

157945

T.C
HACETTEPE ÜNİVERSİTESİ
MİKROBİYOLOJİ VE KLİNİK MİKROBİYOLOJİ ANABİLİM DALI

İÇ HASTALIKLARI YOĞUN BAKIM ÜNİTESİNDE YATAN
HASTALARDA GENİŞLETİLMİŞ SPEKTRUMLU
BETA- LAKTAMAZ (GSBL) ÜRETEN
KLEBSİELLA PNEUMONİAE VE *ESCHERİCHİA COLİ*
İLE KOLONİZASYONUN SAPTANMASI

Dr. Gökhan Metan

Enfeksiyon Hastalıkları ve Klinik Mikrobiyoloji

UZMANLIK TEZİ

Olarak Hazırlanmıştır

ANKARA

2004

T.C
HACETTEPE ÜNİVERSİTESİ
MİKROBİYOLOJİ VE KLİNİK MİKROBİYOLOJİ ANABİLİM DALI

İÇ HASTALIKLARI YOĞUN BAKIM ÜNİTESİNDE YATAN
HASTALARDA GENİŞLETİLMİŞ SPEKTRUMLU
BETA- LAKTAMAZ (GSBL) ÜRETEN
KLEBSIELLA PNEUMONIAE VE *ESCHERİCHİA COLI*
İLE KOLONİZASYONUN SAPTANMASI

Dr. Gökhan Metan
Enfeksiyon Hastalıkları ve Klinik Mikrobiyoloji
UZMANLIK TEZİ
Olarak Hazırlanmıştır
Danışman Öğretim üyesi : Prof. Dr. Cumhuri Özkuyumcu

ANKARA
2004

TEŞEKKÜR

Bu tez çalışmasının yapılması sırasında bilgi birikimi ve deneyimlerini esirgemeyen Prof. Dr. Cumhuri Özkuyumcu'ya teŐekkürlerimi sunarım. Ayrıca katkıları nedeniyle Prof. Dr. Serhat Ünal, Prof. Dr. GülŐen HaŐelik, Doç. Dr. Arzu Topeli İskit, Yrd. Doç. Dr. Özgen Köseođlu Eser ve Uz. Dr. Dolunay Gülmez'e teşekkür ederim.



ÖZET

Genişletilmiş spektrumlu beta-laktamaz (GSBL) üreten bakteriler hastane kaynaklı enfeksiyonların önemli bir nedenidir. Hastaların bu bakterilerle kolonize olduğunu gösteren birçok çalışma bulunmasına rağmen, bilinen bir salgın olmaksızın kolonizasyonun erken dönemde tespitine yönelik sürveyans çalışmalarının maliyeti ve etkinliği yeterince değerlendirilmemiştir.

Bu çalışmada yedi aylık bir periyot içerisinde İç Hastalıkları Yoğun Bakım Ünite'sinde (YBÜ) tedavi gören 100 hasta GSBL üreten *Klebsiella pneumoniae* ve *Echerichia coli* ile kolonizasyon gelişimi açısından düzenli aralıklarla boğaz ve rektal sürüntü örnekleri alınarak izlendi. Bu hastalardan Klinik Patoloji Laboratuvarında izole edilen *Enterobacteriaceae* ailesine ait tüm bakteriler GSBL üretimi açısından test edildi. Kolonizasyon ve enfeksiyon hastalığı gelişimi açısından risk faktörlerini belirlemek amacıyla, bütün hastaların klinik verileri YBÜ'sindeki yatış süreleri boyunca kaydedildi. Kolonizasyon ve enfeksiyon hastalığı etkeni olarak izole edilen GSBL üreten bakteriler 'Enterobacterial Repetitive Intergenic Consensus PCR' (ERIC-PCR) yöntemiyle genotipik benzerlik açısından değerlendirildi.

Hastaların %22'sinde GSBL üreten *K. pneumoniae* ve *E. coli* ile kolonizasyon tespit edilirken, hastaların %7'sinde bu bakterilerle enfeksiyon hastalığı geliştiği saptandı. Hastaların hiçbirisinde kolonizasyon olmaksızın GSBL üreten *Enterobacteriaceae* ile enfeksiyon hastalığı gelişimi saptanmadı. Sefalosporin kullanımı ve mekanik ventilatör uygulaması kolonizasyon gelişimi açısından risk faktörleri olarak bulunurken; YBÜ'si öncesi hastanede yatış öyküsü, kolonizasyonun erken dönemde gelişmesi ve kadın cinsiyeti enfeksiyon hastalığı gelişimi açısından risk faktörleri olarak tespit edildi. Kullanılan laboratuvar yöntemine göre değişmek üzere, GSBL üreten *K. pneumoniae* ve *E. coli* ile kolonizasyon tespiti amacıyla yapılacak sürveyans çalışmasının 18-70 milyar TL ek maliyet oluşturacağı hesaplandı.

İzole edilen bakterilerin genotipik benzerliklerini değerlendirmek amacıyla yapılan ERIC-PCR sonucu *K. pneumoniae* suşları için 6 farklı genotip, *E. coli* suşları içinse 9 farklı genotip tespit edildi. Hastalardan kolonizasyon ve enfeksiyon hastalığı etkeni olarak izole edilen suşların ve aynı dönem içerisinde yoğun bakım ünitesinde tedavi gören hastalardan

izole edile suşların benzer genotipe sahip olduğu saptandı. Hastalar arasında küçük çaplı salgınlar olsa da, bunun uygulanan rutin temas önlemleriyle engellenebildiği görüldü.

Anahtar sözcükler : Genişletilmiş spektrumlu beta-laktamaz, *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, maliyet-etkinlik, sürveyans, Yoğun Bakım Ünitesi, kolonizasyon, ERIC-PCR

Destekleyen kurumlar : Hacettepe Üniversitesi Bilimsel Araştırmalar Birimi (Proje no: LUT 02/33)



ABSTRACT

Extended spectrum beta-lactamase (ESBL) producing bacteria are the important causes of nosocomial infections. Although there are studies on the fecal colonization with ESBL producing bacteria there are few studies evaluating cost-effectivity for early detection of ESBL producing bacteria colonization in the absence of a clonal outbreak.

In this study 100 patients who were treated in Internal Medicine Intensive Care Unit from August 2002 to February 2003 were screened for ESBL producing *Klebsiella pneumoniae* and *Echerichia coli* by obtaining pharyngeal and rectal swab specimens. During this period all *Enterobacteriaceae* from those patients that were isolated as a cause of infectious disease were also tested for ESBL production. Prospective clinical data were collected to determine the risk factors for colonization and development of infectious disease. 'Enterobacterial Repetitive Intergenic Consensus PCR' (ERIC-PCR) was performed for genetic diversity.

Of the 100 patients 22% were found to be colonized and 7% of them developed infectious diseases. None of the patients developed infectious disease without colonization. Use of cephalosporins and mechanical ventilation was found as risk factors for colonization and previous hospitalization before intensive care unit, early colonization and female sex were found as risk factors for the development of infections. The annual cost for the surveillance of ESBL producing *K. pneumoniae* and *E. coli*, was estimated as 18-70 billion TL, depending on the choice type of laboratory methods.

With ERIC-PCR 6 different genotypes for *K. pneumoniae* and 9 different genotypes for *E. coli* were detected. The isolates that were the causative agents of infections were found genetically identical and the strains that were isolated from patients who shared intensive care unit in the same period were genetically identical. Although there were small outbreaks, standard precautions would be sufficient to prevent these outbreaks.

Key words: Extended spectrum beta-lactamase (ESBL), *Klebsiella pneumoniae*, *Echerichia coli*, cost-effectivity, surveillance, intensive care unit, colonization, ERIC-PCR

Supported by: Hacettepe University Scientific Research Unit (Project no: LUT 02/33)

ETİK KURUL İZİNİ:

Bu çalışma için Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi, cerrahi ve ilaç araştırmaları etik kurulundan gerekli izin alınmıştır.

Karar tarihi: 30/05/2002

Karar no: LUT 02/33-7



İÇİNDEKİLER:

	Sayfa
Teşekkür	iii
Özet	iv
Abstract	vi
Etik kurul izni	vii
İçindekiler	viii
Simgeler ve Kısaltmalar	Xi
Şekiller	Xii
Tablolar	Xiii
Resimler	Xiv
Giriş	1
Genel Bilgiler	3
2.1 Tarihçe	3
2.2 GSBL enzimlerin isimlendirilmesi	4
2.3 GSBL enzimlerin fonksiyonel ve moleküler sınıflandırılması	4
2.4 GSBL tipleri	6
2.5 GSBL saptanmasında kullanılan yöntemler	6
2.5.1 Çift disk sinerji yöntemi	7
2.5.2 Kombine diskler yöntemi	7
2.5.3 Üç boyutlu yöntem	7
2.5.4 E-test GSBL stripleri	8
2.5.5 Otomatize sistemler	8
2.6 GSBL üretiminin saptanmasının klinik önemi	9
2.7 Epidemiyoloji	9
2.8 Tedavi	11
2.9 Korunma	13
Gereç ve yöntem	14
3.1 Çalışmanın yapıldığı bölüm	14
3.2 Epidemiyolojik yöntem	14
3.3 Tanımlar	14

