmiş, beraberinde de hızlı bir direnci ortaya çıkarmasına neden olmaktadır.

Penisilinin keşfi ile birlikte “artık infeksiyöz ajanlara karşı olan savaş bitti” diye düşünenler olmuşsa da; her geçen gün farklı özellikleri olan değişik antibiyotik gruplar ve bu gruplarda farklı özelliklere sahip üyeler keşfedilmesine rağmen, sorun daha da karmaşıklaşarak devam etmektedir.



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

Beta-laktam antibiyotikler başlıca 5 grupta toplanabilir. Bunlar;

1. Penisilinler
2. Sefalosporinler
3. Monobaktamlar
4. Karbapenemler
5. Beta-laktamaz inhibitörleri

Beta-laktam antibiyotiklerin ortak özellikleri, yapılarında beta-laktam adı verilen 4 atomlu bir yapı taşımalarıdır (Şekil 1).

Her grup beta-laktam antibiyotiğin özelliği bu halkaya bağlanan yan zincire (R zinciri) göre belirlenir.

Tüm beta-laktam antibiyotikler, bakterilerin stoplazmik membranı üzerinde bulunan ve bakteri hücre duvarında peptidoglikan sentezinden sorumlu olan, aynı zamanda Penisilin Bağlayıcı Protein (PBP) adı verilen proteinlere bağlanarak etkilerini gösterirler. Antibiyotik, bu moleküle bağlandıktan sonra bakterinin hücre duvar sentezi gerçekleştirilememekte ve bakteri osmotik şartlar altında yapısını devam ettiremeyerek veya bölünme esnasında gerekli olan sentezin yapılamaması sonucu parçalanarak ölmektedir (8).

4.1.2. Beta-Laktam Antibiyotiklere Karşı Direnç Gelişimi

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

- I. Dış membrandan geçmek için gereken kanalların (porinler) daralması veya bazı kanalların sayısının azalması (örnek: *Pseudomonas aeruginosa*'da Opr-D ve Opr-M porinlerinde down-regülasyon ile Amp-C de-represe mutant suşlarda karbapenem direncinin sağlanması). (8,9).
- II. Periplazmik boşlukta yerleşmiş olan bazı pompa sistemleri sayesinde içeri girmiş olan antibiyotiğin aktif olarak dışarı pompalanması. (örnek: *Pseudomonas aeruginosa*'da Mex-A ve Mex-B efflux sistemleri) (8,9).
- III. Beta-Laktamların bağlanarak etkinliklerini gösterdikleri PBP yapısında değişiklik yaparak (konformasyonel değişim) antibiyotiğin bağlanmasının engellenmesi veya azaltılması (örnek: *Staphylococcus aureus* suşlarının penisilin direnci) (8).

IV. Beta-laktam antibiyotikleri parçalayan beta-laktamaz enzimlerinin üretimi (genel beta-laktam direnci, hemen-hemen tüm bakteri türlerinde).

Yukarıda bahsedilen her bir direnç mekanizması kendi içinde çok geniş kapsamlı alanlar olduğundan bunları bir tarafa bırakıp, araştırmamızın temel konusu olan beta-laktamazlar üzerinde yoğunlaşacağız.

4.1.3. Beta-Laktamazlar

Beta-laktamazlar, beta-laktam halkasının amid bağlarını parçalayarak bu antibiyotikleri etkisiz hale getiren enzimlerdir. Bu enzimlerin genetik temeli kromozomlar, plazmidler veya transpozonlardır (7,8).

Beta-laktamazların tarihsel gelişimine bakıldığında, penisilinin mucidi olan Dr. Alexander Fleming tarafından ilk beta-laktamaz belirtilmiştir. Daha sonra, üretilen her yeni antibiyotiğin kullanıma girişinin ardından değişen zaman süreçleri içinde o antibiyotiği hidrolize eden yeni enzimler ortaya çıkmış ve tanımlanmıştır. Bu gün bilinen 600 civarında klinik olarak farklı değer taşıyan, beta-laktamaz enzimi bulunmaktadır. Beta-laktamaz enzimleri bazı özellikleri göz önüne alınarak çeşitli sınıflandırmalara tabi tutulmuştur. Ambler, beta-laktamazları aminoasit ve nükleotit dizilerine (Moleküler Sınıflama), Sykes ve Richmond, izoelektrik noktalarına, Bush ise biyokimyasal (substrat profili) özelliklerine göre sınıflandırmışlardır. Günümüzde A, B, C ve D olmak üzere temelde 4 çeşit beta-laktamaz enzimi bulunmaktadır (7,8).

4.1.3.A Grup A: Aktif bölgesinde serin aminoasiti taşırlar. Öncelikli olarak penisilinleri hidrolize ederler. Gram olumsuz bakterilerde çok sık rastlanan TEM-1 tipi enzimler bu grubun en iyi örnekleridir (7,8).

4.1.3.B Grup B: Aktivasyon için çinko veya bakır gibi divalan katyonlara gereksinim duyan metallo enzimlerdir. Klasik inhibitörlere dirençli olan bu enzimler, EDTA ve merkaptto bileşikleri gibi metal şelatörleri ile inhibe olurlar. Son 10 yılda plazmidlerle aktarılabılır hale geldikleri saptanmış olduğundan insan sağlığı açısından ciddi bir tehdit olarak ortaya çıkmıştır. Karbapenemler başta olmak üzere hemen-hemen tüm beta-laktam antibiyotiği hidrolize edebilme potansiyelleri vardır. Ülkemizde henüz çok az sayıda tanınmasına rağmen, izole edilen suşların hemen-hemen tüm beta-laktam antibiyotiğe karşı dirençli olduğu bildirilmiştir (10).

4.1.3.C Grup C: Yine aktif bölgelerinde serin taşıyan beta-laktamazlardır. Esas olarak sefalosporinaz aktiviteleri vardır (7,8).

4.1.3.D Grup D: Oksasilini hidrolize eden enzimlerdir. Jacoby sınıflandırması ile 1995 yılında Bush'un yaptığı listeye eklenmiştir (7,8).

Beta-laktamaz enzimlerinin kısaca sınıflandırması ve karşılaştırılması Tablo 1'de görülmektedir.

Tablo 1. Beta-laktamazların karşılaştırmalı olarak sınıflandırılması

Bush, Jacoby, Medeiros	Sykes ve Richmond	Ambler'in Moleküler Sınıflaması	İnhibe Olan Antibiyotik	İnhibitör		Temsilci Enzimler
				Klav.	EDTA	
1	Ia,Ib,Id	C	SS	-	-	Gm (-) bakterilerin kromozomal ve plazmid kökenli AmpC enzimleri (MIR-1,BIL-1, MOX-1..vb.)
2a		A	Pen	+	-	Gm (+) bakterilerin penisilinazları (NSP-1 (P), S. aureus (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	Ic	A	SS	+	-	P. vulgarisin indüklenebilir sefalosporinazı
2f		A	Pen SS Car	+	-	E. cloaca'nın NMC-A ve Serratia'nın Sme-1 enzimi
3		B	CAR ve tüm B-lac	-	+	X. malphtilia'nın L1ve B. Fragilis'in Cer-A enzimi
4		?	Pen	-	?	P. cepacia'nın penisilinazları

Kısaltmalar: Pen: Penisilin, SS: Sefalosporin, Mbact: Monobaktam, Crb: Karbenisilin, Cloks: Kloaksasilin

Ambler'in moleküler sınıflaması günümüzde daha çok kullanılmaktadır. Tablo 2' de gösterilmektedir.

Tablo 2. Amblerin beta-laktamaz sınıflaması

Beta-Laktamazların Sınıflandırılması		Ambler'in genetik sınıflaması			
Ambler'in genetik sınıflaması	Grup	Enzim Tipleri	Hidroliz-Spektrum Özellikleri	Organizma	Yerleşim
A	2b	Dar spektrumlu beta-laktamazlar TEM-1, TEM-2, SHV-1	Amino ve karboksipenisilinler. Klavulanat duyarlı	Enterobacteriaceae P. aeruginosa (+)	Plazmid ve Kromozomal aracı
A	2be	Geniş spektrumlu beta-laktamazlar TEM-3..29..42., SHV-2..12..	Geniş spektrumlu beta-laktamazlar Klavulanat duyarlı	Enterobacteriaceae K. pneumoniae (++) P. aeruginosa (+)	Plazmid aracı
A	2br	Inhibitör dirençli beta-laktamazlar TEM-30, TEM-41, 44, 45, 51..	Amino ve karboksipenisilinler. Klavulanat dirençli	Enterobacteriaceae E. coli (++)	Plazmid aracı
A	-	Inh. Dirençli ve geniş spektrumlu beta-laktamazlar SHV-10, TEM-33, 15..	Geniş spektrumlu beta-laktamazlar Klavulanat dirençli	E. coli	Plazmid aracı
A	-	Karbapenemazlar Nmca, Sme-1, IMI-1..	Karbapenemler ve aztreonam Klavulanat duyarlı	E. cloaca S. mercenscens	Kromozomal
B	3	Karbapenemazlar IMP-1	Geniş spektrumlu beta-laktamazlar, karbapenemler Klavulanat dirençli	Enterobacteriaceae P. aeruginosa	Plazmid ve kromozomal aracı
D	2d	OXA-11...21	Penisilinler, kloksasilin Klavulanat dirençli Sefamisinler,	Enterobacteriaceae P. aeruginosa	Plazmid aracı
C	1	Plazmid aracı sefalosporinazlar: MIR-1, MOX-1, CMY-1..5, ... FOX-1, LAT-1,	oksiminosefalosporinler, ve aztreonam, Klavulanat dirençli (MOX-1 Hariç)	Enterobacteriaceae K. pneumoniae (++)	Plazmid aracı

Tablolardan anlaşılacağı üzere, beta-laktamazlar için çeşitli enzim sınıflamaları geliştirilmiştir. Bu enzimlerin klinik önemleri ve antibiyotik tedavi protokolleri değişkendir. Son 20 yılda özellikle hastane ortamlarında Gram olumsuz bakteriler arasında hızla yayılan, hasta sağlığı ve tedavi maliyetleri açısından ciddi olumsuzlukların gelişmesine neden olan genişlemiş spektrumlu beta-laktamazlar, A grubu enzimlerdendir

4.2. Genişlemiş Spektrumlu Beta-Laktamazlar

Bin dokuz yüz yetmişli yılların sonu ve 1980'li yılların başında 3. kuşak sefalosporinler kullanıma girdiğinde, Gram olumsuz enterik çomaklar içinde bu antibiyotikleri hidrolize edebilecek plazmid bağlantılı herhangi bir beta-laktamaz enzimi mevcut değildi. İlk olarak 1983 yılında Almanya'da bir *Klebsiella pneumoniae* suşunda seftazidim ve sefotaksimi belirgin değerlerde hidrolize eden ilk GSBL enzimi tanımlandığında bunun klasik SHV-1 beta-laktamazın bir mutant formu olduğu anlaşıldı. Bundan dolayı, yeni bulunan bu enzime SHV-2 beta-laktamaz adı verildi. Bunu Fransa'dan diğer bir mutant enzim bildirisi takip etti. Bu yeni bulunan enzim ise TEM-2 beta-laktamazdan genetik olarak sadece iki aminoasit farklıydı (7,8). Bu tarihlerden sonra birçok ülkeden genişlemiş spektrumlu beta-laktamaz enzimlerini bildiren çalışmalar sıralandı. GSBL enzimleri yaklaşık 10 yıllık bir süre içinde tüm dünya için ciddi bir sağlık sorunu haline geldi (11,12).

Bulunuşundan günümüze kadar GSBL'lerin sayısında ve çeşidinde hızlı bir artış dikkati çekmiştir. Bu enzimler enterik çomaklarda sınırlı kalmayarak pseudomonas ve acinetobacter gibi non-fermentatif etkenlere de yayılmışlardır (13). Bunun yanında, sadece bu tip bakteriler tarafından üretilen özel GSBL'ler bildirilmiştir (14).

TEM ve SHV tip beta-laktamazların mutant formu olan genişlemiş spektrumlu beta-laktamazlar, orijinal enzimlerin aksine geniş spektrumlu sefalosporinleri, aztreonamı ve diğer tüm penisilinleri hidrolize ederler. Ancak sefamisinler bu kuralın dışında kalır (15).

GSBL enzimlerinin yayılımı hakkında bir çok epidemiyolojik çalışma vardır. İngiltere, İspanya, Portekiz, İtalya Yunanistan, ABD, Kuzey Afrika, Güney Amerika, Japonya ve Çin başta olmak üzere hemen-hemen tüm uzak doğu ülkelerinde tespit edilmiştir (16). Predominant tipler coğrafi olarak değişiklik 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 (17). Türkiye de dahil olarak uluslar arası en yaygın tip SHV-2'dir (16).

GSBL enzimlerinin, başta *K. pneumoniae* olmak üzere kökeni, *Enterobacteriaceae* ailesidir (8,15). Özellikle hastane kökenli *K. pneumoniae* infeksiyonlarında GSBL ciddi bir sorun olarak karşımıza çıkmaktadır (1,4,6). Genişlemiş spektrumlu beta-laktamaz fenotipleri ülkeler, şehirler ve hatta hastaneler arasında dahi farklılık gösterebilmektedir (7).

GSBL enzimleri hakkında duyulan başlıca kaygılardan biri, ülkemiz de dahil olmak üzere neredeyse tüm dünyada görülme sıklığındaki hızlı bir artıştır (7,8). *Klebsiella pneumoniae* suşlarının hastanın derisinde olabildiğinden daha uzun süre yaşayabilmesi, GSBL enzimlerinin klebsiella'larda neden fazla gözlemlendiğinin önde gelen nedenidir (7). Plazmidlerle aktarım, direncin hızlı yayılımında başlıca öneme sahiptir (17,18).

Bazı yazarlar tarafından GSBL enzimleri 6 ana başlık altında incelenmiştir (19). Bunlar;

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

4.2.1. TEM ve SHV Kökenli GSBL Enzimleri

GSBL enzimleri esas olarak TEM ve SHV türü enzimlerden 1 ila 4 aminoasit değişikliği ile oluşurlar. Bu gün için aminoasit dizilimi tanımlanmış TEM kökenli 66, SHV kökenli 12 çeşit GSBL enzimi mevcuttur. TEM ve SHV tip GSBL enzimleri, klavulanat, sulbaktam ve tazobaktam gibi beta-laktamaz inhibitörlerine duyarlı olabilmektedir. Ancak bu inhibitörlerden en etkinini klavulanat'dır. Sulbaktamın ise oldukça sınırlı bir etkinliği olabilmektedir. TEM ve SHV tip GSBL enzimlerinin klinik olarak önemli özelliklerinden biri de çok hızlı yayılabilme yetenekleridir. Dolayısıyla bu enzimler, hastanelerde ciddi problemlere neden olmaktadır (7).

4.2.2. TEM ve SHV Dışı GSBL Enzimleri

Bu enzimler plazmid kaynaklı olmalarının yanında klavulanata da dirençlidirler. Moleküler sınıflamada A grubuna dahil edilen bu enzimler MEN-1, MEN-2, CTX-M1, CTX-M2, PER-1, PER-2, VEB-1 ve TOHO-1'dir. Ülkemizin de içinde bulunduğu, özellikle Avrupa kökenli çalışmalardan bildirilen TEM ve SHV dışı GSBL enzimlerinden, PER-1 dışındakiler için yeteri kadar çalışma olmadığından hakkındaki bilgi sınırlıdır. TEM ve SHV dışı GSBL enzimlerini 4 grupta toplamak mümkündür (19).

1. MEN-1 (CTX-M1) ve CTX-M2,
2. PER-1 ve PER-2,
3. TOHO-1,
4. VEB-1.

4.2.2.A OXA Tipi Beta-Laktamazların Genişlemiş Spektrumlu Mutant Enzimleri

D grubu enzimlerden olan ve plazmidlerle aktarılan OXA tipi beta-laktamazlar, Gram olumsuz bakterilerde pek sık olmasa da görülmektedir. OXA-1'den OXA-21'e kadar tiplere ayrılmıştır (7). Bu enzimi üreten bakteriler genellikle geniş spektrumlu sefalosporinlere, monobaktamlara ve karbapenemlere karşı duyarlıdırlar. Tipler arasında etkinlik bakımından değişkenlik bulunabilir. Sadece aşırı üretildiklerinde 3. kuşak sefalosporinlere ve aztreonama karşı yavaş bir direnç gelişimine neden olabilirler. Seftazidim, ve sefamisin'lere ise kesinlikle duyarlı kabul edilirler (17). Ancak, son yıllarda OXA beta-laktamazların, 3. kuşak sefalosporinleri (normal düzeylerde dahi sentezlendiklerinde) oldukça hızlı bir şekilde hidrolize edebilen mutant formlarının bulunduğu bildirilmiştir. İlk tanımlanan mutant GSBL OXA enzimi bir *Pseudomonas aeruginosa* suşunda ve bir Türk hastanesinde izole edilmiş bu mutant enzime OXA-11 adı verilmiştir (20). Aminoasit dizilimleri incelendiğinde GSBL mutant OXA enzimlerinden OXA-15'in OXA-2'den; diğerlerinin ise OXA-10'dan köken aldığı gözlemlenmiştir (21). Ne yazık ki bu enzimler, klavulanat ve sulbaktam gibi beta-laktamaz inhibitörlerinden etkilenmemektedirler.