	Sayfa
3.4 Bakteri izolasyonu	15
3.5 GSBL üretiminin tespiti	16
3.6 Bakterilerin tanımlanması	18
3.7 Antibiyotik duyarlılık testleri	18
3.8 Genotipik benzerliğin araştırılması	19
3.9 İstatistiksel değerlendirme	21
3.10 Maliyet hesaplaması	21
Bulgular	22
4.1 Laboratuvar bulguları	22
4.1.1 Kültürlerin değerlendirilmesi	22
4.1.2 GSBL üretiminin değerlendirilmesi	23
4.1.3 Antibiyotik duyarlılık testleri	27
4.1.4 Genotipik benzerlik	28
4.2 Risk faktörlerinin analizi	33
4.2.1 Yaş	33
4.2.2 Cinsiyet	33
4.2.3 Yatış süresi	34
4.2.4 Yoğun bakım ünitesi öncesi hastane yatış öyküsü	34
4.2.5 Mekanik ventilatör kullanımı	35
4.2.6 Santral venöz kateter kullanımı	35
4.2.7 Hemodiyaliz	36
4.2.8 APACHE 2 skoru	36
4.2.9 Steroid kullanımı	36
4.2.10 Sefalosporin kullanımı	37
4.2.11 Altta yatan hastalık	37
4.2.12 Kolonizasyon	38
4.2.13 Kolonizasyon gelişme süresi	38
4.2.14 Mortalite	38
4.3 Maliyet hesaplaması	40

4.3.1 Laboratuvar testlerinin maliyeti	40
4.3.2 Hasta bakım maliyeti	41
Tartışma	43
Kaynaklar	54



SİMGELER VE KISALTMALAR

AP-PCR	‘Arbitarily-primed PCR’
ATCC	‘American Type Culture Collection’
°C	Celcius derecesi
CAZ	Seftazidim
CRO	Seftriakson
CTX	Sefotaksim
DATP	Deoksiadenin trifosfat
dCTP	Deoksisitozin trifosfat
dGTP	Deoksiguanozin trifosfat
DNA	Deoksiribonükleik asit
DTA	Derin trakeal aspirat
DYBÜ	Dahiliye yoğun bakım ünitesi
EDTA	Etilendiamin-tetra-asetik-asit
ERIC-PCR	‘Enterobacterial Repetitive Intergenic Consensus PCR’
GSBL	Genişletilmiş spektrumlu beta-laktamaz
H.Ü.T.F	Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi
MgCl ₂	Magnezyum klorür
MİK	Minimal inhibitör konsantrasyon
MİK50	Test edilen suşların %50’sinin üremesini inhibe eden MİK değeri
MİK90	Test edilen suşların %90’ının üremesini inhibe eden MİK değeri
µl	Mikrolitre
ml	Mililitre
mM	Milimol
NCCLS	Amerikan Ulusal Klinik Laboratuvar Standartları Komitesi
PCR	Polimeraz zincir tepkimesi
TAE	Tris-Asetat EDTA tamponu
Taq	Thermus aquaticus
TE	Tris, EDTA
Tris	Trihidroksietanolamin
UVP	Ultraviyole transluminatör

ŞEKİLLER

Şekil no	Sayfa
4.1 İzole edilen GSBL üreten <i>K. pneumoniae</i> suşlarının agaroz jel elektroforezi sonrası görüntüsü	29
4.2 İzole edilen GSBL üreten <i>E. coli</i> suşlarının agaroz jel elektroforezi sonrası görüntüsü	31
4.3 İzole edilen <i>E. coli</i> suşlarının agaroz jel elektroforezi sonrası görüntüsü	32



TABLOLAR

Tablo no	Sayfa
2.1 β -laktamazların sınıflandırması	5
4.1 Klinik patoloji laboratuvarına gönderilen örneklerden izole edilen enterik bakteriler	23
4.2 GSBL üreten bakterilerle kolonize olan hastalarda izole edilen bakterilerin türleri ve kolonizasyon tespiti sonrası enfeksiyon hastalığı gelişimi	24
4.3 GSBL üreten <i>E. coli</i> izole edilen hastalarda kolonizasyonun saptandığı örnekler ve saptanma günleri	25
4.4 GSBL üreten <i>K. pneumoniae</i> izole edilen hastalarda kolonizasyonun saptandığı örnekler ve saptanma günleri	26
4.5 GSBL üreten <i>K. pneumoniae</i> suşlarının seftazidim, sefotaksim, seftriakson MİK aralıkları	27
4.6 GSBL üreten <i>E. coli</i> suşlarının seftazidim, sefotaksim, seftriakson MİK aralıkları	28
4.7 GSBL üreten <i>K. pneumoniae</i> izolatlarının genotipik benzerlikleri	29
4.8 GSBL üreten <i>E. coli</i> izolatlarının genotipik benzerlikleri	30
4.9 Kolonizasyon açısından risk faktörlerinin değerlendirilmesi	39
4.10 Kolonize hastalarda enfeksiyon hastalığı gelişimi açısından risk faktörlerinin değerlendirilmesi	37

RESİMLER

Resim no	Sayfa
3.1 Çift disk sinerji testi 100 no'lu hastadan izole edilen <i>K. pneumoniae</i> suşunda uygulandığında, klavulanik asit difüzyonu sonucu oluşan inhibisyon zonları	17



GİRİŞ

Antibiyotiklere karşı direncin tarihi, antibiyotiklerin klinikte kullanılması kadar eskidir. Son yüzyılda tıpta birçok gelişme yaşanmış, enfeksiyon hastalıklarının tedavisinde antibiyotiklerin kullanımıyla beraber bakteriyel enfeksiyonların tedavisinde önemli başarılar sağlanmıştır. Ancak yoğun ve doğru olmayan antibiyotik kullanımı, beraberinde antibiyotiklere karşı ciddi bir direnç sorununu getirmiştir.

Antibiyotiklere karşı gelişen dirençte, ilacın enzimatik yollarla etkisiz hale getirilmesi en sık karşılaşılan mekanizmalardan biridir. β -laktam antibiyotiklerin β -laktamaz enzimleriyle hidrolizi de bunun en iyi örneğidir. β -laktamaz enzimleri, yapısında β -laktam halkasını bulunduran antibiyotiklerin yaygın olarak kullanıma girmesiyle önce *stafilokok* türlerinde daha sonra pekçok Gram negatif bakteride rapor edilmiştir. Günümüzde β -laktam antibiyotiklerin tamamı, 350'den fazla β -laktamazın bir veya birkaçı ile hidrolize edilerek etkisiz hale getirilebilir (1).

Genişletilmiş spektrumlu β -laktamaz (GSBL) üreten *Klebsiella pneumoniae* ile oluşan hastane kaynaklı enfeksiyon salgınları 1980'lerden itibaren tüm dünyadan yaygın olarak bildirilmeye başlanmıştır (2). Batı ve Güney Avrupa'dan 35 yoğun bakım ünitesinin dahil edildiği bir çalışmada, *Klebsiella* türlerinde GSBL üretimi %23 olarak bulunmuş (3), ülkemizde 8 yoğun bakım ünitesinden izole edilen Gram negatif bakterilerin duyarlılık profillerinin değerlendirildiği bir çalışmada ise, *Klebsiella* türleri için GSBL üretimi %56,6 olarak rapor edilmiştir (4). Yoğun bakım ünitelerinde GSBL üreten *K. pneumoniae* enfeksiyonlarının görülme oranının bu kadar yüksek olması araştırmacıları enfeksiyon hastalığı gelişimi öncesi bu bakterilerle kolonizasyonun tespitine yönelik çalışmalara yönlendirmiştir. Pena ve arkadaşları yoğun bakım ünitesinde 4 aylık bir süre içerisinde 188 hastayı haftalık rektal sürüntü örnekleriyle taradıklarında rektal kolonizasyon oranını %38 olarak bulmuştur (5).

Bu alışmada 1 Ağustos 2002 ile 28 Şubat 2003 tarihleri arasında İç Hastalıkları Ana Bilim Dalı Yoğun Bakım Ünitesi'nde yatan 100 hastada GSBL üreten *K. pneumoniae* ve *Escherichia coli* ile kolonizasyon ve enfeksiyon hastalığı gelişimi oranları, risk faktörleri ve bu amaçla yapılacak sörveyans çalışmasının maliyet etkinliği araştırılmıştır.



GENEL BİLGİLER

2.1. Tarihçe

β -laktamaz enzimi ilk olarak 1929'da Fleming tarafından gündeme getirilmiş, penisilinlerin bazı bakterilerin üremesine engel olmadığı bildirilmiştir. 1940 yılında ise Abraham ve Chain, *E. coli*'den elde ettikleri ekstrenin penisilin etkisini ortadan kaldırdığını göstermişlerdir. 1944'de Kirby, penisilin dirençli stafilokoklarda penisilinaz enzimi bulunduğunu ortaya koymuş ve 1960'lı yıllara kadar β -laktamazlar üzerindeki çalışmalar plasmid aracılığıyla geniş yayılım alanı bulan stafilokoksik β -laktamaz enzimleri üzerinde yoğunlaşmıştır. 1960'lardan sonra ise yarı sentetik penisilinler, metisilin ve 1.kuşak sefalosporinlerin klinik kullanıma girmesiyle beraber araştırmalar Gram negatif bakterilerin β -laktamazları üzerine çevrilmiştir (6).