4.2.3. İnhibitör Dirençli Geniş Spektrumlu Beta-Laktamazlar

Bu enzimler *E. coli*'de tanımlanan plazmid kökenli, inhibitör dirençli geniş spektrumlu beta-laktamazlardır. Avrupa kaynaklı iki çalışma ile bildirilmeye başlanan bu suşların TEM-1 beta-laktamaz kompleks mutant ve SHV-10 enzimlerini ürettikleri saptanmıştır. Düşük seviyede üretildiklerinde beta-laktamaz inhibitörlerine direnç, yüksek düzeyde üretildiklerinde ise 3. kuşak sefalosporin ve monobaktam direncini sağlamak bu enzimlerin ortak özellikleri olarak bildirilmiştir (7,22).

4.2.4. Plazmid Aracılı Sefalosporinazlar (Sefamisinazlar)

GSBL'nin dışında incelenen bu enzimlerin ilk ortaya çıkışı 1980'li yılların sonuna rastlar. Bu enzimlerin ortak özelliklerinin başında klavulanat, sulbaktam veya tazobaktam ile inhibe olmamaları gelmektedir (23). Tüm sefalosporinler, monobaktamlar, ve sefamisin'ler bu enzimler tarafından etkin bir şekilde hidrolize edilmektedir. *Enterobacteriaceae* ailesinin değişik üyeleri ve *P. aeruginosa* gibi non-fermentatif etkenler tarafından üretilen bu enzimlerin şimdiye kadar tanımlanmış olanları şunlardır: Amp-C, MIR-1, MOX-1 (Beta-laktamaz duyarlı), FEC-1, FOX-1, CMY-1,2, LAT-1, BIL-1. Bu enzimler, rutin uygulamalar esnasında GSBL'ler den sefamisin direnci ve inhibitör duyarsızlığı veya inhibitör sinerjizminin görülmemesi ile ayırt edilebilir (15,17).

4.3. Genişlemiş Spektrumlu Beta-Laktamazların Genel Özellikleri ve Neden Olduğu Klinik Sorunlar

GSBL enzimleri, başta seftazidim olmak üzere, 3. kuşak sefalosporinlere ve aztreonama karşı direnç oluştururlar. Bu genlere sahip olan bakteriler ayrıca, piperasilin, veya mezlosilin gibi geniş spektrumlu

penisilinlere karşı da dirençli olurlar. GSBL üreten bakteriler, farklı yollardan beta-laktam olmayan ilaçlara da sıklıkla dirençlidirler (24).

GSBL üreticisi olan bakteriler, bazı hastanelerde ciddi salgınlara yol açarken, bazen de sporadik infeksiyonlardan soyutlanmaktadırlar. Yoğun beta-laktam kullanılan hastanelerde, antibiyotik baskısı sonucu ortamda dominant hale gelen bu suşların aşırı kolonizasyonu daha sonra değişik şekilde infeksiyonlar izlemektedir. Uzun süre hastanede yatış, yoğun ve uygunsuz antibiyotik kullanımı, cerrahi girişimler, hastanın genel durumunu bozan; immunosüpresyon, nötropeni, malignite, ileri yaşlar ve kemoterapötik kullanımı, katerterizasyon, geniş ve ciddi yanıklar GSBL olumlu bakterilerle infeksiyonun gelişimi için sayılabilecek bazı risk faktörleridir (25). Özellikle yoğun bakım hastaları, GSBL üreten bakterilerin yol açacağı infeksiyonlar için özel risk altındadırlar (26). Yoğun bakım hastalarının cilt florası 24 saat içinde fekal flora elemanları tarafından istila edilmektedir. Deride uzun süre canlılığını koruyabilen *K. pneumoniae* gibi patojenler, antibiyotik kullanımı veya uzun süreli hospitalizasyon neticesi GSBL enzimlerini kazanmakta veya dirençli suşlar seçici etki sonucu kolonize olmaktadır. İnvaziv bir girişimle veya farklı yollardan derin dokulara ilerleyerek infeksiyonlara neden olmaktadır (25,26). Hemen hemen tüm sistem infeksiyonlarına neden olabilen GSBL suşları en sık üriner sistem sonra da, solunum sistemi, yara ve kan infeksiyonlarından soyutlanmaktadırlar (26).

GSBL üreten bakterilerin neden olduğu infeksiyonlar bir çok yönden, GSBL (-) bakterilerin neden olduğu infeksiyonlarla karşılaştırılmıştır. GSBL üreten suşların neden olduğu infeksiyonların diğer infeksiyonlara göre hastanın hastanede yatış süresini uzattığı, tedavi maliyetlerinde ciddi

artışlara neden olduğu ve morbidite oranlarının yükselmesine neden olduğu saptanmıştır (27).

GSBL üreten suşların hastane floralarında yaygınlaşması sonucu nazokomiyal infeksiyonlara karşı ampirik olarak başlanan veya profilaktik amaçla uygulanan antibiyotik tedavilerinin başarısı azalmaktadır. Uygunsuz antibiyotik kullanımı sonucu GSBL üreticisi suşların yaygınlaşması ile karbapenem kullanımı kritik değerlerde artmıştır. Bu durum karbapenemler gibi son basamak antibiyotiklerin etkinliklerinde hızlı bir erozyona yol açmış ve kliniklerde özellikle non-fermentatif Gram olumsuz çomaklarda ki karbapenem direncinin ortaya çıkışını kolaylaştırmıştır (28).

GSBL suşlarının saptanmasında karşılaşılan başlıca sorunlar şöyle özetlenebilir:

- I. GSBL üreten suşların çoğu seftazidim ve aztreonama karşı belirgin direnç gösterirken, sefotksim'e karşı o derece dirençli olmayabilmektedir. Dolayısıyla, 3. kuşak sefalosporinlerin duyarlılığının saptanmasında sefotaksim tek başına kullanıldığında, bazen test edilen suş 3. kuşak sefalosporinlere karşı duyarlı olarak gözlenebilir. Bu ise hem klinik kullanımda yanılığlara, hem de GSBL'nin atlanmasına neden olacaktır.
- II. Soyutlanan suşların antibiyotik duyarlılık deneyleri esnasında inokulum etkisi ile yalancı dirençlilik veya yalancı duyarlılık gibi tablolara sık rastlanması.
- III. GSBL saptanması için yapılacak işlemlerde belirtilen standartlara uyulmaması sonucu sorunlar olabilir. Mesela; seftazidim, sefotaksim ve aztreonam disklerinin klavulanata olan uzaklığı

ortalama 25 mm olarak önerilmektedir (NCCLS) (20-30 mm arası). Bu değerler dikkat edilmeden yapılacak işlemler sonucu yalancı pozitif veya yalancı negatiflikler artacaktır (29).

- IV. Bazı GSBL tipleri klavulanat sinerjizmi göstermeyebilir. GSBL tanımında sinerjizmin gözlenmesine aşırı güvenmemek gereklidir (15).
- V. GSBL üreticisi olabilen suşlar, AmpC gibi GSBL olmadığı halde sefalosporin direnci sağlayan enzimler üretebilmektedir. Böylesi bir durumda, bu suşların sefamisin direncinin veya duyarlılığının saptanması; ayrıca, beta-laktam ajanlar arasında, Livermore (15) tarafından belirtildiği şekilde, antagonist zon daralmasının görülmesi enzimlerin ayırımında faydalı olacaktır.
- VI. Enzim üretim düzeyinin düşük oluşu. Soyutlanan suşların GSBL enzimini düşük seviyede üretmesi, in vitro deneylerde antibiyotik duyarlılığı gözlenmesine neden olurken, klinik kullanımda başarısızlık izlenebilir (7).

4.4. GSBL Araştırma Yöntemleri

Günümüze, günlük labaratuvar uygulamaları esnasında genişlemiş spektrumlu beta-laktamazların tanınması için kullanılan tanımlanmış yöntemler şöyle sıralanabilir:

4.4.1. Sefalosporin direnci: Test edilen bakterinin 3. kuşak sefalosporin duyarlılığında azalmanın veya direncin saptanması. Ölçülen MİK değerinde veya inhibisyon zon çapının belli değerlerin altına inmesi o suşun GSBL ürettiği hakkında şüphe uyandırmalıdır (29).

4.4.2. Çift dik sinerji testi: Test edilecek etken bir plağa ekildikten sonra ortaya 20+10 mg co-amoksilav ihtiva eden disk yerleştirilip, bu diskin 25-30 mm uzağına 30 mg'lık seftazidim diski konur. Co-amoksilav diskinin diğer tarafına ise herhangi bir sefalosporin, tercihen sefotaksim yerleştirilir. Bir gecelik 37 C⁰ de inkübasyondan sonra sefalosporin zonunun klavulanata doğru açılması ile tanı konur. Bu yöntemin avantajı maliyetinin düşük olmasıdır. Dezavantajı ise suşlara göre disklerin optimal ayrımlarının değişebilmesidir. TEM ve SHV tip beta-laktamazlar böylelikle ayrılabilirler. CTX-M tip b-laktamaz tesbitinde ise indikatör sefalosporin olarak sefdazidim yerine sefotaksim ve sefpodoksim kullanılması daha uygundur. AmpC ve K1 enzimini aşırı üretenler ise bu üç sefalosporin ile negatif sonuç vereceklerdir (15,29).

4.4.3. Üç Boyutlu Test: Bu yöntemde prensip disk difüzyon yöntemine göre işler ancak bazı noktalardan farklılıklar arz eder. Rutin uygulamalarda fazla tercih edilen bir yöntem değildir (30).

4.4.4. Kombine Disk Metodu: Bu metot, sefalosporin ve sefalosporin-klavulanat içeren disklerin zon çaplarının karşılaştırılması ile yapılır. ESBL varlığında klavulanik asit içeren kombinasyonun zon çapı daha geniş olacaktır. NCCLS (29) bu konuda sefotaksim - sefotaksim / klavulanat (CTX-CTX/L) ve seftazidim – seftazim / klavulanat (CAZ-CAZ/L) disklerinin kullanılmasını önermektedir (30+10 mg olarak). Bu tip disklerden ticari olarak mevcuttur (Oxoid 'kombine disk' / İngiltere, ve Mast MAST DD). Zali ve ark (31) NCCLS (29) için Mast DD diskleri ile çalışmalar yapmış ve bu diskler ile GSBL varlığını %93 gibi bir oranda

tesbit edebilmiştir. Sadece CAZ ve CTX çiftlerinin tek başlarına kullanılması ile tespit oranı %86 ve 66 da kalmıştır (31). Diğer kombine disk sistemi olan Oxoid ise sefpodoxim –sefpodoxim / klavulanat içermektedir (10-10+1 mg). Bu disklerin kullanımında inhibitör eklenmiş taraftaki zon çapının inhibitörsüz olan taraftaki çaptan >5 mm fazla olması ESBL tanısı koymak için yeterlidir. Bu yöntem NCCLS (29) ile metodolojisine göre teid edildiğinde ESBL üreten klebsiellalar için yaklaşık %100 sensitivite ve spesifiteye sahiptir. Bu metot ile ayrıca ESBL üretenlerle Amp C veya K1 enzimi üreten klebsiellalar da ayrılabilir. AmpC ve K1 enzimi üretenler klavulanat eklenmiş tarafta herhangi bir genişlemeye veya çok az bir açılıma neden olurlar (15).

4.4.5. E-Test: Bir ucunda sefdazidim (TZ) [veya sefotaksim (CT)] diğer ucunda sefdazidim-klavulanat (TZL) [veya sefotaksim-klavulanat (CTL)] gradienti bulunan E-Test stripleri ile yapılır. (AB Biodisk Solna/İsveç ve Cambridge Diagnostik Service/İngiltere). Test edilecek suş plak üzerine yayıldıktan sonra strip yerleştirilir. Bir gecelik 35 C⁰ inkübasyondan sonra TZ / TZL (veya CT-CTL) oranına bakılır. Oran 8 ve üzeri ise ESBL üretimi var demektir. Yine CTX-M tip ESBL üretiminin olduğu durumlarda CT-CTL stripleri kullanılması daha uygundur (15,29,31).

4.4.6. Mikrodilüsyon Testi: Pratik olarak uygulanan GSBL saptama testlerinden değildir. Yönteme göre, 3. kuşak sefalosporin direnci saptanan suşlar klavulanat ile inkübasyona alındığında ölçülen MİK

değerlerinde azalma kaydedilmesi ile GSBL üretiminin tanısı koyulabilir (32).

4.4.7. Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PZR): Genişlemiş spektrumlu beta-laktamaz ürettiğinden şüphelenilen suşlarda PZR tepkimesi kullanılarak GSBL genleri araştırılabilir. Fenotipik metotlara göre özgüllüğü oldukça yüksektir. Bu yöntemle, sadece GSBL üretiminin saptanması değil üretilen enzimin genotipi de belirlenir. Polimeraz zincir tepkimesinin diğer yöntemlere göre birçok bakımdan üstünlüğünün olmasının yanında, yüksek maliyeti ve kalifiye eleman gerektirmesi, hatalara karşı aşırı duyarlılığı nedeniyle rutin uygulamalarda pek sık başvurulmamaktadır (33).

4.4.8. Otomatize Sistemlerle GSBL Tanımlanması (VİTEC GSBL Kartları (Bio Mérieux/Fransa): Bu sistemlerin bir çoğu aslında otomatik duyarlılık testleridir. ESBL tespiti için VITEC kartları ticari olarak mevcut olup Sanders (34) tarafından etkinliği doğrulanmıştır. VİTEC-2 ile klebsiellalar da TEM ve SHV tip GSBL üretimi %100 duyarlılık ve özgüllük ile saptanabileceği bildirilmiştir (34).

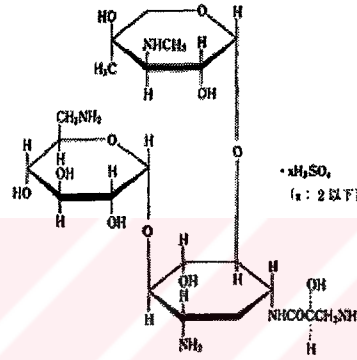
4.5. Antibiyotikler ve Özellikleri

4.5.1. İsepamisin:

İsepamisin, gentamisin ailesine mensup yeni kullanıma sunulmuş yarı sentetik bir aminoglikozittir. Gram olumsuz bakterilere karşı etkinliği artırılmış bir antibiyotik olup aminoglikozitleri hidrolize eden amikasin asetil-

transferaz enzimlerine karşı kararlılığı oldukça yüksektir. Bakteri ribozomuna bağlanarak protein sentezini bozmak yoluyla bakteriyostatik ve bakterisit etki ile antimikrobik aktivitesini sürdürür. Nefrotoksik ve ototoksik yan etkileri nisbeten düşük olarak kabul edilmektedir. Parenteral uygulanır. Yarılanma süresi yaklaşık 12 saat kadardır. İdrar, dışkı ve safra ile atılır. BOSa geçişi iyi değildir.

Şekilde isepamisin'in kimyasal yapısı görülmektedir.