Gram negatif bakterilerin birçoğunun doğal yapısında kromozomal olarak kodlanan β -laktamaz enzimleri bulunur. Bu grup için ilk plasmid kökenli β -laktamaz TEM-1, 1960'ların başında Yunanistan'da Temoniera isimli hastanın kan kültüründe izole edilen *E. coli*'de saptanmıştır (7). TEM-1 plasmid ve transpozonlar aracılığıyla kısa sürede *Enterobacteriaceae* ailesinin farklı üyelerine, *Pseudomonas aeruginosa*, *Haemophilus influenza* ve *Neisseria gonorrhoeae*'ye yayılmıştır. Kısa süre sonra *K. pneumoniae* için genelde kromozomal kökenli, *E. coli* içinse plasmid kökenli olan bir başka β -laktamaz SHV-1 (sülfidril değişken) tanımlanmıştır. Sonraki 20 yıl içerisinde yeni β -laktam antibiyotikler kullanıma girmiş, ancak yeni antibiyotiklerin kontrolsüz kullanımı ve seçici baskısı sonucu, yeni β -laktamaz enzimleri saptanmaya başlanmıştır (7).

1980'lerin başlarında 'oxyimino-sefalosporinlerin' (sefotaksim, seftriakson ve seftazidim) kullanıma girmesinden hemen sonra Almanya'da izole edilen bir *Klebsiella ozaenae* suşunda yeni β -laktamları hidrolize eden SHV-2 enzimi bildirilmiştir (8). 'Oxyimino-sefalosporinleri' ve aztreonamı hidrolize edebilme yetenekleri nedeniyle bu gruptaki enzimlere genişletilmiş

spektrumlu β -laktamazlar ismi verilmiştir. Günümüze kadar yüz ellinin üzerinde GSBL enzimi *Enterobacteriaceae* ailesinin farklı üyelerinde ve *P. aeruginosa*'da bildirilmiştir (7).

2.2 GSBL enzimlerin isimlendirilmesi

Enzimlerin isimlendirilmesinde hasta isimleri (TEM), izole edildikleri bakteri (CME,PSE,SFO), tercih ettikleri substrat (OXA), biyokimyasal yapıları (SHV) kullanılmış; son yıllarda sayısı süratle artan TEM türevi enzimlere CAZ (seftazidimaz), CTX (sefotaksimaz) gibi isimler verilmiştir (6,7).

2.3 GSBL enzimlerin fonksiyonel ve moleküler sınıflandırması

β -laktamazlar Ambler tarafından moleküler yapılarına göre, Richmond ve Sykes tarafından ise substrat profilleri ve β -laktamazı kodlayan genin lokalizasyonuna göre sınıflandırılmış, ancak her iki sınıflandırma da artan β -laktamaz sayısı ve çeşitliliği karşısında yetersiz kalmıştır. En son 1995 yılında Bush, Jacoby ve Mederios tarafından enzimin biyokimyasal özellikleri, moleküler yapısı ve β -laktamaz yapımını sağlayan genin nükleotid sekans yapıları göz önüne alınarak yeni bir sınıflandırma yapılmıştır (9). Bu sınıflandırmaya göre GSBL'lar 'oxymino-sefalosporinleri' ve aztreonamı hidrolize eden, klavulanik asit ile inhibe olan, aktif bölgesinde serin taşıyan moleküler sınıflandırmaya göre A grubunda, Bush'un fonksiyonel guruplandırmasına göre 2be grubunda enzimlerdir (9).

Tablo 2.1: β -laktamazların sınıflandırması (1)

Fonksiyonel Grup	Majör alt grup	Moleküler grup	Bu gruptaki β -laktamazların genel özellikleri	Saptanan enzim sayısı 1995 / 2000	
1		C	Genelde gram negatif bakterilerde kromozomal olarak bulunurlar. Ancak plasmidler tarafından da kodlanabilirler. Klavulanik asit ile inhibe olmazlar.	32	51
2		A,D	Genelde klavulanik asit ile inhibe olurlar	136	256
	2a	A	Stafilokokal ve enterokokal penisilinazlar	20	23
	2b	A	Gram negatif bakterilerin β -laktamazları (TEM-1, SHV-1,...)	16	16
	2be	A	'Oximino-sefalosporinler' ve monobaktamları parçalayan GSBL enzimleri	36	119
	2br	A	İnhibitör dirençli β -laktamazlar	9	24
	2c	A	Karbenisilini hidrolize eden enzimler	15	19
	2d	D	Kloksasilini hidrolize ederler, klavulanik asit ile zayıf inhibe olurlar.	18	31
	2e	A	Klavulanik asit ile inhibe olan sefalosporinazlar	19	20
	2f	A	Aktif bölgelerinde serin bulunur. Karbapenemleri hidrolize ederler. Klavulanik asit ile inhibe olurlar.	3	4
3	3a,3b,3c	B	Karbapenemleri ve monobaktamlar hariç tüm β -laktamazları hidrolize ederler. Klavulanik asit ile inhibe olmazlar.	13	24
4		?	Sekans analizleri yapılamamış, diğer gruplara girmeyen β -laktamazlar	7	9

2.4 GSBL tipleri

GSBL'ların çoğu TEM ve SHV enzimlerinin türevleridir (10). Bugün 90'ın üzerinde TEM tipi, 25'in üzerinde SHV tipi GSBL tanımlanmıştır. TEM tipleri daha çok *E. coli* ve *K. pneumoniae*'da, SHV tipleri ise daha çok *K. pneumoniae*'da bildirilmiş olmakla beraber, bütün *Enterobacteriaceae* ailesinde ve *P. aeruginosa*'da saptanmıştır (7). Bu enzimlerin yanı sıra CTX-M tipi enzimler *E.coli* ve *Salmonella enterica serovar typhimurium*'da (11,12), OXA tipi enzimler *P. aeruginosa*'da (13), PER-1 tipi enzimler önce *P. aeruginosa*'da (14) sonrasında ise *Salmonella enterica serovar typhimurium* ve *Acinetobacter baumannii*'de (15,16), TLA-1 tipi enzim *E. coli*'de (17), CME-1 tipi enzim *Chryseobacterium meningosepticum*'da (18), GES-1 tipi enzim ise *Proteus mirabilis*'te tanımlanmıştır (19).

2.5 GSBL saptanmasında kullanılan yöntemler

GSBL üreten bakterilerin görülme sıklığındaki artış bu enzimleri kesin olarak tanımlayabilecek laboratuvar testlerine olan ihtiyacı da artırmıştır. Genelde GSBL üreten bakteriler bir veya birden fazla 'oxyimino-sefalosporin' veya aztreonama direnç gösterirken, enzim her zaman bu antibiyotiklerin tamamı için minimal inhibitör konsantrasyonu (MİK) Amerikan Ulusal Laboratuvar Standartlarına (NCCLS) göre dirençli olarak yorumlatacak kadar yükseltmeyebilir (20,21). Dünya Sağlık Örgütü'nün kısa süre önce yaptığı bir çalışmada, disk difüzyon yöntemi ile antibiyogram yapan laboratuvarların %5'inin GSBL üreten bakterileri bütün sefalosporinlere karşı duyarlı olarak rapor ettiği bildirilmiştir (22). Bu durum göz önüne alındığında GSBL tespitinin ayrı bir önem taşıdığı görülmektedir. GSBL saptanması amacıyla geliştirilen başlıca yöntemler şunlardır:

2.5.1 Çift disk sinerji yöntemi

Kirby-Bauer disk difüzyon yöntemini temel alan çeşitli yöntemler geliştirilmiştir. Bunlardan ilki Jarlier ve ark. tarafından geliştirilen çift disk sinerji yöntemidir (23). Bu yöntemde 0,5 McFarland bulanıklığında hazırlanmış bakteri süspansiyonu Mueller-Hinton agar üzerine yayılır. Amoksisilin-klavulanik asit içeren disk besiyerinin merkezine, 'oxyimino-sefalosporinler' ve aztreonam ise merkezden merkeze olan uzaklık 30 mm olacak şekilde yerleştirilir. Amoksisilin-klavulanik asit diskindeki klavulanik asit agara difüze olur ve 'oxyimino-sefalosporinler' veya aztreonam etrafındaki β -laktamazı etkisiz hale getirir. Bunun sonucunda oluşan inhibisyon zonundaki genişleme pozitif sonuç olarak kaydedilir (23). Yapılan çalışmalarda testin duyarlılığının diskler arası mesafenin 20 mm'ye düşürülerek artırılacağı gösterilmiştir (24,25).

2.5.2 Kombine disk yöntemi

Bu yöntem seftazidim (30 μ g) veya sefotaksim (30 μ g) içeren disklerin inhibisyon zon çapı ile bu antibiyotiklere klavulanik asit eklendiğinde oluşan inhibisyon zon çapının karşılaştırılması ilkesine dayanır. *K. pneumoniae*, *K. oxytoca* ve *E. coli* için seftazidim-klavulanik asit (30/10 μ g) veya sefotaksim-klavulanik asit (30/10 μ g) ile test edildiğinde inhibisyon zonunda bu antibiyotikler tek başlarına test edildiğinde elde edilen inhibisyon zonundan 5 mm veya daha fazla genişleme olması GSBL üretimi açısından pozitif sonuç kabul edilmektedir (26).

2.5.3 Üç boyutlu yöntem

GSBL tespitinde bir başka yöntem ise Thomson ve Sanders tarafından tanımlanan üç boyutlu yöntemdir (24). Test edilecek bakteri besiyeri üzerine steril bir eküvyon aracılığıyla yayıldıktan sonra agar üzerinde bir kesi yapılarak buraya buyyon içerisinde süspanse edilmiş bakteri ekilir. Kesiyeye 3 mm aralıkla antibiyotikler yerleştirilir. Antibiyotiklere ait yuvarlak olarak

beklenen inhibisyon zonunda kesinti olması pozitif sonuç olarak kabul edilir. Teknik olarak uygulaması zor bir yöntem olarak karşımıza çıkmaktadır (24).