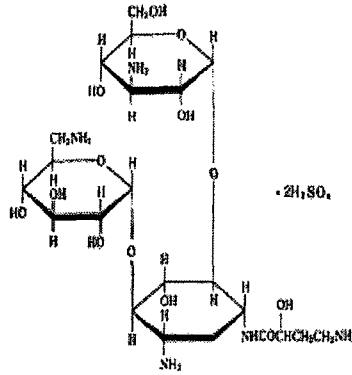
Şekil 2. Isepamisin'in kimyasal yapısı

4.5.2. Amikasin:

Aminoglikozit ailesi içinde Gram olumsuz antimikrobiyal etkinliği üst düzeyde olan antibiyotiktir. Bakteri ribozomuna bağlanarak protein sentezini bozmak yoluyla bakteriyostatik ve bakterisit etki ile antimikrobik aktivitesini sürdürür. Nefrotoksik ve ototoksik yan etkileri vardır. Özellikle *Pseudomonas aeruginosa* infeksiyonlarında tek başına veya daha çok beta-laktam antibiyotiklerle kombine kullanımı ile başarılı sonuçlar alınmaktadır. Mikroorganizmalar arasında amikasinin karşı direnç, bu gruptaki antibiyotikleri hidrolize eden amikasin asetil-transferaz enzimlerini kodlayan genlerin klonal veya plazmidler aracılığı ile yayılımı sonucu olmaktadır. Parenteral

uygulanır. Serumda yarı ömrü 6-8 saat kadardır. Çeşitli vücut sıvıları ile atılır. BOSa geçişi iyi değildir.

Şekilde amikasin'in kimyasal yapısı görülmektedir.

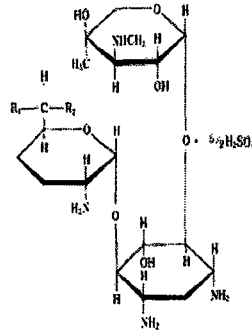


Şekil 3. Amikasin'in kimyasal yapısı.

4.5.3. Gentamisin:

Gentamisin, uzun yıllardır Gram olumlu ve Gram olumsuz etkenlerin rol aldığı bir çok infeksiyonun sağaltımında tek başına veya kombine olarak kullanılan bir aminoglikozittir. Günümüzde Gram olumsuz etkenlere karşı etkinliği nispeten azalmıştır. Çeşitli vücut sıvıları ile atılır. Yarı ömrü 8-10 saattir. Direnç, diğer aminoglikozitlerde olduğu gibi amikasin asetil-transferaz enzimleri aracılığı ile olmaktadır. BOSa geçişi iyi değildir.

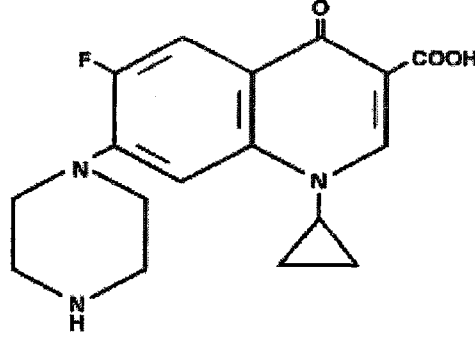
Şekilde gentamisin'in kimyasal yapısı görülmektedir.



Şekil 4. Gentamisin'in kimyasal yapısı

4.5.4. Siprofloksasin:

İlk kinolon olan nalidiksik asite C-7 pozisyonunda piperazin halkası eklenmesi ile siprofloksasin türetilmiştir. Ampirik formülü $C_{17}H_{18}FN_3O_3$ olup moleküler ağırlığı 331.4'tür.



Şekil 5. Siprofloksasin'in kimyasal yapısı

Oral olarak alımı ile gastrointestinal sistemden %70-80 oranında emilir ve yaklaşık 2-3 saat sonra serumda maksimal konsantrasyona erişir. Renal yoldan atılımı olan siprofloksasinin %40-50'si idrarla değişmeden elimine edilir. Serumdaki ilacın yaklaşık yarısı da safra yollarından atılır. Siprofloksasin safradan en yüksek konsantrasyonlarda atılan kinolondur. Dokulara dağılımı serumdan daha yüksek düzeylerde olmaktadır.

Bakterilerin DNA Giraz enziminin gyr-A kısmına bağlanarak bu enzimi dolayısı ile de DNA sentezini bozarak bakterisit etki gösterir. *Enterobacteriaceae* ailesi başta olarak nerdeyse tüm Gram olumlu ve olumsuz bakterilere karşı etkinlik gösterebilmektedir. Dolayısıyla hemen hemen tüm vücut bölgesi infeksiyonlarında kullanılabilir.

Bakterilerdeki bazı mutasyonlar sonucu gyr-A bölgesindeki yapısal değişim ile ilacın bağlanması azalmakta böylelikle kinolonlara karşı direnç gelişebilmektedir. Klinik olarak aşırı kullanım sonucu kinolon direncinin gelişmesi doğal bir yol olarak tanımlanmaktadır.

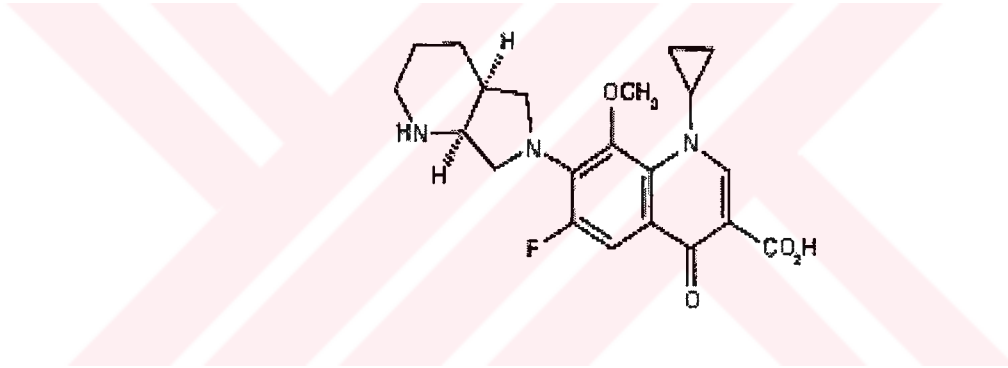
Bulantı, kusma, diyare, hipersensitivite reaksiyonları ve özellikle genç memelilerde muhtemel kartilaj toksisitesi en iyi bilinen yan etkileridir.

Kinolonlar beta-laktam direncinden etkilenmeyen uygun kullanımda ise uzun süre etkinlikleri devam edebilen antibiyotiklerdir.

4.5.5. Moksifloksasin:

Moksifloksasin kimyasal yapısı, 1-siklopropil-7-((S,S)-diazobisiklo [4.3.0] non-8-il)-6-floro-8-metoksi-1,4-dihidro-4-okso-3 kinolinekarboksilik asit hidroklorid olan, yeni bir 8-metoksiflorokinolon antibiyotiktir (F14).

Resimde moksifloksasin'in kimyasal yapısı görülmektedir.



Şekil 6. Moksifloksasin'in kimyasal yapısı

Florokinolonlar bu enzimin gyr-A kısmına bağlanarak etki gösterirler (F17 Topoizomeraz 4, gyrA ve gyrB'ye benzeyen parC ve parE genlerinden oluşur. Gram negatif bakterilerde DNA-giraz temel hedef bölge iken, *S. aureus* ve *S. pneumoniae* gibi gram pozitif bakterilerde temel hedef topoizomeraz-4 olmaktadır.

Moksifloksasin'in bir dozunun mutlak biyoyaralanımı %91'dir (A10). Tek, 400 mg'lık moksifloksasin dozundan sonra maksimum plazma konsantrasyonlarına (3.1 mg/L), uygulamadan 0.5 - 4 saat sonra ulaşılır.

Kararlı durum plazma konsantrasyonuna tedaviye başladıktan 3 gün sonra ulaşılır ve ilk dozdan %30 daha fazla saptanır.

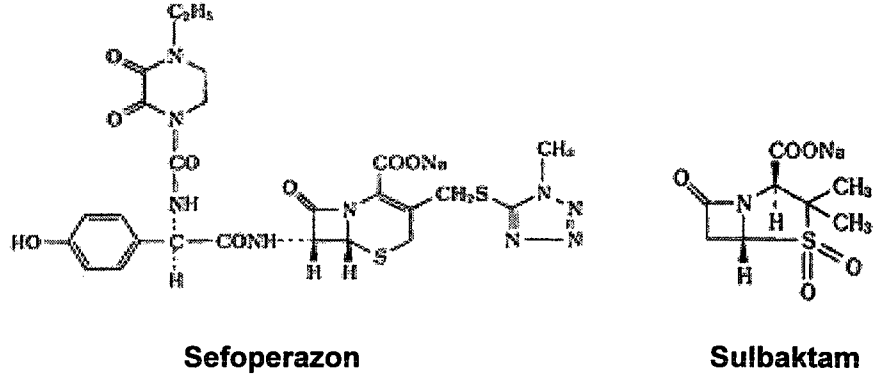
Moksifloksasin, tüm vücut dokularına ve sıvılarına hızla ve kolayca penetre olur (A10). Moksifloksasin doku konsantrasyonları, bronşial mukozada plazma konsantrasyonlarından en az 2:1 oranında, epitel cidar sıvısında 8:1 oranında ve alveoler makrofajlarda 25:1 oranında daha yüksektir.

Moksifloksasin'in oral dozunun %45'i değişikliğe uğramayan ilaç (%25 feçeste, %20 idrarda) şeklinde atılır.

Moksifloksasin klinikte; gram pozitif, gram negatif, atipik ve anaerob mikroorganizmaların neden olduğu infeksiyonlarda etkin olarak kullanılmaktadır.

4.5.6. Sefoperazon-sulbaktam:

Sefoperazon sodyum, kristal, yalnız parenteral kullanıma mahsus, yarı sentetik geniş spektrumlu bir sefalosporin antibiyotığıdır. 7 - (D (-) - α - (4etil - 2,3 - diokso - 1 - piperazinkarboksamido) - α (4 - hidroksifenil) asetamido) - 3 [(1 - metil-1H-tetrazol-5-yl) tiyometil] - 3-sephem-4-karboksilik asidin sodyum tuzudur. Sefoperazon sodyum / sulbaktam sodyum, kristal kombinasyonu olup, serbest sulbaktam ve sefoperazon olarak 1:1 oranında hazırlanmıştır.



Şekil 7. Sefoperazon ve sulbaktam'ın kimyasal yapısı.

Sulbaktam sodyum temel penisilin çekirdeğinin bir türevidir. Kimyasal olarak sodyum penisilinat sulfon ve suda çok eriyen beyazımsı kristal bir tozudur.

Sefoperazon, suda kolay çözünen beyaz kristalize bir tozudur. Sefoperazon-sulbaktam ile verilen sulbaktam dozunun, takriben % 84'ü ve sefoperazon dozunun %25'i böbreklerden itrah olur. Sefoperazonun kalan dozunun büyük bir kısmı safradan itrah olur. Sefoperazon-sulbaktam uygulamasından sonra ortalama yarı ömür sulbaktam için bir saat iken sefoperazon için 1.7 saattir. Bu değerler, tek başlarına verildiklerinde bu maddeler için daha önce yayınlanan değerlerle uyumludur. 5 dakika içinde IV uygulamadan sonra sulbaktam ve sefoperazon doruk noktaları ortalamasına ulaşırlarki bu değerler sırasıyla, 130.2 ve 236.8 mcg/ml'dir.

Bir üçüncü kuşak sefalosporin olan sefoperazon, aktif çoğalma döneminde hücre duvarı mukopeptid biosentezini inhibe ederek duyarlı organizmalara karşı etkin olur.

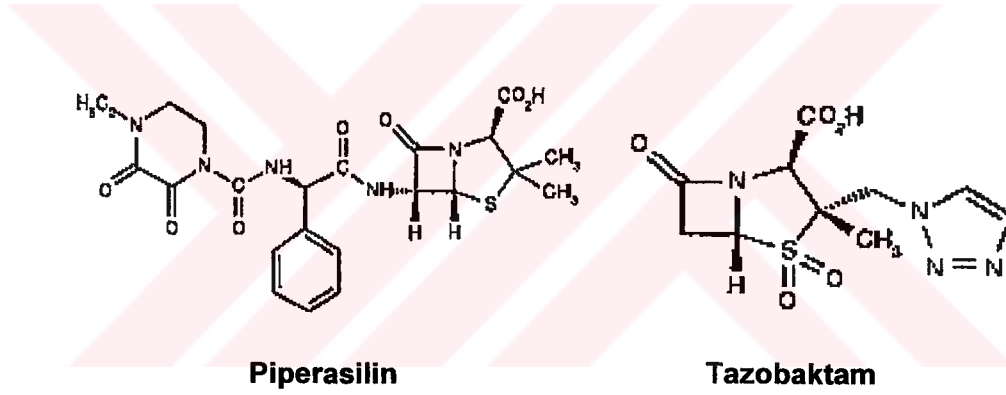
Daha çok Gram olumsuz bakteriler başta olmak üzere hemen hemen tüm Gram olumlu ve olumsuz, aerob ve anaerob bakterilere karşı değişik düzeylerde etkinlik gösterir. Bu bakterilerin neden olduğu tüm sistem

infeksiyonlarında parenteral olarak kullanılabilir. Penisilin allerjisi olan bireylerde ciddi allerjik reaksiyonlara neden olabilmektedir.

4.5.7. Piperasilin-tazobaktam:

Piperasilin-tazobaktam, yarı-sentetik bir beta-laktam olan piperasilin ile bir beta-laktamaz inhibitörü olan tazobaktamın kombinasyonu sonucu üretilmiş; beyaz, kirli beyaz renkli Na-tuzu şeklinde kristalize haldeki yapısı ile bulunan ve ticari olarak pazarlanan bir antibiyotiktir.

Piperasilin'in kimyasal formülü, $C_{23}H_{26}N_5NaO_7S$ ve molekül ağırlığı 539.5'tir. Piperasilinin kimyasal formülasyonu şekilde gösterilmiştir.



Şekil 8. Piperasilin ve tazobaktamın kimyasal yapısı

Tazobaktam, penisilin çekirdeğinden penicillanic asit sülfon derivesidir. Kimyasal formülü, $C_{10}H_{11}N_4NaO_5S$ ve moleküler ağırlığı 322.3'tür. Tazobaktamın kimyasal formülasyonu şekilde gösterilmiştir.

İntravenöz olarak kullanılan ilaç, yaklaşık 30 dakika sonra plazmada en yüksek yoğunluğa ulaşır. Her 6 saatte yapılan infüzyonlar sonucu plazmadaki etkin konsantrasyonu sağlanır. İlacın her iki komponenti de böbreklerden glomerüler filtrasyon ile atılır. Plazmadaki ilacın %70-80'i idrarda değişmeden itrah edilir. Safra ile minimal olarak atılım söz

konusudur. Dokulara iyi dağılan ilacın plazma yoğunluğunun yaklaşık %50 ila 80'i dokulara geçer.

Piperasilin-tazobaktam, başta Gram olumsuzlar olmak üzere neredeyse tüm bakterilere karşı hücre duvar sentezini bozarak bakterisit etki gösterir. Tazobaktam komponenti, birçok bakterinin ürettiği beta-laktamaz enzimin inhibe ederek ilacın etkinliğinin artmasını sağlar. Bir çok penisilinaz üreten suşa karşı yüksek etkinlik sağlayabilmektedir. P. aeruginosa'ya karşı bir aminoglikozit ile kombine edilerek kullanımı önerilmektedir. Anaeroblara karşı da etkin olarak kullanılabilir.



5. GEREÇ VE YÖNTEM

Bu çalışma, Kasım-2001 ile Mayıs-2003 tarihleri arasında, Fırat Üniversitesi Tıp Fakültesi Araştırma ve Uygulama Hastanesi olan Fırat Tıp Merkezi'nde, değişik kliniklerde yatarak veya ayaktan tedavi gören yaklaşık 200 hastadan soyutlanan toplam 208 adet bakteri suşu üzerinde yapılmıştır. Çeşitli bakteriyolojik yöntemler kullanılarak alt tür düzeyinde izole edilen bu suşların 88'i *Klebsiella pneumoniae*, 39'u *Klebsiella oxytoca*, 71'i *E. coli*, 6'sı *Proteus mirabilis*, 1'i *Proteus vulgaris* ve 3'ü *Enterobacter aerogenes* olarak tanımlandı. İsepamisin, amikasin, gentamisin, moksifloksasin, siprofloksasin, sefoperazon-sulbaktam ve piperasilin-tazobactam antibiyotiklerinin in vitro etkinlikleri, Minimal İnhibitör Konsantrasyonları (MİK) mikrodilüsyon veya E-Test (AB Bio-Disk/İsveç) yöntemi ile saptanmıştır. Genişlemiş spektrumlu beta-laktamaz ürettiği saptanan toplam 208 suşun, yukarıda belirtilen antibiyotiklere karşı duyarlılık oranlarında, örneğin geldiği klinik, örneğin cinsi, örneğin alındığı zaman sürecine göre farklı olup-olmadığı araştırıldı.

5.1. Örnekler

Toplam 208 adet olan GSBL üreten suşlar, kan, beyin omurilik sıvısı (BOS), idrar, solunum örnekleri, yara materyali, kateter ve sonda kültürü gibi klinik örneklerden soyutlanmışlardır. Suşların izole edildikleri klinik örneklerin detaylı dağılımı ve sayısı Tablo 3'te gösterilmiştir.

Tablo3. GSBL üreten suşların soyutlandıkları klinik örnekler ve sayısal dağılımı.

Klinik Örnek	Sayı
Kan	36
BOS	1
İdrar	73
Solunum Örnekleri	
<i>Balgam</i>	10
<i>entübasyon tüp ucu</i>	8
<i>bronş lavajı</i>	6
<i>boğaz kültürü</i>	2
<i>aspiaratör ucu</i>	7
<i>plevral sıvı eksudası</i>	1
Yara Örnekleri	
<i>Yanık</i>	4
<i>cerrahi yara</i>	13
<i>diyabetik ayak yarası</i>	9
<i>abse materyali</i>	5
<i>cerrahi şant aspiratı</i>	1
<i>kateter cidarı</i>	4
Kateter ve Sonda	
<i>santral venöz kateter</i>	5
<i>damar yolu kateter ucu</i>	6
<i>cerrahi dren</i>	6
<i>idrar sondası</i>	11
Toplam	208

Genişlemiş spektrumlu beta-laktamaz ürettiği saptanan suşların 124 (%60) tanesi cerrahi kliniklerden, 84 (%40) tanesi ise dahili kliniklerden gönderilen örneklerden soyutlanmıştır. Bir hastadan birden çok kez soyutlanan ve aynı fenotipik özellikler gösteren suşlardan sadece bir tanesi çalışmaya dahil edilmiştir. Bakteriyolojik örneklerin geldiği kliniklere göre sayısal dağılımı Tablo 4'te gösterilmiştir.

Tablo 4. Örneklerin geldiği klinikler ve sayısal dağılımları.

Klinik	Sayı
Dahili Tıp Klinikleri	
<i>Dahiliye</i>	23
<i>Nöroloji</i>	2
<i>göğüs hastalıkları</i>	18
<i>Cildiye</i>	1
<i>Kardiyoloji</i>	8
<i>çocuk hastalıkları</i>	32
Cerrahi Tıp klinikleri	
<i>genel cerrahi</i>	18
<i>göğüs kalp damar cerrahisi</i>	15
<i>plastik cerrahi</i>	19
<i>kadın h. ve doğum kliniği</i>	11
<i>kulak burun boğaz</i>	3
<i>Üroloji</i>	28
<i>Ortopedi</i>	19
<i>beyin cerrahi</i>	7
<i>çocuk cerrahisi</i>	4
Toplam	208

5.2. Kültür, Bakteri Suşları ve Bakteri İdentifikasyonu

Usulüne uygun olarak alınan kan, plevral sıvı ve BOS örnekleri Baktek tam otomatize kan kültürü cihazında veya Becton Dickinson tam otomatize kan kültürü cihazında inkübe edildi. Bu aletlerde üreme olduğu saptanan şişelerden uygun besiyerlerine alt kültürler yapıldı.

Yukarıda sayılan kan, BOS ve plevral sıvı örneklerinin dışındaki diğer klinik örnekler Kanlı agar, Eosin Metilen Blue (EMB) agar ve Çukulatamsı agar besiyerlerine ekim yapıldı.

Kanlı Agar Besiyeri (Oxoid/İngiltere)

Triptikaz	15 gr
Soyton (soya enzimatik hidrolizati)	5 gr
NaCl	5 gr

Agar	15 gr
Saf Su	1000 gr

Hazırlanışı: Bu karışım, ısıtılarak eritildikten sonra 121 C⁰'de 15 dakika otoklavda bekletilerek steril hale getirildi. 50 C⁰ ye kadar soğutulduktan sonra defibrine koyun kanından 70 ml eklendi ve homojenize olması için karıştırıldıktan sonra steril petri kaplarına dökülerek soğutuldu.

Eosin Metilen Blue (EMB) Agar Besiyeri (Oxoid/İngiltere)

Pepton	10 gr
Laktoz	5 gr
Sükroz	5 gr
K ₂ HPO ₄	2 gr
Agar	13.5 gr
Eosin Y	0.4 gr (% 2'lik eriyikten 2 ml)
Metilen Mavisi	0.065 gr (3.25'lik eriyikten 0.2 ml)
Saf Su	1000 ml' ye tamamlandı

Hazırlanışı: Kullanılacak olan maddeler kaynatılarak eritildi ve 121 C⁰ de 15 dakika otoklavlanarak steril hale getirildi. Steril petri kaplarına döküldü.

Çukolatamsı Agar Besiyeri (Oxoid/İngiltere)

Proteoz Pepton	7.5 gr
Poli Pepton	7.5 gr
Nişasta	1 gr
NaCl	5 gr
K ₂ HPO ₄	4 gr

KH ₂ PO ₄	1 gr
Agar	10 gr
Saf Su	1000 ml

Hazırlanışı: Maddeler sıcak suda kaynatılarak eritildikten sonra otoklavda 121 C⁰'de 15 dakika bekletilerek steril hale getirildi. Karışımın ısı 70 C⁰ olunca, içine 70-100 ml steril kan eklendi. Eklenen kanın hemoliz olmasını takiben steril petri kutularına döküldü.

Yukarıda sayılan ve içerdiği maddeler belirtilen besiyerlerine usulüne uygun olarak ekimi yapılmış olan klinik örnekler, 35 C⁰'de 18-24 saat inkübe edildikten sonra değerlendirmeye alındı. Koloni yapısı, üreme özellikleri, katalaz ve oksidaz testi ve Gram boyama özelliklerine göre Gram olumsuz çomak morfolojisindeki bakteriler alt tür düzeyinde tanımlanmaları için uygun biyokimyasal test ortamlarına ekildi. Bu ortamlarında 35 C⁰'de 18-24 saat inkübe edildi. Bu süre sonunda gözlenen reaksiyonlara göre bakterilerin tanımlanması yapıldı. Bakterilerin identifikasyonunda kullanılan testler;

Katalaz Testi

%3'lük H ₂ O ₂	3 ml
Distile su	7 ml

Hazırlanışı: Toplam 10 ml olacak şekilde her iki madde karıştırılarak kullanılır.

Yorumlama: Lam üzerine hazırlanan katalaz sıvısından birkaç damla damlatılır. Bir öze yardımıyla bakteri kolonisinden bir miktar alınarak bu sıvı içine daldırılır. Hava kabarcıklarının oluşması ve gaz çıkışının

gözlemlenmesi katalaz pozitifliği olarak yorumlanır. Hava kabarcığı ve gaz çıkarmaması negatif reaksiyon olarak kabul edilir.

Oksidaz Testi:

P-aminodimetilanilin	0.1g
Saf Su	10 ml

Hazırlanışı: Her iki madde yavaş bir şekilde karıştırılarak homojenize edilir. Işık geçirmeyen cam bir şişede buzdolabına konularak saklanabilir.

Yorumlama: Wathman filtre kağıdı oksidaz solüsyonu ile ıslatılır. Bu kağıdın yüzeyine besiyerinde üremiş olan bakteri kolonisinden bir öze veya kürdan ile alınarak sürülür. Sürüntünün olduğu yerde koyu mavi- larcivert renk değişimi pozitif reaksiyon; renk değişimi olmaması ise negatif reaksiyon olarak değerlendirilir.

Triple Sugar Iron Agar (TSI) (Oxoid/İngiltere)

Yeast extract	3 gr
NaCl	5 gr
Laktoz	10 gr
Sükroz	10 gr
Glikoz	1 gr
Ferrous amonium sulfat	0.2 gr
Na- thiosulfat	0.025 gr
Agar	3 gr

Hazırlanışı: Yukarıda adı geçen maddelerin belirtildiği orandaki karışımından 47 gr tartılarak 1 litre distile suda eritildi ve ph:7.4'e ayarlandı. Otoklavda 121 C⁰'de steril edildikten sonra tüplere yatık olarak döküldü.

Yorumlama: Hafif alkali ortamlı olarak hazırlanan TSİ besiyeri, içerdiği fenol kırmızısı sayesinde alkali ortamda kırmızımsı-pembe görünümündedir. İnoküle edilen bakteri, TSİ ortamında bulunan karbonhidratları hidrolize ettiği takdirde ortamın ph'sı aside kaymakta ve fenol kırmızısı rengini kaybeder ve besiyeri sarı bir renk alır. Bu pozitif sonuç olarak kabul edilir. Eğer inoküle edilen bakteri karbonhidratlardan hiçbirini kullanmazsa ortamın ph'sı alkali kalmakta yani besiyerinin rengi pembe olarak devam etmektedir. Bu ise negatif bir sonuç olarak yorumlanır.

Simmon's Sitrat Agar (Oxoid/İngiltere)

Na-sitrat	2 gr
NaCl	5 gr
MgSO ₄	0.2 gr
Amonyum dihidrojen fosfat	1 gr
Dipotasyum fosfat	1 gr
Bromthymol mavisi	0.08 gr
Agar	15 gr

Hazırlanışı: Yukarıda adı geçen maddelerin belirtildiği orandaki karışımından 24.2 gr tartılarak 1 litre distile suda eritildi ve ph:6.9'a ayarlandı. Otoklavda 121 C⁰'de steril edildikten sonra tüplere yatık olarak döküldü.

Yorumlama: Normal durumda koyu yeşil renkli olan sitrat besiyeri, eğer bakteri sitratı karbon kaynağı olarak kullanıyorsa, Prusya Mavisine rengine döner. Bu, pozitif reaksiyon olarak yorumlanır.

Üre Agar (Christensen Urea Agar) (Oxoid/İngiltere)

Pepton	1 gr
Glikoz	1 gr
NaCl	5 gr
Disodyum fosfat	1.2 gr
KH ₂ PO ₄	0.8 gr
Fenol kırmızısı	0.012 gr
Agar	15 gr

Hazırlanışı: Toz halindeki karışımdan 18 gr alınarak 100 ml distile suda eritildi. Ph: 6.8'e ayarlandı. Otoklavda 121 C⁰'de steril edildikten sonra %29'luk üre solüsyonundan eklendi. 50 C⁰'ye kadar soğuduktan sonra 900 ml distile su+agar karşımı ile birleştirilerek tüplere dik olarak döküldü.

Yorumlama: Hafif asit ortamlı olarak hazırlanan üre besiyerinin normal görünümü sarı renklidir. Bakteri inokülasyonundan sonra eğer bakteri suşu üreaz enzimi üretiyorsa besiyerinde bulunan üreyi parçalayacak ve son ürün olarak amonyağın ortaya çıkışını sağlayacaktır. Bu ise ortamın ph'sını alkaliye değiştirecek ve besiyerinde bulunan ancak asidik ortamdan dolayı sarı renkli olan fenol kırmızısının pembe renge dönmesine neden olacaktır. Besiyerindeki pembe-kırmızı renk değişimi pozitif sonuç olarak kabul edilirken, besiyeri renginin sarı olarak devam etmesi negatif sonuç olarak yorumlanır.

İndol (SIM Medium) Besiyeri (Oxoid/İngiltere)

Tripton	2 gr
Pepton	6.1 gr
Ferrous amonium sulfat	0.2 gr

Na- thiosulfat	0.2 gr
Agar	30.5 gr

Hazırlanışı: Yukarıdaki maddelerden belirtilen oranlardaki karışımdan 39 gr tartılarak 1000 ml distile steril su içinde eritildi. Ph:7.3'e ayarlandı. Otoklavda 121 C⁰'de steril edildikten sonra tüplere dik olarak döküldü.

Yorumlama: Bakteri inoküle edilmiş olan 'SIM' besiyerleri 35 C⁰'de 16-20 saat inkübe edildikten sonra besiyeri üstüne kovaks ayırıcı damlatıldı. Normal durumda sarı renkli olan kovaks ayırıcı kırmızı-pembe bir renk değişimine uğrarsa pozitif reaksiyon, böyle bir renk değişimi gözlenmezse negatif reaksiyon olarak değerlendirilir.

Kovaks ayırıcı

İzoamil alkol	150 ml
p-dimetilaminobenzaldehit	10 gr
HCL konsantre	50 ml

Soyutlanan bakterilerin biyokimyasal özelliklerine göre alt tür düzeyinde identifikasyonları yapıldı. Ancak bazı bakteri suşlarının alt türleri yukarıda belirtilen biyokimyasal özellikleri ile diğer suşlardan kesin olarak ayıramadığı için bu suşların tanımlanması API ID 32 E (Bio-Mérieux/Fransa) otomatize identifikasyon kitleri ile yapıldı.

5.3. Antibiyotik Duyarlılık Deneyleri

İnkübasyon süreçleri sonunda *Enterobacteriaceae* ailesine mensup bir bakterinin identifikasyonunu durumunda bu suşlar için NCCLS (29)

önerileri doğrultusunda disk-difüzyon yöntemi ile Mueller-Hington Agar' da antibiyogram yapıldı.

Mueller-Hington Agar (Oxoid/İngiltere)

Et suyu	300 ml
Pepton	17.5 gr
Nişasta	1.5 gr
Agar	17 gr

Hazırlanışı: Karışımı 1000 mililitreye tamamlamak için üzerine distile steril su eklendi. Ph:7.4' e ayarlandı. Otoklavda 121 C⁰'de steril edildikten sonra steril petri kutularına 4 mm kalınlığında döküldü.

5.3.1. Antibiyogram

Kültür plaklarında üremiş olan bakteri kolonilerinden steril bir eküvyon yardımıyla bir miktar alınarak steril serum fizyolojik içerisinde 0.5 Mc Farland bulanıklık sağlanacak şekilde süspansiyon edildi. Bu süspansiyon yine steril pamuklu eküvyon yardımıyla Mueller-Hington agar üzerine yayıldı. Plakların kuruması beklendikten sonra üzerlerine antibiyotik emdirilmiş kağıt disklerden (Oxoid/İngiltere) yerleştirildi. Otuz beş C⁰'de 18-24 saatlik inkübasyonu takiben antibiyotik disklerinin etrafında oluşan inhibisyon zonlarının çapları ölçüldü. NCCLS (29) kriterlerine göre elde edilen sonuçlar yorumlandı.

Soyutlanan bakteri suşlarında 3. kuşak sefalosporin direnci saptanması durumunda bu suşların GSBL üretip üretmediğinin araştırılması için ileri işlemlere geçildi. Bu işlemler;

5.3.2. GSBL Saptanması

5.3.2.1. Çift Disk Sinerji

Çalışmaya alınan suşların GSBL üretimi Çift Disk Sinerji yöntemi ile araştırıldı. Steril serum fizyolojik içerisinde Mc Farland 0.5 bulanıklıkta hazırlanan bakteri süspansiyonu, Mueller-Hinton Agar yüzeyine yayıldı. Ortada amoksisilin/klavulanik asit (AMC 20+10µg) diski ve çevresinde, aralarındaki uzaklık 25 mm olacak şekilde seftazidim (CAZ 30µg), sefotaksim (CTX 30µg) ve aztreonam (ATM 30µg) diskleri (Oxoid/İngiltere) yerleştirildi. 35 °C'de 18-24 saat inkübasyonu takiben, çevredeki üç antibiyotik diskinden AMC diskine doğru açılan sinerjistik alanın varlığı, GSBL pozitifliği olarak kabul edildi.

Şekil 9. Çift disk sinerji yöntemi ile GSBL saptanması.

5.3.2.2. E-Test GSBL

Çift disk sinerji yöntemi ile tipik GSBL bulgusu saptanmayan ancak, geniş spektrumlu sefalosporinlere dirençli bulunan suşların GSBL üretimi, E-test (AB Bio-Disk) yöntemi ile araştırıldı. Steril serum fizyolojik içerisinde McFarland 0.5 bulanıklıkta hazırlanan bakteri süspansiyonu, Mueller-Hinton Agar yüzeyine yayıldı. Plaklar kurutulduktan sonra seftazidim-seftazidim / klavulanat (TZ--TZL 0.5-32 / 0.125-8 µg), veya sefotaksim – sefotaksim / klavulanat (CT—CTL 0.5-32 / 0.125 - 8 µg) E-Test striplerinden besiyeri üzerine bırakıldı. 35 °C'de 18-24 saat inkübasyonu takiben E-test şeritleri ile inhibisyon elipslerinin kesiştiği noktalar okunarak MİK değerleri kaydedildi. TZ/TZL veya CT/CTL MİK değerleri oranlandı. NCCLS (29) kriterleri uyarınca, yapılan oranlama sonucu elde edilen değer ≥ 8 ise o bakteri suşunun GSBL ürettiği kabul edildi. Diğer taraftan E-Test şeridinin her iki tarafı arasında fantom zonu oluşumu da GSBL üretimi lehine yorumlandı.