2.5.4 E-test GSBL stripleri

Bazı ticari firmalar MİK ölçümünü temel alarak GSBL saptanmasına yönelik Etest stripleri (AB Biodisk, Solna, Sweden) geliştirmiştir. Stripin bir ucu seftazidim diğer ucunda ise seftazidim-klavulanik asit bulunur. İzolatın seftazidim ile test edildiğinde elde edilen MİK değerinin, seftazidim-klavulanik asit ile test edildiğinde elde edilen MİK değerinin 8 katı veya üzerinde olması GSBL üretimini gösterir (27). Benzer şekilde sefotaksim/sefotaksim-klavulanik asit içeren stripler de mevcuttur ve özellikle CTX-M türü enzimlerin saptanması için uygundur (28).

2.5.6 Otomatize sistemler

Otomatize antibiyotik duyarlılık sistemi olan Vitek (Biomérieux, Hazlewood, Mo) GSBL saptamaya yönelik kartlar üretmiştir. Bu sistemde seftazidim ve sefotaksim tek başlarına ve klavulanik asit ile kombine şekilde bulunur. Sanders ve ark. bu sistemin *E. coli* ve *K. pneumoniae* için GSBL tespitinde güvenilir bir seçenek olduğunu göstermişlerdir (29).

Sefalosporinlere dirençli *Klebsiella* türlerinin hepsi GSBL üreticisi değildir. Plasmid aracılığıyla AmbC grubu kromozomal β -laktamazların *E. coli* ve *K. pneumoniae*'ya geçtiği gösterilmiştir (30). *K. oxytoca*'da K1 kromozomal β -laktamazın aşırı üretimi geniş spektrumlu sefalosporinlere dirence neden olabilir (31). Bunun yanısıra düşük inokulumda sefalosporinlerin MİK değerleri yeterince yükselmeyebilir. Mederious ve Crellin duyarlılık testlerinde inokulumun 10^5 den 10^7 cfu/ml ye çıkartılmasıyla sefalosporinlerin MİK değerlerinin dramatik olarak yükseldiğini göstermişlerdir (32).

NCCLS tarafından disk difüzyon yöntemi ile yapılan antibiyotik duyarlılık testlerinde, seftazidim (30 μ g) ve sefopodoksim (10 μ g) için 22 mm, aztreonam (30 μ g) ve sefotaksim (30 μ g) için 27 mm, seftriakson (30 μ g) içinse 25 mm ve

altında zon ölçülmesi (33) veya bu beş antibiyotikten herhangi birinden 1 µg/ml içeren sıvı besiyerinde üreme olması durumunda GSBL üretiminden şüphelenilmesi önerilmektedir (33). Yukarıda anlatılan bütün yöntemler içerisinde *E. coli*, *K. pneumoniae* ve *K. oxytoca* için uygulama, yorumlama kolaylığının yanısıra güvenilirlik açısından çift disk sinerji yöntemi uygun ve geçerli bir yöntem olarak kabul edilmektedir (7,28). GSBL pozitif bulunan izolatlar in vitro olarak duyarlı bulunsalar dahi sefamisinler hariç (sefoksitin, sefotetan, sefmetazol, moksalaktam) bütün 2. ve 3.kuşak sefalosporinlere ve aztreonama dirençli olarak rapor edilmelidirler (34).

2.6 GSBL üretiminin saptanmasının klinik önemi

GSBL' lar ile ilgili en önemli problem, bu enzimleri üreten bakterilerin bir veya birden fazla sefalosporine in vitro olarak duyarlı rapor edilebilmesidir. Steward ve ark. , yürüttüğü ICARE (Intensive Care Antimicrobial Resistance Epidemiology-Yoğun Bakımlarda Antimikrobiyal Direnç Epidemiyolojisi) projesinde; Vitek sistemini kullanan laboratuvarların ancak %35'i GSBL üreten bir *K. pneumoniae* izolatını seftazidim ve seftriaksona dirençli bildirdiğini, MicroScan sistemini kullanan laboratuvarların ise ancak %29'unun seftriaksona dirençli olarak rapor ettiklerini belirtmektedirler (35). Bakteriyel inokulümün artmasıyla sefalosporinlerin MİK değerlerindeki artış başka bir sorun olarak ortaya çıkmaktadır (36,37).

GSBL saptanmasında bu problemlerin bulunması hastalarda geniş spektrumlu β-laktam antibiyotiklerle tedavi başarısızlığı riskini artırmaktadır. Yapılan hayvan çalışmalarında, GSBL üreten bakterilerle enfeksiyon hastalığı geliştirildiğinde in vitro olarak duyarlı görülseler bile genişletilmiş spektrumlu sefalosporinlerin tedavide başarılı olmadığı gösterilmiştir (38).

2.7 Epidemiyoloji

GSBL' lar ilk olarak 1985'te Almanya'dan bildirildikten sonra, kısa sürede önce bütün Avrupa'ya, arkasından da Amerika ve Asya'ya yayılmıştır.

Ancak görülme sıklıkları ülkeler arasında farklılık göstermektedir. Batı Avrupa ülkelerinden yapılan bildirimlerde GSBL üreten *E. coli* ve *K. pneumoniae* oranı %1 ile %40 arasında değişirken (39,40), Amerika Birleşik Devletleri'nde seftazidim direnci *K. pneumoniae*'da %5-10 arasında bulunmuştur (7). Asya ülkelerinde ise bu oran %0.1 ile %12 arasında değişmektedir (41,42). Ülkemizde GSBL ilk olarak 1992 yılında *Klebsiella* türlerinde gösterilmiştir (43). Yurt dışındaki merkezler, benzer şekilde GSBL üreten bakterilerin izolasyon oranları arasında farklılıklar olduğunu ve oranların %11 ile % 60 arasında değiştiğini bildirilmektedir (44,45).

GSBL üretimine *K. pneumoniae*'da sık olarak rastalanmasında, bu bakterinin cansız yüzeylerde uzun süre dayanıklı kalabilmesi ve direncin plazmidler aracılığıyla yayılım göstermesi etken faktörlerdir (46,47).

GSBL üreten bakterilerle kolonize olan veya enfeksiyon hastalığı gelişen hastaların çoğunda uzun süreli hastane yatış öyküsü, altta yatan kronik hastalık, yoğun bakım ünitesinde (YBÜ) uzun süreli tedavi, entübasyon, mekanik ventilasyon uygulaması, üriner veya arteriyel kateterizasyon, geniş spektrumlu antibiyotik kullanımı gibi ortak risk faktörleri tanımlanmıştır (5,48). İlk dönemlerde meydana gelen salgınlarda sadece tek bir β -laktamaz üreten bakterilerle karşılaşılırken, sonraki dönemde birden fazla β -laktamaz üreten bakterilerle salgınlar rapor edilmiştir (49-51). Ek olarak GSBL salgılayan bakterilerde beraberinde siprofloksasin direncine de sık rastlanılmaktadır (52). Birçok merkez GSBL üreten bakterilerin yol açtığı salgınlarla karşı karşıya kalmakta ve enfeksiyon kontrol önlemlerinin sıkı bir şekilde uygulanması (53), 'oxyimino-sefalosporinler'in kullanımının sınırlandırılması (5,54) ve ampirik antibiyotik kullanımında değişiklik yapılmasıyla (55,48) salgınlar kontrol altına alınabilmektedir. İmipenem ve piperasilin-tazobaktam 'oxyimino-sefalosporin'lerle yer değişimi için uygun birer seçenek oluşturmuşlardır (5,56-59). Beta-laktamaz inhibitor kombinasyonlarının kullanımıyla hastalarda GSBL üreten bakterilerle kolonizasyon oranının azaldığı gösterilmiştir (60).

GSBL üreten bakterilerle oluşan salgınlarnın epidemiyolojik incelemesinde araştırmacılar farklı yöntemler kullanmışlardır. 'Pulse-field jel' elektroforezi (PFGE), plazmid profili analizi, 'random amplified polymorphic DNA' (RAPD), 'arbitrarily primed PCR' (AP-PCR) sık kullanılan yöntemler olmuşlardır (7). Uygulama kolaylığı ve kısa sürede sonuç verebilme özellikleri nedeniyle geniş kullanım alanları bulan AP-PCR yöntemi bilinen özgül bir DNA bölgesini çoğaltmak yerine, rastgele seçilen bir veya birden fazla primer ile DNA'daki birden fazla bölgenin çoğaltılması temeline dayanır. Bağlanma ısısının klasik PCR'a göre düşük tutulması, primerin kendine özgü bölgelerin yanısıra özgün olmayan bölgelere de bağlanmasını sağlar. Aynı tür içerisinde farklı suşlarda primerlerin bağlanma yerleri arasındaki uzaklık farkları agaroz jelde tespit edilebilen farklı sayı ve uzunlukta bantların oluşmasına neden olur. Amplifikasyon sonucunda elektroforezde izlenen farklı izolatlara ait bant profilleri birbirleriyle karşılaştırılır. Aynı bant profillerini gösteren izolatlar epidemiyolojik olarak birbiriyle ilişkili olarak yorumlanır. Laboratuvarlar arası tekrarlanabilirlik oranının düşük olması bu yöntemle ilgili en önemli sorundur (61).