Şekil 10. E-Test yöntemi ile GSBL saptanması

Disk-difüzyon yöntemine göre 3. kuşak sefalosporin direnci olup, çift-disk sinerji testinde sinerjistik alan görülmeyen ve E-Test ile yapılan GSBL araştırmasında yukarıda belirtilen oranı sağlamayan veya fantom zonu olarak tanımlanan tipik şeklin izlenmediği suşlar GSBL üreticisi olarak kabul edilmeyip, çalışmaya alınmadı.

5.3.3. GSBL Üreten Bakterilerin Antibiyotik Duyarlılıklarının Mikrodilüsyon ve E-Test Yöntemi ile Saptanması

5.3.3.1. Mikrodilüsyon Yöntemi

Genişlemiş spektrumlu-beta-laktamaz üreten 208 bakteri suşunun moksifloksasine karşı olan in vitro duyarlılıkları NCCLS (29) önerileri doğrultusunda mikrodilüsyon yöntemi ile yapıldı. Kontrol suşu olarak *E. coli* ATCC 25922 kullanıldı. Test için kullanılacak moksifloksasin maddesi stok toz halinde (Bayer Şti./İstanbul) temin edildi. Üretici firmadan ilacın assay potensleri hakkında bilgi edinildi. Deneyler 96 kuyucuklu steril polystren mikropatlarda yapıldı. Mueller-Hington Broth (Oxoid/İngiltere) besiyeri kullanıldı.

Mueller-Hington Broth (Oxoid/İngiltere)

Et Suyu	2 gr
Kazein hidrolizat	17.5 gr
Nişasta	1.5 gr
CaCl ₂	0.05 gr
MgSO ₄	0.02 gr

Hazırlanışı: 21 gram tartılarak 1000 ml distile suda eritildi. Ph: 7.4'e ayarlandı. Otoklavda 121 C⁰'de steril edildikten sonra tüplere döküldü.

Taze kültürden alınan bakteri kolonilerinden serum fizyolojik içinde son konsantrasyonu 5×10^5 cfu/ml olacak şekilde Mc Farland 0.5 standardına göre bakteri süspansiyonu hazırlandı. Antibiyotik tozunun çözünmesi için distile su kullanıldı. Başlangıç konsantrasyonu 128 micg/ml olarak ayarlandı. Steril mikropipeteler yardımıyla kuyucuklara 50 micl Mueller-Hington broth konuldu. Daha sonra ilk kuyucuklara moksifloksasin süspansiyonundan 50 micl eklendi. Kuyucuklara 5×10^5 yoğunlukta bakteri süspansiyonları eklendi. Diğer kuyucuklara antibiyotik solüsyonu seri dilüsyonlarla eklendi ve sonuçta moksifloksasin için 128 micg/ml ile 0.0312 micg/ml yoğunluk arasında antibiyotikyoğunlu sağlanmış oldu. Her suş için antibiyotik içermeyen bakteri süspansiyonları ve bakteri içermeyen antibiyotik süspansiyonlarının kontrolleri de yapıldı. Mikroplakların üstü kapatılarak 18-24 saat 35 C^0 de inkübasyona alındı. Bu sürenin sonunda plaklardaki kuyucuklarda gelişen üreme veya ürememe durumları gözle bulanıklığın tespitinin yapılması ile değerlendirildi. Seri dilüsyon skalasında bulanıklığın kaybolduğu yani üremenin gerçekleşmemiş olduğu yoğunluk o suş için moksifloksasinin 'Minimal İnhibitör Konsantrasyonu' (MİK) olarak kaydedildi. Bakteri suşlarının yarısının üremesini engelleyen MİK ortalaması MİK₅₀, %90'ının üremesinin olmadığı antibiyotik yoğunluğu ise MİK₉₀ değeri olarak hesaplandı.

5.3.4. E-Test Yöntemi

Genişlemiş spektrumlu beta-laktamaz üreten 208 bakteri suşunun isepamisin, amikasin, gentamisin, siprofloksasin, moksifloksasin, sefoperazon-sulbaktam ve piperasilin-tazobaktam antibiyotiklerine karşı

olan in vitro duyarlılıkları NCCLS (29) önerileri doğrultusunda E-Test (AB-BioDisk/İsveç) yöntemi ile yapıldı. Kontrol suşu olarak

Steril serum fizyolojik içerisinde Mc Farland 0.5 bulanıkta hazırlanan bakteri süspansiyonu, Mueller-Hinton Agar yüzeyine yayıldı. Plaklar kurutulduktan sonra isepamisin (IS), amikasin (AK), gentamisin (GM), siprofloksasin (CI), sefoperazon-sulbaktam (CPS) ve piperasilin-tazobaktam (PTc) E-Test şeritleri yerleştirildi. 35 C⁰ de 18-24 saat inkübasyonu takiben E-test şeritlerini inhibisyon elipslerinin kestiği noktalar okunarak MK değerleri kaydedildi. Bu kesişme noktaları her suş için 'Minimal inhibitör konsantrasyon' (MİK) olarak kaydedildi. Bakteri suşlarının yarısının üremesini engelleyen MİK ortalamasına MK₅₀, %90'ının üremesinin olmadığı antibiyotik yoğunluğu ise MK₉₀ değeri olarak hesaplandı.

Tablo 5. Kullanılan Antibiyotikler için Duyarlılık Kriterleri

Antibiyotikler	Duyarlılık (micg/ml)		
	H	AH	D
İsepamisin	≤16	32	≥64
Amikasin	≤16	32	≥64
Gentamisin	≤4.0	8.0	≥16
Siprofloksasin	≤1.0	2.0	≥4.0
Moksifloksasin*	≤1.0		≥8.0
Sefoperazon-sulbaktam	≤16	32	≥64
Piperasilin-tazobaktam	≤16	32-64	≥128

*Moksifloksasin için BSAC (35), diğer antibiyotikler için ise NCCLS (29) duyarlılık kriterleri temel alındı.

5. BULGULAR

Kasım-2001 ile Mayıs-2003 tarihleri arasında klinik mikrobiyoloji laboratuvarında 88 *Klebsiella pneumoniae*, 39 *Klebsiella oxytoca*, 71 *Escherichia coli*, 6 *Proteus mirabilis*, 1 *Proteus vulgaris*, 3 *Enterobacter aerogenes* olarak tanımlanan toplam 208 adet bakteri suşunun GSBL ürettiği saptandı.

6.1 Antibiyotik Duyarlılık Oranları

GSBL üreten suşların isepamisin, amikasin, gentamisin, siprofloksasin, moksifloksasin, sefoperazon-sulbaktam ve piperasilin-tazobaktam antibiyotiklerine karşı olan duyarlılıkları tabloda gösterilmiştir.

Tablo 6. Çalışılan antibiyotiklere karşı duyarlı suş sayısı ve antibiyotiklerin duyarlılık oranları.

BAKTERİLER	ANTİBİYOTİKLER						
	IS Sayı-%	AK Sayı-%	GM Sayı-%	CI Sayı-%	MXF Sayı-%	CPS Sayı-%	PTc Sayı-%
<i>K. pneumoniae</i>	80-%91	78-%89	36-%41	55-%63	50-%57	38-%43	45-%51
<i>K. oxytoca</i>	35-%90	33-%85	23-%59	24-%62	22-%56	16-%41	20-%51
<i>E. coli</i>	68-%96	67-%94	38-%53	49-%69	45-%63	35-%49	46-%65
<i>Proteus spp.</i>	6-%100	6-%100	3-%50	5-%71	4-%57	4-%57	4-%57
<i>Enterobacter aerogenes</i>	3-%100	3-%100	2-%67	3-%100	3-%100	0-%0	2-%67
Toplam	192-%92	187-%90	102-%49	136-%65	124-%60	93-%45	117-%56

Kısaltmalar: IS: isepamisin, AK: Amikasin, GM: Gentamisin, CL: Siprofloksasin, MXF: Moksifloksasin, CPS: Sefoperazon-sulbaktam, PTc: Piperasilin-tazobaktam.

Çalışmaya dahil ettiğimiz genişlemiş spektrumlu beta-laktamaz üreten suşlara karşı en etkin antibiyotik isepamisin olarak saptanmıştır

(%92). Tüm bakteri tür ve alttürlerinde en yüksek duyarlılık oranları isepamisinden elde edilmiştir. Amikasin, isepamisini takiben 2. en etkin antibiyotik olarak ölçülmüştür (%90). Isepamisin ve amikasin gibi bir aminoglikozit olan gentamisin ise in vitro olarak orta düzeyde etkin bir antibiyotik olarak saptanmıştır (%49).

Siprofloksasin, 3. en iyi etkinliğe sahip antibiyotik olmakla birlikte duyarlılık oranları orta düzeyde bulunmuştur (%65). Yeni bir kinolon olan moksifloksasine karşı suşların duyarlılığı %60 düzeylerinde ölçülmüştür. Siprofloksasin ile kıyaslandığında genişlemiş spektrumlu beta-laktamaz üreten bakterilerin moksifloksasine karşı daha az duyarlı olduğu saptanmıştır.

Beta-laktamaz inhibitörü içeren kombinasyon antibiyotiklerden piperasilin-tazobaktam duyarlılığı %56 olarak bulunmuştur. Sefoperazon-sulbaktam kombinasyonunun etkinliği (%45) ile karşılaştırıldığında piperasilin-tazobaktamın GSBL üreticisi suşlara karşı daha etkin olduğu görülmüştür.

6.2 Suşlar Arası Antibiyotik Direnç Oranlarının Karşılaştırılması

Genişlemiş spektrumlu beta-laktamaz üreten bakteri suşları antibiyotiklere karşı olan duyarlılık oranlarına göre karşılaştırılmıştır. Genel olarak *K. oxytoca* ve *K. pneumoniae* suşlarının antibiyotik duyarlılıkları diğer bakterilere göre daha düşük bulunmuştur.

Çalışılan 3 adet *E. aerogenes* suşu sayısal olarak az olmaları nedeniyle dikkate alınmadığı taktirde, *E. coli* suşlarının tüm antibiyotiklere karşı olan duyarlılığı diğer bakterilere göre daha yüksek bulunmuştur.

6.3. Kliniklere Göre Antibiyotik Direncinin Karşılaştırılması

Genişlemiş spektrumlu-beta-laktamaz ürettiği saptanan suşların elde edildiği hastaların buldukları kliniklere göre kullanılan antibiyotiklere karşı direnç profillerinde farklılık olup-olmadığı araştırıldı.

Tüm suşlar incelendiğinde isepamisine karşı 16, amikasine karşı 21, gentamisine karşı 106, siprofloksasine karşı 72, moksifloksasine karşı 84, sefoperazon-sulbaktama karşı 115, ve piperasilin-tazobaktama karşı 91 suşun direnç gösterdiği saptanmıştır. Tablo 7' de, suşların soyutlandıkları klinik örneklerle göre antibiyotik dirençliliklerinin dağılımı gösterilmektedir.

Tablo 7. Kliniklere göre antibiyotik direncinin sayısal dağılımı

Klinik	Kullanılan Antibiyotikler, Dirençli Suş Sayısı ve Direnç Oranları						
	IS Sayı-%	AK Sayı-%	GM Sayı-%	CI Sayı-%	MXF Sayı-%	CPS Sayı-%	PTc Sayı-%
Dahili Tıp Kl.	5-%33	4-%19	34-%30	22-%31	30-%36	34-%30	30-%33
Çocuk Hst. Kl.	0-%0	5-%24	35-%31	10-%14	11-%13	30-%26	27-%30
Cerrahi Tıp Kl.	11-%66	12-%57	37-%39	40-%56	43-%51	51-%44	34-%37
Toplam (direnç)	16-%100	21-%100	106-%100	72-%100	84-%100	115-%100	91-%100

6.4. Çoklu Direnç

Genişlemiş spektrumlu beta-laktamaz üreten toplam 208 bakterinin antibiyotik duyarlılıkları incelendiğinde; aminoglikozitlerden gentamisine duyarlı olup, amikasin ve isepamisine karşı direnç gösteren hiç bir suş saptanmamıştır.

Kinolonlardan moksifloksasine karşı duyarlı olan suşların hepsi siprofloksasine de duyarlı bulunmuşlardır. Ancak, 12 bakteri suşu siprofloksasine duyarlı bulunmuşken, moksifloksasine karşı dirençli olarak saptanmışlardır.

Toplam 208 adet olan GSBL üreticisi suşun PTC'ye dirençli 91'inin 66'sı (%76'sı) aynı zamanda CPS'ye de dirençli olarak saptanmıştır.

Antibiyotik grupları arasında, en az bir aminoglikozit ve en az bir kinolona aynı anda dirençli olan suş sayısı 81'dir (tüm suşların %39'u).

İsepamisine karşı dirençli olan 16 suşun 14'ü (tüm suşların yaklaşık %7'si) çalışılan tüm antibiyotiklere karşı dirençli olarak saptanmıştır.

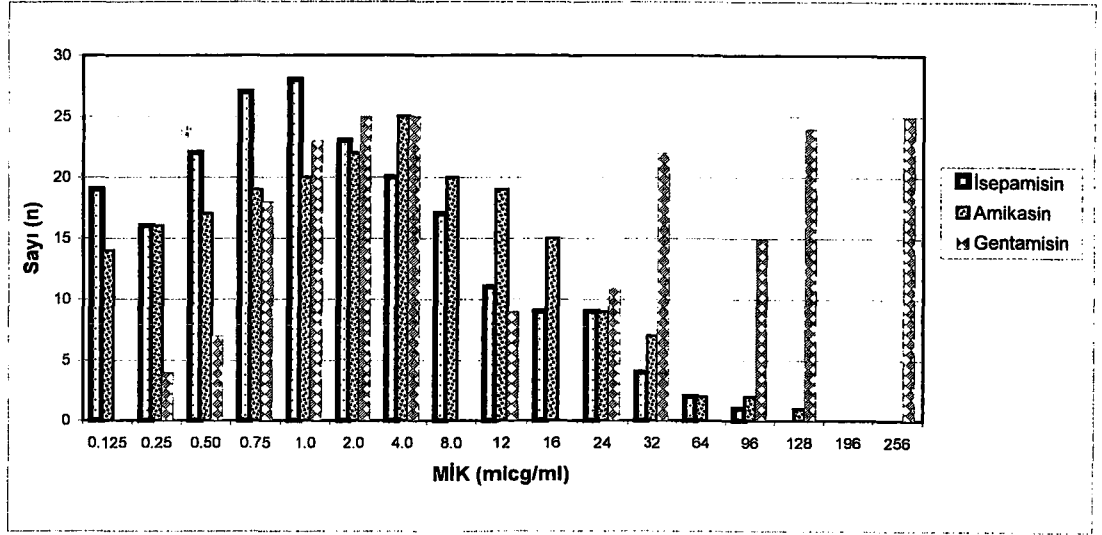
On üçü *K. pneumoniae*, 18'i *E. coli* ve 1 tane de *Proteus mirabilis* olmak üzere toplam 32 (%15) GSBL üreten bakteri suşu çalışılan tüm antibiyotiklere karşı duyarlı bulunmuştur.

6.5. Suşların Duyarlılık Düzeyleri

Şimdiye kadar, GSBL üreticisi olan suşların çalışılan antibiyotiklere karşı olan duyarlılık ve direnç oranları hakkında bulgular sunulmuş iken, bu bölümde, bu bakteri suşlarının MİK değerlerine göre duyarlılık ve direnç düzeyleri hakkındaki sonuçlar verilmeye çalışılacaktır.