Tekrarlanabilirlik sorunu AP-PCR ile benzerlik gösteren ERIC-PCR (Enterobacterial Repetitive Intergenic Consensus PCR) yöntemi salgınlarda izolatların genotipik benzerliklerini değerlendirmek için başarıyla kullanılmıştır (62). Bu yöntemde bakteriyel genomun ekstrasjenik kısmında bulunan 126 baz çifti uzunluğunda ERIC dizilerine yönelik primerler kullanılmaktadır. Kolay uygulanma ve yorumlanabilme özellikleri nedeniyle sık kullanılan bir yöntem olmuştur (63).

2.8 Tedavi

GSBL üreten bakterilerle gelişen enfeksiyonların tedavisini inceleyen prospektif bir çalışma bulunmamaktadır. Ancak birçok çalışmada bu durumun mortalite ve morbiditeyi artırdığının gösterilmiş olması, GSBL üretiminin saptanarak klinisyene rapor edilmesinin önemini ortaya koymaktadır (64,65).

β -laktamaz inhibitör kombinasyonları bu tür enfeksiyon hastalıklarının tedavisinde kullanılabilirler (66). β -laktamaz inhibitörlerine dirençli β -laktamaz enzimler, GSBL ile eş zamanlı olarak beraber olabilir (67). Bu durum β -laktamaz inhibitör kombinasyonlarının tedavide kullanılmasını güçleştirmektedir. *Enterobacteriaceae* ailesinin farklı üyelerinde varlığı gösterilen AmbC grubu enzimlerin klavulanik asite karşı dirençli olmaları, bu bakterilerde GSBL enzimlerinin saptanmasında disk difüzyon ilkesine dayalı testlerin kullanımını zorlaştırmaktadır.

Sefoksitin gibi sefamisin grubu sefalosporinler diğer sefalosporinlere göre GSBL'lara daha dirençli olmalarına rağmen, *K. pneumoniae*'da porin kaybına bağlı direnci seçmesi ve sefamisinlerin eş zamanlı bulunabilen kromozomal β -laktamazlar tarafından hidrolize edilmeleri nedeniyle tedavide kullanılmazlar (10).

Bir 4.kuşak sefalosporin olan sefepim ise, in vitro testlerde duyarlı saptansa bile artan β -laktamaz enzim varlığına bağlı olarak in vivo kullanımda etkisiz hale gelebilmektedir. Bu yüzden bazı araştırmacılar GSBL varlığı saptandığında izolatın sefepime dirençli olarak rapor edilmesini önermektedir (34).

β -laktam dışı antibiyotiklerin tedavide kullanılması ise bu alanda dikkat çekici bir görüş olarak ortaya çıkmış, ancak GSBL üreten bakterilerde çoklu dirence sık rastlanması kinolon ve aminoglikozidlerin tedavide kullanımını kısıtlamıştır (52,68).

Karbapenemler, GSBL üreten bakterilerle gelişen enfeksiyonlarda seçilebilecek en etkin antibiyotik grubu olarak karşımıza çıkmaktadır. Karbapenemlerin bu alandaki etkinliğini gösteren çok sayıda klinik çalışma mevcuttur (64,65). Ancak antibiyotik seçimi yapılırken, karbapenemlerin yoğun kullanımı sonucu fermentasyon yapmayan Gram negatif basillerle ortaya çıkan karbapenem dirençli enfeksiyonların ve *K. pneumoniae*'da porin defekti sonucu ortaya çıkan karbapenem direncini gözardı edilmemesi gereklidir.

2.9 Korunma

Son 20 yıl içerisinde GSBL üreten Gram negatif bakterilerle oluşan enfeksiyonlar kliniklerde önemli bir sorun haline gelmişlerdir. Bu sorunun çözümü için öncelikle her merkezin GSBL salgılayan bakterilerle enfeksiyon gelişim oranlarını ve enfeksiyon gelişiminde rol oynayan risk faktörlerini belirlemesi ve enfeksiyon kontrol önlemlerini buna göre geliştirmesi gereklidir.



GEREÇ VE YÖNTEM

3.1 Çalışmanın yapıldığı bölüm

Çalışma 2'si izole oda olmak üzere toplam 9 yatak ile hizmet veren İç Hastalıkları Yoğun Bakım Ünitesi'nde yapıldı. Ünite her yatak başında alkollü el dezenfektanı bulunmaktadır. 08.00-16.00 vardiyalarında 3, 16.00-08.00 vardiyasında ise 2 hemşire ile hizmet verilmektedir.

3.2 Epidemiyolojik yöntem

1 Ağustos 2002 ile 28 Şubat 2003 arasında İç Hastalıkları Yoğun Bakım Ünitesinde tedavi gören 100 hastanın GSBL üreten enterik bakterilerle kolonizasyonu ve enfeksiyon hastalığı gelişimi değerlendirildi. Hastaların yoğun bakım ünitesine kabul edildiği günden başlanarak 0, 2, 7. günlerde ve yatış süresi bir haftayı geçen hastalarda haftada bir rektal ve boğaz sürüntü örnekleri alınarak kolonizasyon gelişimi izlendi. 48 saat dolmadan yoğun bakım ünitesinden başka bir servise nakledilen veya hayatını kaybeden hastalar çalışmadan çıkartıldı. Kolonizasyon gelişimi konusunda ünite çalışanlarına ek bilgi verilmedi. Enfeksiyon kontrol komitesinin rutin olarak izolasyon uygulanmasını önerdiği durumlar dışında ek izolasyon tedbirleri uygulanmadı.

Hastaların tıbbi geçmişleri, kolonizasyon açısından risk faktörü olabileceği kabul edilen yaş, cinsiyet, yoğun bakım ünitesi öncesi hastanede yatış öyküsü, yoğun bakım ünitesindeki yatış süresi, santral venöz kateterizasyon, mekanik ventilatör uygulaması, antibiyotik ve kortikosteroid kullanımı, APACHE 2 skorları (Acute Physiology, Age and Chronic Health Evaluation), altta yatan hastalık, hemodiyaliz uygulaması yapılan günlük ünite ziyaretleriyle kaydedildi.

3.3 Tanımlar

Kolonizasyon : Hastalardan alınan rektal veya boğaz sürüntü örneklerinde hastada lokal veya sistemik enflamasyon bulgusu olmaksızın GSBL üreten *E. coli* veya *K. pneumoniae* tespit edilmesi

Enfeksiyon hastalığı : Hastalardan steril yöntemlerle alınan örneklerden GSBL üreten *E. coli* veya *K. pneumoniae* izolasyonu ile beraber sistemik enflamasyon bulgularının bulunması.

Antibiyotik kullanımı : GSBL üreten *E. coli* veya *K. pneumoniae* kolonizasyonu olan veya enfeksiyon hastalığı gelişen hastalarda mevcut durumun tespitinden önce son 15 gün içerisinde kullanılan antibiyotikler, diğer hasta grubu içinse ünite tedavisi gördükleri süre içerisinde kullanılan antibakteriyel ajanlar.

Yoğun bakım ünitesi öncesi hastane yatışı : YBÜ'ne kabul edilmeden önce en az 48 saat başka serviste veya hastanede tedavi görmüş olmak.

APACHE 2 skoru : Knaus ve Wagner tarafından yoğun bakım ünitesine kabul edilen hastaların hastalığının ağırlığının derecesini belirlemek amacıyla geliştirilmiştir (69). Hasta yoğun bakım ünitesine kabul edildiğinde nabız, solunum sayısı, ortalama kan basıncı, vücut ısısı, hematokrit, beyaz küre sayısı, kreatinin (kronik böbrek yetmezliği varlığında farklı puanlama yapılarak); serum sodyum ve potasyum düzeyleri, arteriyel pH, parsiyel oksijen basıncı, arterio-alveoler oksijen basıncı farkı, Glasgow koma skoru toplam 60 üzerinden; yaş 6 üzerinden ve altta yatan hastalık 7 üzerinden (evre 4 kalp yetmezliği, kronik obstruktif akciğer hastalığı, immünespresif hastalık vb.) puanlanarak APACHE 2 skorları elde edilir.

3.4 Bakteri izolasyonu

Hastalardan belirtilen periyotlarla alınan boğaz ve rektal sürüntü örnekleri MacConkey agara (Oxoid) ekildi. Gram negatif bakterilere ait kolonizasyon saptanması amaçlandığı için, boğaz kültürleri rutin uygulamadan farklı olarak kanlı agara değil MacConkey agara ekildi. Kültürler 37 °C'da 24 saat inkübe edildi. Laktoz pozitif, Gram negatif basil üremesi olan plaklardan saf kültür izole etmek amacıyla tekrar MacConkey agara pasaj yapıldı. Aynı plakta makroskopik olarak farklı görünümde laktoz pozitif, Gram negatif bakteri kolonileri ürettiğinde farklı bakteri olarak kabul edildi. Aynı hastanın farklı

izolatı olarak değerlendirilerek saf kültür elde etmek için MacConkey agara pasajlandı. Bakteriler GSBL üretimi için test edilecekleri döneme kadar gliserollü kalp-beyin özütü buyyonu içerisinde -20 °C da saklandı.

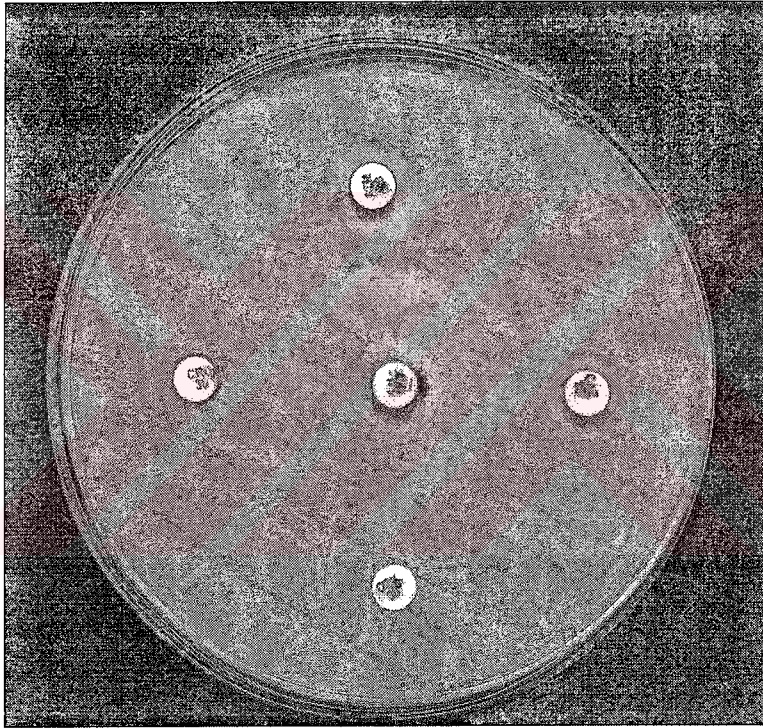
Hastalardan steril yöntemler kullanılarak alınan idrar, derin trakeal aspirat (DTA), pü, kateter, parasentez sıvısı örneklerinden üreyen ve Sceptor (Becton-Dickinson, U.S.A) sistemi ile tanımlanan, *E. coli*, *K. pneumoniae*, *K. oxytoca*, *Citrobacter koseri*, *Enterobacter aerogenes*, *P. mirabilis*, *P. vulgaris*, *S. enteritidis*, *Hafnia alvei* izolatları da GSBL üretiminin saptanması için Klinik Patoloji Laboratuvarından temin edilerek testlerin yapılacağı zamana kadar -20°C'da gliserollü kalp-beyin özütü buyyonu içerisinde saklandı.

3.5 GSBL üretiminin tespiti

GSBL üretiminin saptanması için çift disk sinerji yöntemi kullanıldı. İzole edilen laktoz pozitif Gram negatif bakterilerin saf kültürlerinden Mueller-Hinton buyyonu içerisinde 0,5 McFarland bulanıklığında süspansiyon hazırlandı. Bakteri süspansiyonu Mueller-Hinton agar üzerine steril eküvyon aracılığıyla yayıldıktan sonra 20/10µg amoksisilin-klavulanik asit (Bioanalyse sensivity discs) içeren disk besiyerinin merkezinde, 30µg seftazidim (Bioanalyse sensivity discs), 30µg seftriakson (Bioanalyse sensivity discs), 30µg sefotaksim (Bioanalyse sensivity discs) ve 30µg aztreonam (Bioanalyse sensivity discs) diskleri besiyerinin etrafında olacak şekilde yerleştirildi. Etüvde 35°C'da aerop koşullarda 18 saat inkübe edildi. Seftriakson, seftazidim, sefotaksim, aztreonam dan en az birine dirençli olup 0,5 McFarland bulanıklığında süspansiyon kullanılarak GSBL üretimi gösterilemeyen izolatlar 1 McFarland bulanıklığında süspansiyon hazırlanarak tekrar test edildi. Amoksisilin-klavulanik asit diski ile 'oxymino-sefalosporin'ler veya aztreonam disklerinin etrafında oluşan zonlar arasında üremede inhibisyon oluşması pozitif sonuç olarak kabul edildi. Testler yapılırken kalite kontrol suşu olarak *E. coli* ATCC 25922 ve *K. pneumoniae* ATCC 700603 kullanıldı.

Hastalardan steril yöntemlerle alınarak klinik patoloji laboratuvarına gönderilen örneklerden izole edilen ve Sceptor sistemi ile tanımlanan *E. coli*, *K. pneumoniae*, *K. oxytoca*, *Citrobacter koseri*, *Enterobacter aerogenes*, *P. mirabilis*, *P. vulgaris*, *S. enteritidis*, *H. alvei* izolatları da GSBL üretimi açısından aynı yöntem kullanılarak test edildi.

Resim 3.1: Çift disk sinerji testi 100 no'lu hastadan izole edilen *K. pneumoniae* suşunda uygulandığında, klavulanik asit diffüzyonu sonucu oluşan inhibisyon zonları.



3.6 Bakterilerin tanımlanması

Rektal ve boğaz sürüntülerinden izole edilen GSBL pozitif bakteriler biyokimyasal özelliklerine (Laktoz kullanımı, oksidaz testi, indol üretimi, metil kırmızısı testi, Voges-Proskauer testi, sitrat kullanımı, üre hidrolizi, hareket besiyerinde hareket özelliği)göre tanımlandı.

Gram negatif basil, laktoz pozitif, oksidaz negatif, hareketli, indol üretimi ve metil kırmızısı pozitif, Voges-Proskauer testi negatif, sitrat ve üre hidrolizi negatif olan suşlar *E. coli* olarak tanımlandı.

Gram negatif basil, laktoz pozitif, oksidaz negatif, hareketsiz, indol üretimi ve metil kırmızısı negatif, Voges-Proskauer testi pozitif, sitrat ve üre hidrolizi pozitif olan suşlar *K. pneumoniae* olarak tanımlandı.

Gram negatif basil, laktoz pozitif, oksidaz negatif, hareketli, indol üretimi ve metil kırmızısı negatif, Voges-Proskauer testi pozitif, sitrat pozitif, ornitin ve lizin dekarboksilaz pozitif, üre hidrolizi negatif suşlar ise *E. aerogenes* olarak tanımlandı.

Testler yapılırken kalite kontrol suşu olarak *E. coli* ATCC 25922 ve *K. pneumoniae* ATCC 700603 kullanıldı.

3.7 Antibiyotik duyarlılık testleri

GSBL üretimi tespit edilen izolatların seftazidim, seftriakson ve sefotaksim minimum inhibitör konsantrasyonları (MİK) belirlendi. Test edilen antibiyotikler seftazidim (Glaxo-Wellcome Co.), sefotaksim (Bilim İlaç San.Tic.), seftriakson (Roche A.Ş) ilgili firmalardan temin edilerek; Amerikan Ulusal Klinik Laboratuvar Standartları Komitesi'nin (NCCLS, M7-A6 Ocak 2003) önerilerine uygun olarak Mueller-Hinton buyyonu (Difco Laboratories, U.S.A) kullanılarak mikrodilüsyon yöntemi ile test edildi. Steril mikrodilüsyon plaklarına Mueller-Hinton buyyonu dağıtıldıktan sonra uygun konsantrasyonda hazırlanan antibiyotiklerin pipet aracılığıyla seri dilüsyonları yapıldı. Test edilecek bakterilerin saf kültürlerinde hazırlanan 0.5 McFarland

bulanıklığındaki bakteri süspansiyonu 1:100 oranında sulandırıldıktan sonra her kuyucuğa pipet yardımı ile 0.05 ml inoküle edildi. Mikrodilüsyon plakları etüvde 35°C'da aerop şartlarda 20 saat inkübe edildi. 20 saat sonunda üremenin inhibe olduğu en yüksek dilüsyon kaydedildi. Test yapılırken *E. coli* ATCC 25922 kalite kontrol suşu olarak kullanıldı.

GSBL üreten *K. pneumoniae* ve *E. coli* ile oluşan enfeksiyon hastalıklarında tedavi alternatiflerini oluşturan imipenem, siprofloksasin, amikasin ve piperasilin-tazobaktam için duyarlılık NCCLS (M2-A8 Ocak 2003) önerilerine uygun olarak disk difüzyon yöntemi ile saptandı. Saf kültürlerinden 0.5 McFarland bulanıklığında bakteri süspansiyonu hazırlanarak steril eküvyon yardımı ile Mueller-Hinton agar (Difco Laboratories U.S.A) besiyerinin üzerine yayıldı. Üzerine imipenem (Bioanalyse sensivity discs), siprofloksasin (Bioanalyse sensivity discs), amikasin (Bioanalyse sensivity discs) ve piperasilin-tazobaktam (Bioanalyse sensivity discs) yerleştirildi. Etüvde 35°C'da aerop koşullarda 18 saat inkübe edildi. İnkübasyon sonrası inhibisyon zon çapları cetvel aracılığıyla ölçülerek izolatlar NCCLS kriterlerine göre duyarlı, orta duyarlı, dirençli olarak kaydedildi. Test yapılırken *E. coli* ATCC 35218 ve *E. coli* ATCC 25922 kalite kontrol suşu olarak kullanıldı.

3.8 Genotipik benzerliğin araştırılması

GSBL üretimi pozitif olan *E. coli* ve *K. pneumoniae* izolatlarının genotipik benzerliklerinin değerlendirilebilmesi için ERIC-PCR yöntemi kullanıldı. Yöntem literatürdeki çalışmalar esas alınarak optimize edilmiştir (62).