6.5.1. Amioglikozitlerin MİK Düzeyleri

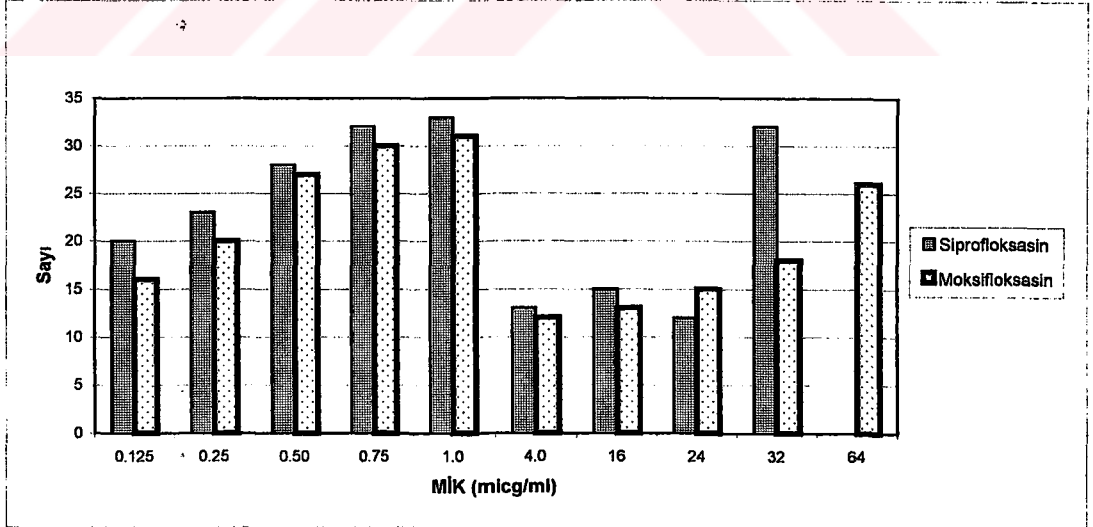
İsepamisin, amikasin ve gentamisin olmak üzere çalışmaya alınan 3 aminoglikozit türevinin, toplam 208 adet GSBL üreten bakteri suşuna karşı olan MİK değerlerinin dağılımı Tablo 8'de gösterilmiştir.



Şekil 11. Aminoglikozitlerin MİK Değerlerine Göre Sayısal Dağılımı

6.5.2. Kinolonların MİK Düzeyleri

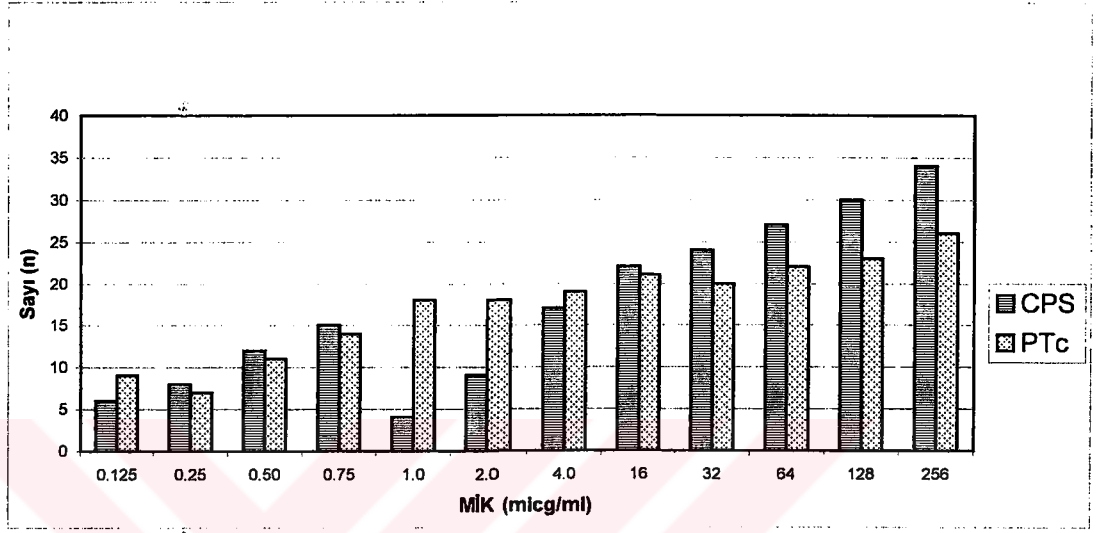
Moksifloksasin ve siprofloksasinin MİK değerlerinin sayısal dağılımı Tablo 9'da gösterilmektedir.



Şekil 12. Kinolonların MİK Değerlerine Göre Sayısal Dağılımı

6.5.3. Beta-Laktamların MİK Düzeyleri

Beta-laktam/beta-laktamaz inhibitörü kombinasyon antibiyotiklerin, GSBL üreten suşlara karşı ölçülmüş MİK değerlerine göre sayısal dağılımları Tablo 10'da gösterilmiştir.



ŞEKİL 13. Beta-Laktamların MİK Değerlerine Göre Sayısal Dağılımı

Her üç grup antibiyotiğin direnç düzeyinin belirlenmesi amacı ile çalışılan ilaçların MİK₅₀ ve MİK₉₀ değerleri hesaplanarak Tablo 11'de gösterilmiştir.

Tablo 8. Çalışılan antibiyotiklerin MİK₅₀ ve MİK₉₀ değerleri

	IS	AK	GM	CI	MXF	CPS	PTc
MİK ₅₀ (micg/ml)	1.0	2.0	12	0.75	1.0	32	24
MİK ₉₀ (micg/ml)	16	16	256	32	64	256	256

Çalışılan antibiyotikler içinde MİK₅₀ ve MİK₉₀ değerleri duyarlı sınırlar içinde bulunan iki ilaç isepamisin (1.0-16 micg/ml) ve amikasin (2.0-16 micg/ml) olmuştur. Sefoperazon-sulbaktam (32-256 micg/ml), piperasilin-

tazobaktam (24-256 micg/ml) ve gentamsin (12-256 micg/ml) antibiyotiklerinin hem MIC_{50} hem de MIC_{90} değerleri direnç sınırları içinde ölçülmüştür. Her iki kinolonun MIC_{50} değeri (0.75-1.0 micg/ml) duyarlı sınırlarda, MIC_{90} değerleri (32-64 micg/ml) ise dirençlilik sınırlarında bulunmuştur.



7. TARTIŞMA

İlk bulunuşundan günümüze kadar bir çok GSBL enzimi tanımlanmıştır. Enzimlerin tür ve sıklığında görülen artış dikkat çekicidir. Hastane ortamının selektif baskısı ile belli bir süre sonra, yatan hastaların solunum ve gastrointestinal sistemlerinde, GSBL (+) bakteriler kolonize olmaktadır. Uzun süre cerrahi kliniklerde veya yoğun bakım ünitelerinde yatan, invaziv girişim uygulanan veya açık yarası bulunan, genel durumu bozuk olan hastalardan soyutlanan *E. coli* ve *K. pneumoniae* suşlarında genişlemiş spektrumlu beta-laktamazların görülme sıklığı yüksektir (1,26,36,37).

Genişlemiş spektrumlu beta-laktamaz üreten suşlarda, beta-laktam direncinin doğru bir biçimde ortaya konulmasında disk-difüzyon tekniği veya MİK saptamaya yönelik deneyler her zaman yeterli olamamaktadır. Özellikle 3. kuşak sefalosporinlere karşı orta düzeyde dirençli bulunan *E. coli* ve klebsiella suşlarının GSBL üreten suşlar olup, gerçekten de bu antibiyotiklere karşı tamamen dirençli olabilecekleri unutulmamalıdır. Bu gerekçelerle, 1997 yılında National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS) (29), GSBL saptanmasına yönelik olan önerilerinde değişiklik yaparak yayımlamıştır. Buna göre, geniş spektrumlu sefalosporinlerin MİK değerlerinin 2 micg/ml veya daha yukarı olması; veya inhibisyon zon çaplarının aztreonam için 28, seftazidim için 23 ve sefotaksim için 26 mm'den az olması durumunun, GSBL üretimi yönünden uyarıcı olması gerektiği bildirilmiştir (38).

Genişlemiş spektrumlu beta-laktamaz üretimi, antibiyoterapinin başarısında azalmaya neden olarak, infeksiyonun prognozunu olumsuz

yönde etkilemektedir. Bu nedenden dolayı ülkemizdeki hastanelerde ciddi sağlık harcamaları olmaktadır.

Bir suşun GSBL üretip-üretmediğine o suş için yapılan disk-difüzyon veya mikrodilüsyon testlerinden elde edilen direnç paternine bakılarak karar verilebilir. Üçüncü kuşak sefalosporin ve aztreonam direnci gösteren ancak bunun yanında sefoksitin duyarlılığı bulunan bakteri suşlarının GSBL ürettiği tahmin edilebilir. Bu amaçla, 3. kuşak sefalosporinleri temsilen seftazidim ve sefotaksim, monobaktamlardan aztreonam kullanılarak antibiyogramlar düzenlenmelidir. Sefotaksim yerine başka bir 3. kuşak sefalosporin kullanımı ile o suşların yalancı duyarlı yani enzim üretmiyor olması gözlenebilir (29,38).

Standartlardan daha yoğun inokulumların kullanıldığı difüzyon yöntemi, çift disk sinerji ve üç boyutlu yöntem kullanılarak rutin GSBL tespiti yapmak mümkündür. Çift disk sinerji yöntemi, bahsedilen diğer yöntemlere göre kullanımı kolay, pratik ve ucuz olduğu için daha yaygın olarak kullanılmaktadır. Bu yöntem ile çok düşük seviyedeki GSBL enzim üretimi bile saptanabilmektedir (39). Ancak, bu yöntemde uygulama esnasında bazı zorluklarla karşılaşmakta, dolayısı ile doğru GSBL saptanmasında aksaklıklar gözlenebilmektedir. Bu aksaklıklardan bazıları şunlardır: Diskler arası uzaklığın tavsiye edilen 20-30 mm arası olması sağlanmalıdır. Bu noktada 25 mm'lik uzaklık ideal bir yakınlık sağlar. Ancak, test edilen bakteri suşları içinde Amp-C dereprese mutant suşların bulunması durumunda klavulanat sinerjizminin doğru saptanabilmesi için mesafenin 20 mm olarak ayarlanması gerekebilir (15,40). Son zamanlarda saptanan yeni GSBL enzimleri klavulanat sinerjizmi göstermeyebilmektedir (15). Dolayısı ile

mesafe ayarlamasının enzimin saptanmasında rolü olmayacaktır. Bazı suşların aşırı derecede GSBL olmayan sefalosporinaz üretmesi de yine çift disk sinerji testinde klavulanat sinerjizminin görünmesini engeller. Araştırmada kullanılacak diskler uzun süredir stokta saklanıyorsa etkinliklerinde azalma olacak dolayısı ile doğru bir GSBL tanımlanması yapılmasına olanak sağlamayacaktır (39-41).

E-Test, GSBL saptanmasında kullanılabilecek diğer pratik bir metottur. Disk kullanımına göre duyarlılığı gayet iyi düzeydedir. Uygulaması kolay olduğu için tercih edilmekte ancak, yüksek maliyetinden dolayı kullanımı sınırlanmaktadır (42,43).

Son yıllarda kromozomal kaynaklı GSBL üretimi daha sık bildirilmesine rağmen, üretimin asıl olarak plazmid kaynaklı olması, bu direncin hızla yaygınlaşmasına neden olmaktadır. Zaten GSBL' nin insan sağlığı yönünden en önemli tehditi bu hızlı yayılımı ve zamanla sıklığındaki ilerleyici artıştır (16).

Çeşitli çalışmalardan elde edilen sonuçlara göre Türkiye'de GSBL sıklığı bölgeler ve hatta hastaneler arası dahi ciddi farklılıklar göstermektedir. Ayrıca, aynı merkezde farklı zamanlarda yapılan çalışmalarda dahi farklı GSBL oranları saptanmıştır. Bunun nedeni, GSBL enzimlerinin zaman içinde hızlı yayılım göstermesi ve salgınlar yapması veya GSBL 'saptanmasında kullanılan yöntemin değiştirilmesi veya aynı yöntemin farklı standartlarla uygulanması olabilmektedir. Gülay ve ark (44), 44 *K. pneumoniae* suşunda çift disk sinerji yöntemi ile GSBL üretimini araştırmışlar ve diskler arası mesafeyi 30 mm olarak düzenlediklerinde

%57, 20 mm.,olarak düzenlediklerinde ise %87 oranında GSBL üretim sıklığı bulmuşlardır.

Abacıoğlu ve ark (45) tarafından, 1995 yılında, 34 hastane kökenli çoklu antibiyotik direnci gösteren *K. pneumoniae* suşunda çift-disk sinerji (ÇDS) yöntemi ile yapılan çalışmada suşların hepsinde (%100) GSBL varlığı saptanmıştır. Aynı yıl yine aynı araştırmacı tarafından aynı yöntemle yapılan ve 24 *K. pneumoniae* suşunun kullanıldığı çalışmada ise %62.5 oranında GSBL sıklığı bildirilmiştir (46).

Şanlıdağ ve ark (47) tarafından, 1996 yılında, 33 *K. pneumoniae* suşu arasında, ÇDS yöntemi ile yapılan araştırmada %18 oranında GSBL sıklığına rastlanmıştır. Derbentli ve ark (48) nca, 1998 yılında, 35 *K. pneumoniae* suşu arasında, ÇDS ve üç boyutlu test ile yapılan araştırmada sırasıyla %40 ve %57 oranlarında GSBL üretim sıklığı saptanmıştır.

Durmaz ve ark (49) tarafından, 2001 yılında, klebsiella ve *E. coli* suşları arasında izoelektrik odaklama yöntemi ile yapılan araştırmada %45 oranında GSBL sıklığı bulunmuştur.

Gülay ve ark. (50), bir üniversite hastanesinde yaptıkları çalışmalarında, nasokomiyal infeksiyonlardan soyutladıkları bakteriler içinde GSBL üretim oranını %84 olarak bildirilmişlerdir (50).

Tıp merkezimizde, 2000 yılında yapılan bir araştırmada, *E. coli* ve klebsiella suşlarında GSBL sıklığı % 61 oranında saptanmıştır (51).

Genişlemiş spektrumlu beta-laktamaz sıklığını bildiren dış kaynaklı çalışmalardan elde edilen sonuçlar, çalışmanın yapıldığı ülke veya coğrafi bölge, yapılan yıl ve tercih edilen yöntemlere göre ciddi farklılıklar göstermektedir.

Fransa'da farklı hastanelerden elde edilen çeşitli suşlar arasındaki GSBL üretim sıklığı %30-40 iken, toplumdan elde edilmiş suşlarda bu oran %6 olarak bildirilmiştir (40,52).

Yunanistan'da yapılan bir çalışmada, klebsiella suşlarının GSBL sıklığı % 24, *E. coli* suşlarının GSBL sıklığı ise %4 olarak saptanmıştır (53). Liu ve ark (54) tarafından 1992 yılında yapılan bir çalışmada 70 *K. pneumoniae* suşunda GSBL üretim sıklığı %16 olarak saptanmıştır.

İki bin yılı itibari ile Avrupa kıtasındaki bazı ülkelerde GSBL sıklığı: Rusya'da %50, Polonya'da %40, İtalya'da %10, İngiltere'de %5, Almanya'da %4 ve Türkiye'de %40'tır (1).

Çok merkezli bir araştırmada; yoğun bakım kökenli *K. pneumoniae* suşlarında, Portekiz'de %49, Belçika'da %31, Fransa'da %24, İtalya'da %17, Almanya'da %9 olan GSBL üretim oranı, ülkemiz için %59 olarak bildirilmiştir (55).

Amerika Birleşik Devletleri'nde, klebsiella türleri için GSBL'ye rastlama oranı %8 olarak bildirilmiştir (52). Ancak daha sonraki yıllarda yapılan çalışmalarda bu sıklığın %20'ye yükseldiği görülmektedir (23). Geniş çaplı ve çok merkezli en son çalışmalardan birinde is Birleşik devletlerde hastane kökenli *K. pneumoniae* suşlarında GSBL sıklığı %44, *E. coli* suşlarında %5 ve proteus suşlarında ise %10 olduğu gözlenmiştir (56).

Sirot ve ark (40) nın bir çalışmasında, klebsiella, enterobacter, serratia cinsleri dışında diğer *Enterobacteriaceae* ailesi üyelerinde GSBL oluşturma oranının düşük seviyelerde olduğu ve klebsiella suşlarında GSBL'lere bağlı geniş spektrumlu sefalosporin ve aztreonam direncinin 3 yıllık periyotta %11.5 'ten %15.2'ye yükseldiği bildirilmiştir.

Gioia ve Livermore'un (57) çalışmasında gerekli tedbirlerin alınması ve ciddi bir şekilde uygulanması ile birkaç yıllık bir süreçte GSBL'nin ilerleyici olarak artan sıklığında azalma sağlandığı gösterilmiştir.

Goossens ve ark (58)'nin yaptıkları veri analizi çalışmalarında 1997 ve 2000 yılları arasında GSBL sıklığının Rusya'da yaklaşık 2 kat, Türkiye'de 2 kat, Almanya'da 0.5 kat arttığı; ancak, İtalya'da 2.5 kat, Çek Cumhuriyeti'nde 0.3 kat ve İngiltere'de 0.8 kat azaldığı bildirilmiştir.