DNA ekstraksiyonu : İzole edilen bakterilerin saf kültüründen tek bir bakteri kolonisi Mueller-Hinton buyyonuna ekildi ve bir gece 37 °C'da inkübe edildi. Bunun 3 mililitresi alınarak santirfüj edildi ve üst sıvı atıldı. Kalan çökelti 5 kez 750 µl Tris-EDTA 10 mM Tris(hidroksimetil)aminometan (Sigma-Aldrich Co. T 1503), 1 mM etilendiamin-tetra-asetik asit (EDTA, Sigma-Aldrich Co. E 5134 , pH 8.0) tamponu (TE) ile yıkandı. Kalan çökeltiye

500 µl TE tamponu eklenerek 20 dakika kaynayan suda bekletildi. Kaynatma sonrasında santirfuj edilen bakteri süspansiyonlarının üstte kalan sıvısı ayrı bir mikrosantirfuj tüpüne alınarak kalıp DNA olarak kullanıldı.

PCR protokolü : Yirmibeş mikrolitrelik bir PCR karışımı hazırlamak için 17.1 µl su, 2.5 µl MgCl₂ (Sigma-Aldrich Co M 1028), 0.5 µl herbiri 2.5mM dATP, dGTP ve dCTP içeren karışım (Epicentre Technologies D 59104), 0.3 µl ERIC2 (ERIC2:5'AAG TAA GTG ACT GGG TGA GCG3') (Trilink Biotechnologies HM1), 2.5 µl 10X PCR tamponu (Sigma-Aldrich Co.D-Aldrich Co. P2192), 0.13 µl Taq polimeraz (Sigma-Aldrich Co.D 6677) ve 2'şer µl kalıp DNA kullanıldı. Kontaminasyon varlığının denetlenmesi amacıyla kalıp DNA yerine su içeren negatif kontrol tüpü kullanıldı.

Termal döngü cihazı programı: Elde edilen PCR karışımı termal döngü cihazına (MJ-Research Inc., U.S.A) konarak aşağıdaki program uygulandı.

1. 94°C 3 dk
2. 94°C 45 sn
3. 30°C 1 dk
4. 72°C 1 dk (2,3 ve 4 nolu aşamalar arka arkaya 2 kez)
5. 94 °C 30 sn
6. 55 °C 30 sn
7. 72 °C 1 dk (5,6 ve 7 nolu aşamalar arka arkaya 44 kez)
8. 72°C 4 dk
9. 4°C sürekli

Elektroforez : Elde edilen PCR ürünleri, TAE (0.5 M Tris(hidroksimetil)aminometan, 0.05 M EDTA pH 8.0) ve 28.55 ml/L asetik asit (Merck UN 2789) tamponu içerisinde % 1.5 agaroz (Sigma-Aldrich Co. A5093) ile hazırlanmış jelde 110 voltta 1 saat yürütüldü. Moleküler ağırlık belirleyicisi olarak 'DNA Molecular Weight Marker XIV' (Roche Diagnostics, 1 721 933) kullanıldı. Elektroforezi takiben jel % 0.1 etidyum bromid ile boyanıp, bilgisayar ortamında (UVP Jel dökümantasyon sistemi U.S.A)

görüntülendi. İki veya daha fazla sayıda farklı bant görülen suşların ilişkisiz oldukları kabul edildi.

3.9 İstatistiksel değerlendirme

Elde edilen verilerin analizinde Microsoft Windows için SPSS (Statistical Package for Social Sciences) programı kullanılarak chi-square, Mann-Whitney U test ve Student t test kullanıldı. Uygulanan bütün istatistiksel testlerde 0.05'ten küçük p değerleri anlamlı kabul edildi.

3.10 Maliyet hesaplaması

Kolonizasyon oranı tespit edildikten sonra bu çalışmanın YBÜ'lerinde hastane laboratuvarına örnek gönderilerek yapılması durumunda ortaya çıkacak maliyet hesaplandı. Yılda 250 hasta yatan bir ve ortalama yatış süresi 10 gün olan bir yoğun bakım ünitesi modeli göz önüne alınarak laboratuvar ve hasta maliyeti değerlendirildi. Laboratuvar maliyetinin hesaplanmasında iki farklı yöntem uygulandı. Birinci yöntemde Klinik Patoloji Laboratuvarına gönderilen örnekler için kullanılan, boğaz ve gaita kültürü için belirlenen fiyatlar böyle bir çalışmaya uygulandığında ortaya çıkan maliyet hesaplandı. İkinci yöntemde ise hasta ve alınan kültür sayısı göz önüne alınarak kullanılacak besiyeri, antibiyotik diski, bakteri tanımlaması için kullanılacak kimyasallar ve işgücü maliyeti göz önüne alınarak toplam maliyet hesaplandı.

Hasta bakımı için oluşacak ek giderler ise, kolonizasyon tespit edilen her hastaya, alınan bir sonraki kültür kolonizasyon açısından negatif olarak rapor edilene kadar sıkı temas izolasyon önlemleri uygulandığı kabul edilerek hesaplandı.

BULGULAR

Çalışmaya 1 Ağustos 2002 – 28 Şubat 2003 arasında İç Hastalıkları Ana Bilim Dalı Yoğun Bakım Ünitesi'nde tedavi gören 100 hasta alındı. Hastaların 51'i erkek 49'u kadın hastalardan oluşmakta idi. Çalışmaya alınan hastaların ortalama yaşı 61,8 yıl (17-92) ortalama yatış süresi ise 12,11 (4-56) gün olarak tespit edildi. Hastaların 62'si başka bir serviste veya hastanede tedavi görmeksizin erişkin hastanesi acil polikliniğinden yoğun bakım ünitesine kabul edilen hastalardan oluşurken; 5'i dış merkezlerden, 25'i diğer servislerden (22 hasta İç Hastalıkları servislerinden, 1 hasta Kalp ve Damar cerrahisi servisinden, 1 hasta Kadın hastalıkları ve Doğum servisinden, 1 hasta Ortopedi servisinden) 6'sı diğer yoğun bakım ünitelerinden (5 hasta Genel Cerrahi YBÜ'sinden, 1 hasta Anesteziyoloji YBÜ'sinden), 2'si ise Erişkin Hastanesi Acil Servis Gözlem Ünitesi'nden İç Hastalıkları YBÜ'sine kabul edilen hastalardan oluştu.

4.1 Laboratuvar bulguları

4.1.1 Kültürlerin değerlendirilmesi

Hastalardan yatış günü, yatışın 48.saati, yatışın 7.günü ve bunu takiben birer haftalık aralarla 332 boğaz ve 332 rektal sürüntü örneği alındı. Rektal sürüntü örneklerinin 327'sinde laktoz pozitif Gram negatif basil üremesi oldu. 5 örnekte flora tamamen kaybolurken; 10 örnekte üç, 2 örnekte ise iki farklı morfolojide laktoz pozitif Gram negatif basil üremesi tespit edildi. Boğaz sürüntü örneklerinin ise 143'ünde laktoz pozitif Gram negatif basil üremesi olurken; bunlardan 2'sinde iki farklı morfolojide laktoz pozitif Gram negatif basil üremesi tespit edildi. Rektal sürüntülerden izole edilen 349, boğaz sürüntülerinden 145 olmak üzere toplam 494 adet laktoz pozitif Gram negatif basil GSBL üretimini araştırmak üzere test edildi.

Aynı dönemde bu hastalardan Klinik Patoloji Laboratuvarına gönderilen örneklerden izole edilen 6 *K. pneumoniae*, 6 *K. oxytoca*, 31 *E. coli*, 1 *E.*

aerogenes, 1 *E. cloacae*, 1 *C. koseri*, 2 *P. mirabilis*, 1 *P. vulgaris*, 1 *H. alvei* ve 1 *S. enteritidis* de çalışmaya dahil edildi.

Tablo 4.1 : Klinik patoloji laboratuvarına gönderilen örneklerden izole edilen enterik bakteriler

BAKTERİ TÜRÜ	İDRAR	DTA	BALGAM	KAN	KATETER	PÜY
<i>K. pneumoniae</i>	2	2	0	1	1	0
<i>K. oxytoca</i>	0	0	1	4	1	0
<i>E. coli</i>	16	8	0	6	0	1
<i>P. mirabilis</i>	1	0	0	1	0	0
<i>P. vulgaris</i>	0	0	1	0	0	0
<i>S. enteritidis</i>	0	0	0	1	0	0
<i>E. aerogenes</i>	0	2	0	0	0	0
<i>H. alvei</i>	1	0	0	0	0	0
<i>C. koseri</i>	0	1	0	0	0	0

4.1.2 GSBL üretiminin değerlendirilmesi

Her iki gruptaki bakterilerde Amerikan Ulusal Laboratuvar Standartları Komitesi'nin tarif ettiği metoda uygun olarak çift disk sinerji yöntemiyle GSBL üretimi açısından test edildi. 22 hastanın GSBL üreten bakterilerle kolonize olduğu, 7 hastada ise GSBL üreten bakterilerle kolonize olduktan sonra enfeksiyon hastalığı geliştiği tespit edildi. Kolonizan olarak izole edilen bakterilerin 18'i rektal bölgeden, 4'ü ise boğaz sürüntüsünden alınan örneklerden izole edildi. 8 rektal izolat *K. pneumoniae*, 10 rektal izolat *E. coli*, 4 boğaz kolonizasyonu ise *E. coli* olarak tiplendirildi.