Ağır riázokomiyal salgınlara yol açan GSBL'nin hastanelerde rutin tespitinin yapılması konusunda değişik görüşler vardır. Amerika Birleşik Devletleri'nde 1998 yılında yapılan bir araştırmada, klinik mikrobiyoloji laboratuvarlarının %68'inin GSBL tanıma testlerinden herhangi birini kullanmadığı gösterilmiştir (59). Diğer taraftan, Emery ve Weymouth (60), tüm *Enterobacteriaceae* izolatlarında, GSBL saptanmasının, klinik sonuçlara etki etmediğini ve GSBL tanıma testlerinin fazladan maliyet gerektirdiği için, rutin kullanımına gerek olmadığını bildirmişlerdir. Bu çalışmada yazarlar, GSBL saptaması yapılmaksızın, disk difüzyon yöntemi ile yapılan antibiyogram sonucuna göre antibiyotik tedavisinin düzenlenmesi gerekliliğini savunmuşlardır. Ancak, ülkemizin de içinde bulunduğu çok merkezli bir çalışmada, Peterson ve arkadaşlarınca (61), GSBL üreten *K. pneumoniae* suşlarının neden olduğu bakteriyemi ve sepsis olgularında sefalosporin kullanımının %54 oranında klinik başarısızlığa neden olduğu gösterilmiştir. Kullanılan bu sefalosporinlerin, in vitro duyarlılık deneylerinde belirgin olarak etkin bulunan ajanlar olmalarına rağmen klinik kullanımda etkisiz oldukları saptanmıştır. Böylelikle, GSBL üretimine bakılmaksızın antibiyogram sonuçlarına göre antibiyoterapinin düzenlenmesinin uygun

olmayacağı ispatlanmıştır. Bu çalışmada, klinik etkinliğin, kullanılan sefalosporinin MK değeri ile yakın ilişkili olduğu belirtilmiştir. Şöyle ki, MK değerleri 2 micg/ml'den az olan antibiyotiklerin bu değerden yüksek olanlara göre klinik olarak etkin olduğu saptanmıştır.

Karbapenemler, GSBL üreten bakterilere karşı kullanılabilen en etkili antibiyotik olma özelliklerini hala devam ettirmektedir (5,58,62). Ancak hayatı tehdit edici infeksiyonlar dışında her GSBL (+) infeksiyon, karbapenem kullanımı için hedef değildir. Nitekim, GSBL enzimlerinin hastanelerde aşırı yaygınlaşması sonucu karbapenem kullanımında artış olmuştur. Son yıllarda, klinisyenler gerek ampirik gerekse profilaktik amaçla başlanan antibiyotik tedavilerinde karbapenemleri daha çok tercih etmektedirler. Bu ise, gereksiz ve yoğun karbapenem kullanımını beraberinde getirmiş ve zaman-zaman imipenem veya meropenem dirençli bakteri suşlarının neden olduğu ciddi hastane kökenli infeksiyonların gelişmesine neden olmuştur (5,28). Bu tip infeksiyonları bildiren çalışma sayısı azımsanamayacak kadar çoktur. Dolayısıyla, karbapenemlerin üstün etkinliklerinin devamını sağlamak, hastanelerde karbapenem direncinin gelişimini önlemek veya en azından geciktirmek ve daha kolay ve ucuz antibiyotik rejimlerinin kullanımını sağlamak amacı ile GSBL üreten bakterilerin yol açtığı infeksiyonların tedavisinde alternatif olabilecek antibiyotiklerin etkinliğinin belirlenmesi gereklidir. Çalışmamızda aktiviteleri sorgulanan kinolonlar, aminoglikozitler, beta-laktamaz inhibitörleri ile güçlendirilmiş beta-laktam antibiyotikler alternatif tedaviler için uygun ilaçlardır.

Üriner sistem izolatlarında in vitro duyarlı sefalosporinler ve kotrimaksazol, etkin olarak kullanılabilir (61). Diğer taraftan, piperasilin-tazobaktam kombinasyonu, GSBL (+) etkenlerin neden olduğu endokardit ve menenjit gibi ciddi infeksiyonların sağaltımında dahi başarılı bulunmuştur (63). Ancak, ne yazık ki GSBL üreten bakteri suşlarının bir çoğunun çoklu antimikrobiyal direnç genleri taşırlar (64). Yapılan bir çok istatistiksel çalışmada, GSBL pozitif suşlarının beta-laktam olmayan antibiyotik direncinin GSBL üretmeyen suşlara göre anlamlı derecede yüksek olduğu bulunmuştur (64). Bazı çalışmalarda ise GSBL üreten suşların zamanla antibiyotiklere karşı daha hızlı dirençli hale geldiği vurgulanmaktadır. Gioia ve Livermore (57), GSBL üreten izolatların antibiyotik duyarlılıklarının yıllara göre değişimini izlemiş ve birkaç yıllık süreçte; piperasilin-tazobaktam direncinin iki kat, kinolon direncinin ise yaklaşık 3-4 kat arttığını; meropenem'e karşı direnç gelişmediğini, ancak, yüksek MİK değerli (2-4 mg/ml) duyarlılığın %1 oranında ortaya çıktığını bildirmişlerdir.

Çalışmamıza göre birbirine yakın duyarlılık sonuçları bulunan amikasin ve isepamisin'in, GSBL üreten suşlara karşı oldukça etkili olduğu saptanmıştır. İsepamisin, suşların %92'sine, amikasin suşların %90'ına ve gentamisin suşların %49'una karşı etkili bulunmuştur. Çalışmamızda, gentamisin; amikasin ve isepamisine göre daha az etkin, ancak, duyarlı bulunan suşlara karşı kullanılabilecek bir antibiyotik olduğu gözlenmiştir. GSBL üretmeyen suşlara karşı bu antibiyotiğin kullanımı, daha iyi klinik sonuçlar doğurabilir. Aminoglikozitler'in, meninkslere olan düşük penetrasyonları, ayrıca nefrotoksik ve ototoksik olmaları nedeniyle, kullanımları sınırlıdır. Ancak, bazı ilaçlarla olan üstün sinerjizmleri

sayesinde, çoklu dirençli infeksiyonlarda yüz güldürücü neticeler elde edilmektedir (65).

GSBL üreten bakterilerle, üretmeyen kontrol suşlarının antibiyotik duyarlılıklarının karşılaştırıldığı bir çalışmada; aminoglikozit direncinin GSBL (+) suşlarda yaklaşık 10-20 kat, siprofloksasin direncinin ise yaklaşık 10 kat daha fazla olduğu bildirilmiştir (66).

Çalışmamızın bulguları incelendiğinde isepamisine karşı pediatri kliniğinde dirençli suş bulunmadığı görülmektedir. Buna karşın pediatrie amikasine karşı %24 düzeyinde direnç varlığı söz konusudur. Gentamisinin direnç oranı her üç klinik grubunda da diğer aminoglikozitlere göre daha yüksek bulunmuştur.

Genişlemiş spektrumlu beta-laktamaz üreten suşlara karşı etkinliği test edilen kinolonlardan siprofloksasin'in duyarlılığı %65 ve moksifloksasin'in duyarlılığı %60 olarak bulunmuştur. Yeni kullanıma girmesine rağmen moksifloksasin'in GSBL üreten suşlara karşı siprofloksasin'den daha az etkin olduğu izlenmiştir. Bunun nedeninin moksifloksasin'in Gram olumlu bakterilere veya Gram olumsuz ancak zor üreyen bakterilere karşı etkinliğinin yükseltilmiş olmasından ileri geldiği düşünülmüştür.

GSBL (+) bakterilerin kinolon duyarlılığı hakkında değişik çalışmalardan farklı sonuçlar elde edilmiştir. Bu suşlarda siprofloksasin direnci %15-80 arasında değişmektedir (64,66). SHV tip beta-laktamaz üreten bakterilerde kinolon duyarlılığının, TEM tipi enzim üretenlere göre daha iyi olduğu bildirilmiştir (64). Bu suşların aminoglikozit duyarlılık oranları da göreceli olarak daha yüksektir. Siprofloksasin ve moksifloksasin olmak

üzere her iki kinolon antibiyotiğe karşı, pediatrik izolatlardaki 2 ila 4 kat düşük direnç dikkat çekicidir.

Beta-laktamaz inhibitörlü kombinasyon antibiyotiklerin GSBL üreten bakteri suşlarına karşı olan etkinlikleri orta-düşük seviyede saptanmıştır. PTc kombinasyonu, ilginç olarak bir 3. kuşak sefalosporin+sulbaktam kombinasyonu olan CPS'e göre daha yüksek etkili olarak bulunmuştur. Bunun nedeninin piperasilin-tazobaktam kombinasyonundaki beta-laktamaz inhibitörü olan tazobaktamın, sulbaktama göre GSBL enzimlerini daha iyi hidrolize etmesi olduğu düşünülmüştür.

Cerrahi klinik izolatlarında, çalışılan tüm antibiyotiklere karşı daha yüksek antibiyotik direnci saptanmıştır. Aminoglikozitlerden isepamisin'e karşı olan direncin büyük bir kısmı cerrahi klinik izolatlarında bulunmuşken (%66), gentamisin direnci her üç klinik izolatlarında da –cerrahi izolatlarda daha yüksek olmakla birlikte- birbirine yakın bulunmuştur. Piperasilin-tazobaktam kombinasyonunun etkinliği açısından tüm klinik izolatlarında birbirine yakın direnç oranları elde edilmiştir. Diğer taraftan, cerrahi kliniklerden elde edilen siprofloksasin direnci, pediatri kliniğinden elde edilen siprofloksasin direncinden 4 kat fazladır (%40-%10). Bu sonuç moksifloksasin için de geçerlidir. Bu durum, cerrahi kliniklerde yoğun kinolon kullanımına rağmen, pediatri kliniğinde hemen-hemen hiç kinolon kullanılmayışının, kinolonların etkinliğinin bu klinikte korunmasını sağlaması ile açıklanabilir.

GSBL üreten bakterilerde beta-laktam olmayan antibiyotiklere karşı artmış bir direnç olduğu gibi, bu antibiyotikler arasında birlikte dirençlilik te bulunmaktadır (64). Çalışmamızda aminoglikozit ve kinolonlar arasında

birlikte dirençlilik oranı %39' dur (n:81). İseпамisine karşı dirençli olan 16 suşun 14'ü (tüm suşların yaklaşık %7'si) çalışılan tüm antibiyotiklere karşı dirençli olarak saptanmış iken, 13 *K. pneumoniae*, 18 *E. coli* ve 1 *Proteus mirabilis* olmak üzere toplam 32 (%15) GSBL üreten bakteri suşu çalışılan tüm antibiyotiklere karşı duyarlı bulunmuştur.

Çalışmamızda, GSBL üreten bakteri suşlarına karşı etkinlikleri ölçülen antibiyotiklerin yurt içi ve yurt dışı bazı çalışmalardan elde edilmiş duyarlılık oranları Tablo 12'de gösterilmektedir.

Tablo 9.

Yazar-Yıl	Bakteri-Sayı	GSBL (+) / (-)	Yöntem	Antibiyotikler						
				IS	AK	GM	CI	MXF	CPS	TLc
Biswas (67) 2002	<i>E.coli</i> -25 <i>Klebsiella</i> -19	GSBL(-) GSBL(-)	Mic.Dil.	%82 %63	%44 %35	-	-	-	-	-
Lautenbach (36) 2001	<i>K. pneumoniae</i> -77	GSBL(+)	Disk	-	%60	%30	%56	-	-	-
Sekowska (66) 2002	<i>K. pneumoniae</i> -93	GSBL(+)	Disk	-	%39	%23	%80	-	-	-
Thomson (68) 2001	<i>E. coli</i> -19 <i>K. pneumoniae</i> -18	GSBL(+) GSBL(+)	Mic.Dil	-	-	-	-	-	-	%77 %45
Casellas (69) 2003	<i>E. coli</i> ve <i>K. pneumoniae</i> -418	GSBL(+)	Mic.Dil	-	%96	-	%50	-	-	%70
Burgess (70) 2003	<i>E. coli</i> - <i>Klebsiella</i> -21	GSBL(+)	Disk	-	%88	%65	%68	-	-	%62
Lim (71) 2001	<i>K. pneumoniae</i>	GSBL(+)	Mic.Dil- E-test	-	-	-	-	-	%90	-
Ardıç (72) 2002	<i>E. coli</i> -31 <i>Klebsiella</i> -12	GSBL(+)	Disk	-	%75 %67	%38 %17	%34 %83	-	-	-
Kaygusuz (73) 2002	<i>E.coli</i> -334 <i>K. pnunomia</i> -73	GSBL (-)	Disk	-	-	-	%9	%10	-	-
Özyurt (74) 2002	<i>E. coli</i> -397 <i>Klebsiella</i> -137	GSBL (-)	Disk	%93 %92	%91 %85	%82 %70	-	-	-	-

Yaptığımız veri araştırmaları sonucunda genişlemiş spektrumlu beta-laktamaz üreten bakteri türlerine karşı isepamisin ve moksifloksasin duyarlılığını bildirir bir çalışmaya ulaşılamamıştır. Çalışmamızın sefoperazon-sulbaktam etkinliği hakkındaki sonuçları, Lim ve ark (71) tarafından GSBL üreten *K. pneumoniae* suşlarında bildirilen %90'lık CPS duyarlılığını desteklememiştir. Bu 3 antibiyotiğin GSBL üreten bakteri suşlarına karşı olan etkinliği bildiren geniş kapsamlı ve yeni çalışmalara gereksinin vardır. Bulduğumuz siprofloksasin (%65), amikasin (%90) ve gentamisin (%49) duyarlılığı diğer çalışmaların sonuçları ile yakınlık göstermiştir. Çalışmamızda saptanan piperasilin-tazobaktam etkinliğinin (%56) diğer çalışmalarla karşılaştırıldığında orta-düşük düzeylerde olduğu görülmüştür.

Sonuç olarak genişlemiş spektrumlu beta-laktamaz enzimleri hastanelerimizde ciddi bir sağlık problemi olarak karşımıza çıkmıştır. Bu hızlı yayılım gösteren direnç nedeni ile kullanılabilircek antibiyotiklerin sayısı ve etkinliği belirgin olarak azalmaktadır. Uygun antibiyotik kullanımının ve gerekli diğer önlemlerin alınması ile direnç sıklığının azaldığı ve dirençli suşların yayılımının yavaşlatıldığı, bir çok çalışmada bildirilmiştir (36,75,76). Bu problemin çözümlü için tek bir odağa hedeflenilirse, yeni bir direnç mekanizması ile karşılaşılacaktır (77). Hastaneler, direnç sorununa karşı geniş bir bakış açısıyla yaklaşmalı; infeksiyon kontrol komitelerinin daha etkin kılınması ve antibiyotik kullanım kurallarının uygulanmasına azami özen gösterilmesi sağlanmalıdır. Klinik mikrobiyoloji laboratuvarlarının bu sorunun çözümlündeki önemi tartışmasıdır.

8. KAYNAKLAR

1. 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.
2. Gültekin M, Ögünç D, Günseren F, Çolak D, Kırbaş İ, Mamıkoğlu L. Hastane infeksiyonu etkeni *Klebsiella pneumoniae* ve *Escherichia coli* suşlarının genişlemiş spektrumlu beta-laktamaz ve antibiyotik duyarlılık özelliklerinin araştırılması. İnfeksiyon Dergisi 1999;13:515-520.
3. Livermore DM. Beta-lactamases in laboratory and clinical resistance. Clin Microbiol Rev 1995;8:557-584.
4. Pfaller MA, Jones RN, Biedenbach DJ. Antimicrobial resistance trends in medical centers using carbapenems: report of 1999 and 2000 results from the MYSTIC program. Diagn microbiol Infect Dis 2001;41:177-182.
5. Patterson JE. Antibiotic utilization, is there an effect on antimicrobial resistance. Chest 2001;119:426-430.
6. Rice L. Evaluation and clinical importance of extended spectrum of beta-lactamases. Chest 2001;119:391-396.
7. Özsoy MF, Öncül O, Yıldırım A, Pahsa A. Genişlemiş spektrumlu beta-laktamazlar: klinik önemi ve getirdiği sorunlar. Flora 2001;6(Ek 1): 03-23.

8. Mayer KH, Opal SM, Medeiros AA. Mechanisms of antibiotic resistance, In: Mandell GL, Bennett JE, Dolin R, eds. Principles and Practice of Infectious Diseases. 4th ed. New York: Churchill Livingstone. 1995:212-224.
9. Livermore DM. Of pseudomonas, porins, pumps and carbapenems. J Antimicrob Chemother 2001;47:247-250.
10. Poirel L, Nordman P. Acquired carbapenem hydrolysing beta-lactamases and their genetic support. Curr Pharm Biotechnol 2002;3:117-127.
11. Canton R, Oliver A, Coque TM, Varella MC, Perez DJC, Baquero F. Epidemiology of extended spectrum beta-lactamase producing enterobacter isolates in a Spanish hospital during a 12 year period. J Clin Microbiol 2002; 40:1237-1243.
12. Kim YK, Hyunjoon P, Hoang JL, Su EP, Eun HC; Jungmin K, Hak JK, Eui CK. Bloodstream infections by extended spectrum beta-lactamase producing *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae* in children: epidemiology and clinica outcome. Antimicrobs Agent Chemother 2002;46:1481-1491.
13. Nordmann P, Guibert M. Extended spectrum beta-lactamases in *Pseudomonas aeruginosa*. J Antimicrob Chemother 1998;42:128-131.

14. 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.
15. Livermore DM, Brown DFJ. Detection of beta-lactamase mediated resistance. *J Antimicrob Chemother* 2001;48(Supp-1):59-64.
16. Jacoby GA, Medeiros AA. More extended spectrum beta-lactamases. *Antimicrob Agents Chemother* 1991;35:1697-1704.
17. Livermore DM, Williams JD. Mode of action and mechanism of bacterial resistance, In: Lorian M (ed.). *Antibiotics in Laboratory Medicine*. New York. Williams and Wilkins, 1996:502-578.
18. Philippon A, Arlet G, Lagrange PH. Origin and impact of plasmid-mediated extended spectrum of beta-lactamases. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 1994;13(Supp-1): 17-29.
19. Nordmann P. Trends in beta-lactam resistance among *Enterobacteriaceae*. *Clin Infect Dis* 1998;27(Suppl-1):100-106.
20. Hall LMC, Livermore DM, Gür D, Akova M, Akalin HE. OXA-11, an extended spectrum variant of OXA-10 (PSE-2) beta-lactamase from *Pseudomonas aeruginosa*. *Antimicrob Agents Chemother* 1993;37:1637-1640.

21. Gür D. Beta-laktamazların sınıflandırılması. Flora Dergisi 1996;1:80-86.
22. Sirot D, Recule C, Chaibi EB. A complex mutant of TEM-1 beta-lactamases with mutation encountered in both IRT-4 extended spectrum TEM-15 beta-lactamase produced by an *Escherichia coli* clinical isolate. Antimicrob Agents Chemother 1997;41:1322-1325.
23. Sirot D. Extended spectrum plasmid mediated beta-lactamases. J Antimicrob Chemother 1995;36 (Suppl A):19-34.
24. Akova M. Beta-laktam antibiyotikler. Beta-Laktamazlara Bağlı Antibiyotik Direnci: sorunlar ve çözüm önerileri. İstanbul. 1995.
25. Quinn, JP. Clinical significance of extended spectrum of beta-lactamases. Eur J Clin Microbiol Infect Dis 1994;13(Suppl-1);39-42.
26. Lin MF, Huang ML, Lai SH. Risk factors in the acquisition of extended spectrum beta-lactamase *Klebsiella pneumoniae*: a case control study in district teaching hospital in Taiwan. J Hosp Infect 2003;53:39-45.
27. Mayer KS, Urban C, Eagen JA. Nosocomial outbreak of klebsiella infection resistant to late generation cephalosporins. Ann Intern Med 1993;119:353-358.

28. Rahal JJ. Class restriction of cephalosporin use to control total cephalosporin resistance in nosocomial klebsiella. JAMA 1998;280:1233-1237.
29. National Committee for Clinical Laboratory Standards. Performance standards for antimicrobial disk susceptibility tests. Approved standards M2 A7. Wayne, PA: NCCLS, 2000.
30. Thomson KS, Sanders CC. Detection of extended spectrum of beta-lactamases in members of the family *Enterobacteriaceae* comparison of double disk and three dimensional test. Antimicrob Agents Chemother 1992;36:1877-1882.
31. 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.
32. 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.

33. Randegger CC, Hachler H. Real time PCR and melting curve analysis for reliable and rapid detection of SHV extended spectrum of beta-lactamases. *Antimicrob Agents Chemother* 2001;45:1736-2001.
34. Sanders CC, Barry AL, Washington JA, Shoubert C, Moland ES, Traczewski MM, Knap C, Mulder R. Detection of extended spectrum of beta-lactamase producing members of the family *Enterobacteriaceae* with the Vitec ESBL test. *J Clin Microbiol* 1996;34:2997-3001.
35. Andrews JM, Ashby JP, Jevons GM, Wise R. Tentative minimum inhibitory concentration and zone diameter breakpoints for moxifloxacin using BSAC criteria. *J Antimicrob Chemother* 1999 ;44(6):819-22.
36. Loutenbach E, Patel JB, Bilker WB, Edelstein PH, Fishman NO. Extended spectrum beta-lactamase producing *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae*: risk factors for infection and impact of resistance on outcomes. *Clin Infect Dis* 2001;32:1162-1171.
37. Kim BN, Woo JH, Kim MN, Ryu J, Kim YS. Clinical implications of extended spectrum beta-lactamase producing *Klebsiella pneumoniae* bacteremia. *J Hosp Infect* 2002;52:99-106.
38. National Committee for Clinical Laboratory Standards. Performance standards for antimicrobial disk susceptibility tests. Approved standards M2 A6. Wayne, PA: NCCLS, 1997.

39. Sirot DL. Detection of extended spectrum plasmid mediated beta-lactamases by disk-diffusion method. Clin Microbiol Infect 1996;2 (Suppl-1):35-42.
40. Sirot DL, Goldstein FW, Soussy CJ, Courtieu AL,. Resistance to cefotaxime and seven other beta-lactams in members of the family *Enterobacteriaceae*; a 3 years survey in France. Antimicrob Agents Chemother 1992;36:1677-1681.
41. Moland ES, Thompson KS. Extended spectrum beta-lactamases of *Enterobacteriaceae*. J Antimicrob Chemother 1994;33:925.
42. Cormican MG, Marshall SA, Jones RN. Detection of extended spectrum of beta-lactamase producing strains by the E-Test ESBL screen. J Clin Microbiol 1996;34:1880-1884.
43. Baker CN, Stacker SA, Culver DH, Thornsberry C. Comparison of E-Test to agar dilution, broth microdilution and agar diffusion susceptibility testing techniques by using a special challenge set of bacteria. J Clin Microbiol 1991; 29:533-539.
44. Gülay Z, Abacıoğlu H, Yuluğ N. Çift disk sinerji yönteminde diskler arası uzaklığın sonuca etkisi. Enfeksiyon Dergisi 1995;9:89-92.
45. Abacıoğlu YH, Aslani MM; Gülay Z, İnan S, Yuluğ N. Resistotyping and plasmide profile analysis of multiply resistant *Klebsiella*

- pneumoniae* strains isolated during a nosocomial outbreak. *İnfeksiyon Dergisi* 1995;9:63-66.
46. Abacıoğlu YH, Yücesoy M, Gülay Z, İnan S, Yuluğ N. Extended spectrum beta-lactamase saptanmasında E-Test ve çift disk sinerji yönteminin karşılaştırılması. *İnfeksiyon Dergisi* 1995;9:93-95.
- 47.Şanlıdağ T, Saygı G, Özçelik S, Çakır N, Çeliköz A. *Klebsiella pneumoniae* suşlarında extended board spectrum beta-laktamazların araştırılması. *Ankem Dergisi* 1996;10:120-123.
- 48.Derbentli Ş, Katrancı H, Nakipoğlu Y. Gram negatif çomaklarda genilemiş spektrumlu beta-laktamazların belirlenmesinde üç boyutlu yöntem ve çift disk sinerji yönteminin karşılaştırılması. *Ankem Dergisi* 1996; 10:1-3.
- 49.Durmaz R, Durmaz B, Koroglu M, Tekerekoglu MS. Detection and typing of extended-spectrum beta-lactamases in a clinical isolates of family *Enterobacteriaceae* in a medical center in Turkey. *Microb Drug Resist* 2001;7:171-5.
- 50.Gulay Z, Thomson CJ, Yuluğ N, Amyes SG. High prevalence of esbl among *Klebsiella pneumoniae* strains isolated at an university hospital in Turkey. *J Chemother* 2000 ;12:145-52.
- 51.Demirdağ K, Kizirgil A, Özden M, Kalkan A, Felek S, Toraman ZA. Hastane ve toplum kökenli *Klebsiella pneumoniae* ve *Escherichia coli*

suşlarında genişlemiş spektrumlu beta-laktamaz sıklığının araştırılması. *Ankem Dergisi* 2001; 15: 748-752.

52. Livermore DM. Beta-lactamases in laboratory and clinical resistance. *Clin Microbiol Rev* 1995;8:557-584.

53. Vatopoulos A, Philippon A, Tzouveleakis LS, Komninou Z, Legakis NJ. Prevalence of a transferable SHV-5 type beta-lactamases in clinical isolates of *Klebsiella pneumoniae* and *Escherichia coli* in Greece. *J Antimicrob Chemother* 1990;26:635-648.

54. Liu PP, Gür D, Hall LMC, Livermore DM. Survey of prevalence of beta-lactamases amongst 1000 Gram negative bacilli isolated consecutively at the royal London hospital. *J Antimicrob Chemother* 1992;30:429-447.

55. Livermore DM, Yuan M. Antibiotic resistance and production of ESBL among *Klebsiella spp.* from intensive care units in Europe. *J Antimicrob Chemother* 1996; 38: 409-415.

56. Saurina G, Quale JM, Manikal VM, Oydna E, Landman D. Antimicrobial resistance in *Enterobacteriaceae* in brooklyn, ny: epidemiology and relation to antibiotic usage patterns. *J Antimicrob Chemother* 2000;45:895-898.

57. Gioia SB, Livermore DM. Antimicrobial resistance among *Klebsiella spp* collected from intensive care unites in southern and western

- Europe in 1997-98. *Journal of Antimicrobial and Chemotherapy* 2000;45:183-189.
58. Goossens H. MYSTIC Program: summary of European data from 1997 to 2000. *Diagn Microbiol Infect Dis* 2001;41:183-189.
59. Centers for Disease Control and Prevention. Laboratory capacity to detect antimicrobial resistance. *Morbidity and Mortality Weekly Report* 2000;48:1167-1171.
60. Emery CL, Weymouth LA. Detection and clinical significance of extended-spectrum beta-lactamases in a tertiary-care medical center. *J Clin Microbiol* 1997; 8:2061-2067.
61. Peterson DL, Ko WC, Gottberg AV, Casellas JM, Mulazimoglu L, Klugman KP, Bonomo RA, et al. Outcome of cephalosporin treatment for serious infections due to apparently susceptible organisms producing extended-spectrum beta-lactamases: implications for the clinical microbiology laboratory. *J Clin Microbiol* 2001;6:2206-2212.
62. Wang H, Chen M, Wei X, Xu Y, Zhang X, Zhang Y, Yuan 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.
63. Leleu G, Kitzis MD, Vallois JM, Gutman L, Decazes JM. Different ratios of the piperacillin-tazobactam combination for the treatment of experimental meningitis due to *Klebsiella pneumoniae* producing

the TEM-3 extended-spectrum beta-lactamases. *Antimicrob Agents Chemother* 1994;38:195-199.

64. Spanu T, Luzzaro F, Perilli M, et al. Occurrence of ESBLs in members of the family *Enterobacteriaceae* in Italy: implications for resistance to beta-lactams and other antimicrobial drugs. *Antimicrob Agents Chemother* 2002; 46:196–202.

65. Le T, Bayer AS. Combination antibiotic therapy for infective endocarditis. *Clin Infect Dis* 2003;36:615-621.

66. Sekowska A, Janicka J, Klyszejko C, Wojda M, Wroblewski M, Szymankiewicz M. Resistance of *Klebsiella pneumoniae* strains producing and not producing ESBL type enzymes to selected non-beta-lactam antibiotics. *Med Sci Monit* 2002; 3: 100-104.

67. Biswas SK, Kelkar RS. In vitro comparative evaluation of aminoglycosides at a cancer centre. *Indian J Cancer* 2002;39:135-138.

68. Thomson KS, Moland ES. Cefepime, piperacillin-tazobactam, and the inoculum effect in tests with extended-spectrum beta-lactamase-producing *Enterobacteriaceae*. *Antimicrob Agents Chemother* 2001;45:3548-3554.

69. Casellas JM, Tome G, Bantar C, Bertolini P, Blazquez N, Borda N, Couto E, et al. Argentinean collaborative multicenter study on the in vitro comparative activity of piperacillin-tazobactam against selected

bacterial isolates recovered from hospitalized patients. *Diagn Microbiol Infect Dis* 2003;47: 527- 537.

70. Burgess DS, Hall RG 2nd, Lewis JS 2nd, Jorgensen JH, Patterson JE. Clinical and microbiologic analysis of a hospital's extended-spectrum beta-lactamase-producing isolates over a 2-year period. *Pharmacotherapy* 2003; 23:1232-1237.

71. Lim VK, Halijah MY. In vitro activity of sulperazon against recent isolates of ceftazidime-resistant bacteria. *Med J Malaysia* 2001;56:365-369.

72. Ardiç N, Erdemoğlu A, Sezer O, Kurukuyu T, Özyurt M. Yatan hastalara ait çeşitli klinik örneklerden izole edilen *K. pneumoniae* ve *E. coli* suşlarında GSBL oranları ve bunların çeşitli antibiyotiklere in vitro duyarlılıklarının araştırılması. 30. Türk Mikrobiyoloji Kongresi Ekim 2002.Kemer. Bildiri Kitabı Sayfa:345. P12-60.

73. Kaygusuz S, Özlük Ö, Kılıç E, Ayaşoğlu A, Yıldırım A. Moksifloksasinin Gram olumlu ve olumsuz bakterilere karşı etkinliğinin siprofloksasin ile karşılaştırılması. 30. Türk Mikrobiyoloji Kongresi Ekim 2002.Kemer. Bildiri Kitabı Sayfa:343. P12-52.

74. Özyurt M, Erdemoğlu N, Ardiç N, Sezer O, Kurukuyu T. İdrar yolu etkeni Gram olumsuz bakterilerin isepamisin, amikasin ve gentamisin duyarlılıkları. 30. Türk Mikrobiyoloji Kongresi Ekim 2002.Kemer. Bildiri Kitabı Sayfa:346 P12-62.

75. Gültekin M, Ögünç D, Günseren F, Çolak D, Kırbaş İ, Mamıkoğlu L. Hastane infeksiyonu etkeni *Klebsiella pneumoniae* ve *Escherichia coli* suşlarının genişlemiş spektrumlu beta-laktamaz ve antibiyotik duyarlılık özelliklerinin araştırılması. İnfek Dergisi 1999;13:515-520.
76. Rice LB, Eckstein EC, De Vente J. Ceftazidim resistant *Klebsiella pneumoniae* isolates recovered at the Cleveland department of veterans affair medical center. Clin Infect Dis 1996;23:118-124.
77. Livermore DM. Bacterial resistance: origins, epidemiology, and impact. Clin Infect Dis 2003;36 (Suppl-1): 11-23.



9. ÖZGEÇMİŞ

20 Nisan 1975 tarihinde Malatya'nın Hekimhan ilçesinde doğdum. İlk öğrenimimi Hekimhan Sakaraya İlk okulunda, orta ve lise öğrenimimi Hekimhan Lisesi'nde tamamlayarak 1992 yılında mezun oldum.

Aynı yıl girdiğim üniversite sınavında İnönü Üniversitesi Tıp Fakültesini kazandım. Bir yıl İngilizce hazırlık sınıfı ile birlikte toplam 7 yıllık eğitimimi 20 Temmuz 1999 tarihinde tamamlayıp tıp doktoru olarak mezun oldum.

9 Eylül 1999 tarihinde Ardahan ili Hanak ilçesinde pratisyen hekim olarak meslek hayatıma başladım. 11 ay bu görevde çalıştıktan sonra Nisan 2000 tarihinde yapılan tıpta uzmanlık sınavını kazanarak Fırat Üniversitesi Tıp Fakültesi Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji Ana bilim dalına araştırma görevlisi olarak atandım.

Halen bu göreve devam etmekteyim.

Evli ve 1 çocuk babasıyım.