Klinik Patoloji Laboratuvarında izole edilen bakterilerde ise kan kültüründen izole edilen 1, derin trakeal aspirattan izole edilen 2, idrar kültüründen izole edilen 3 *E. coli*' de GSBL üretimi saptanırken, santral kateter kültüründen izole edilen 1 *K. pneumoniae* da GSBL üretimi tespit edildi. Kan, kateter, idrar kültürlerinde GSBL pozitif bakteri üremesi olan hastalarda rektal; derin trakeal aspirat kültüründe GSBL pozitif bakteri üremesi olan hastalarda ise boğaz bölgesinde kolonizasyon saptandı. Çalışmanın

yapıldığı dönemde kolonizasyon olmaksızın hiçbir hastada GSBL üreten enterik bakterilerle enfeksiyon hastalığı gelişmedi. Kolonizasyon tespit edilen 4 hastaların 2'sinden alınan idrar kültürlerinde üreyen *E. coli*'den, 1'inden alınan parasentez kültüründe üreyen *E. coli*'de ve 1 hastadan alınan derin trakeal aspirat kültüründe üreyen *K. pneumoniae*' da GSBL üretimi tespit edilmedi.

Tablo 4.2 : GSBL üreten bakterilerle kolonize olan hastalarda izole edilen bakterilerin türleri ve kolonizasyon tespiti sonrası enfeksiyon hastalığı gelişimi

HASTA NO	KOLONIZE BAKTERİ	ENFEKSİYON HASTALIĞI	BAKTERİ TÜRÜ
11	<i>K. pneumoniae</i>	GELİŞMEDİ	
19	<i>E. coli</i>	GELİŞMEDİ	
20	<i>E. coli</i>	GELİŞMEDİ	
21	<i>E. coli</i>	GELİŞMEDİ	
24	<i>E. coli</i>	GELİŞMEDİ	
25	<i>K. pneumoniae</i>	GELİŞMEDİ	
26	<i>E. coli</i>	GELİŞMEDİ	
30	<i>E. coli</i>	BAKTERİYEMİ	<i>E. coli</i> / KAN
34	<i>E. coli</i>	PNÖMONİ	<i>E. coli</i> / DTA
36	<i>E. coli</i>	PNÖMONİ	<i>E. coli</i> / DTA
38	<i>E. coli</i>	İDRAR YOLU ENFEKSİYONU	<i>E. coli</i> / İDRAR
40	<i>E. coli</i>	GELİŞMEDİ	
57	<i>K. pneumoniae</i>	GELİŞMEDİ	
58	<i>E. coli</i>	GELİŞMEDİ	
59	<i>K. pneumoniae</i>	KATETER ENFEKSİYONU	<i>K. pneumoniae</i> / Kateter
71	<i>K. pneumoniae</i>	GELİŞMEDİ	
79	<i>E. coli</i>	İDRAR YOLU ENFEKSİYONU	<i>E. coli</i> / İDRAR
80	<i>E. coli</i>	GELİŞMEDİ	
83	<i>E. coli</i>	İDRAR YOLU ENFEKSİYONU	<i>E. coli</i> / İDRAR
91	<i>K. pneumoniae</i>	GELİŞMEDİ	
99	<i>K. pneumoniae</i>	GELİŞMEDİ	
100	<i>K. pneumoniae</i>	GELİŞMEDİ	

GSBL pozitif *E. coli* ile rektal kolonizasyon, 4 hastada YBÜ'ne kabulde alınan ilk kültürde, 2 hastada yatışın 48.saatinde alınan kültürde, 3 hastada yatışın birinci haftasında alınan kültürde, 1 hastada ise yatışın 14.gününde alınan rektal sürüntü örneğinde tespit edildi. Boğaz sürüntülerinden izole edilen GSBL pozitif *E. coli* ile kolonizasyon 1 hastada 48.saatte alınan kültürde, 2 hastada yatışın yedinci gününde, 1 hastada ise yatışın 14.gününde alınan kültürde tespit edildi (Tablo 4.3).

Tablo 4.3 : GSBL üreten *E. coli* izole edilen hastalarda kolonizasyonun saptandığı örnekler ve saptanma günleri.

HASTA NO	KOLONİZASYONUN SAPTANDIĞI ÖRNEK	KOLONİZASYONUN SAPTANDIĞI YATIŞ GÜNÜ
19	Rektal sürüntü	7. gün
20	Rektal sürüntü	7. gün
21	Boğaz sürüntüsü	7. gün
24	Boğaz sürüntüsü	14. gün
26	Rektal sürüntü	2. gün
30	Rektal sürüntü	1. gün
34	Boğaz sürüntüsü	2. gün
36	Boğaz sürüntüsü	7. gün
38	Rektal sürüntü	1. gün
40	Rektal sürüntü	7. gün
58	Rektal sürüntü	14. gün
79	Rektal sürüntü	2. gün
80	Rektal sürüntü	1. gün
83	Rektal sürüntü	1. gün

GSBL üreten *K. pneumoniae* ile rektal kolonizasyon 1 hastada YBÜ'sine kabul edildikten 48 saat sonra, 6 hastada yedinci günde, 1 hastada ise yatışının 14.gününde alınan örnekte tespit edildi (Tablo 4.4).

Tablo 4.4 : GSBL üreten *K. pneumoniae* izole edilen hastalarda kolonizasyonun saptandığı örnekler ve saptanma günleri.

HASTA NO	KOLONİZASYONUN SAPTANDIĞI ÖRNEK	KOLONİZASYONUN SAPTANDIĞI YATIŞ GÜNÜ
11	Rektal sürüntü	14. gün
25	Rektal sürüntü	7. gün
57	Rektal sürüntü	7. gün
59	Rektal sürüntü	7. gün
71	Rektal sürüntü	2. gün
91	Rektal sürüntü	7. gün
99	Rektal sürüntü	7. gün
100	Rektal sürüntü	7. gün

Boğaz veya rektal sürüntü örneklerinde GSBL üreten bakteri kolonizasyonu tespit edilen hastalardan periyodik izlemine devam edilebilenlerde, tekrarlanan kültürlerde GSBL üreten bakteri üremesi tespit edilmedi. Kalıcı kolonizasyon görülmedi. YBÜ'sine kabul edildiğinde alınan ilk kültürde kolonize olduğu tespit edilen 4 hasta haricindeki hastaların, YBÜ'sine kabulden ortalama 7 (2-14) gün içerisinde kolonize oldukları saptandı. Hastaların 10'u kolonizasyon tespit edildiği kültürden sonra bir sonraki kültür alınmadan taburcu olduğu için kolonizasyonun devam ettiği süre açısından değerlendirilemedi.

Sefotaksime dirençli olmasına karşın 0.5 McFarland bulanıklığındaki bakteri süspansiyonu ile yapılan çift disk sinerji testi ile GSBL üretimi saptanmayan 14 izolat 1 McFarland bulanıklıktaki süspansiyon hazırlanarak

tekrar test edildi. Hiçbir izolatta GSBL üretimi saptanmadı. Bu suşlar yapılan biyokimyasal testler sonucunda *E. aerogenes* olarak tanımlandı.

4.1.3 Antibiyotik duyarlılık testleri

İmipenem, amikasin, siprofloksasin ve piperasilin-tazobaktam duyarlılıkları NCCLS önerilerine uygun olarak disk difüzyon yöntemi ile araştırıldı. Kolonizan olarak izole edilen 8 *K. pneumoniae*'nin imipenem, amikasin, siprofloksasin ve piperasilin-tazobaktama karşı duyarlılıkları değerlendirildiğinde; hepsi imipenem duyarlı, 6'sı amikasin duyarlı, 2 izolat amikasin orta duyarlı, 3'ü siprofloksasin duyarlı, hepsi piperasilin-tazobaktam dirençli bulundu. *E. coli* izolatlarının ise hepsi imipenem duyarlı, 12'si amikasin duyarlı, 2'si amikasin orta duyarlı, 1'i siprofloksasin duyarlı, 2'si piperasilin-tazobaktam duyarlı, 2'si orta duyarlı bulundu.

Enfeksiyon hastalığı etkeni olarak kateter kültüründen izole edilen *K. pneumoniae*, imipenem ve amikasine duyarlı, siprofloksasin ve piperasilin-tazobaktama dirençli; derin trakeal aspirat kültüründen izole edilen 2 *E. coli* imipenem ve amikasine duyarlı, siprofloksasine dirençli, piperasilin-tazobaktama orta duyarlı, idrar kültüründen izole edilen 3 ve kan kültüründen izole edilen 1 *E. coli* imipenem ve amikasine duyarlı siprofloksasin ve piperasilin-tazobaktama dirençli bulundu.

İzole edilen *K. pneumoniae* suşlarından 2'si sefotaksime duyarlı, seftriakson orta duyarlı bulunurken, 3'ü seftazidime orta duyarlı bulundu.

Tablo 4.5 : GSBL üreten *K. pneumoniae* suşlarının seftazidim, sefotaksim, seftriakson MİK aralıkları

Antibakteriyel ajan	MİK aralığı (µg/ml)	Duyarlı suş sayısı n (%)	Orta Duyarlı suş sayısı n (%)	Dirençli suş sayısı n (%)	MİK50 (µg/ml)	MİK90 (µg/ml)
Seftazidim	32-128	0 (0.0)	3 (33.3)	6 (76.7)	32	128
Sefotaksim	8-128	2 (11.1)	0 (0.0)	7 (100)	64	128
Seftriakson	16-128	0 (0.0)	0 (0.0)	9 (100)	512	2048

İzole edilen *E. coli* suşlarından; 2'si seftazidime duyarlı, 6'sı ise seftazidime orta duyarlı bulundu.

Tablo 4.6 : GSBL üreten *E. coli* suşlarının seftazidim, sefotaksim, seftriakson MİK aralıkları

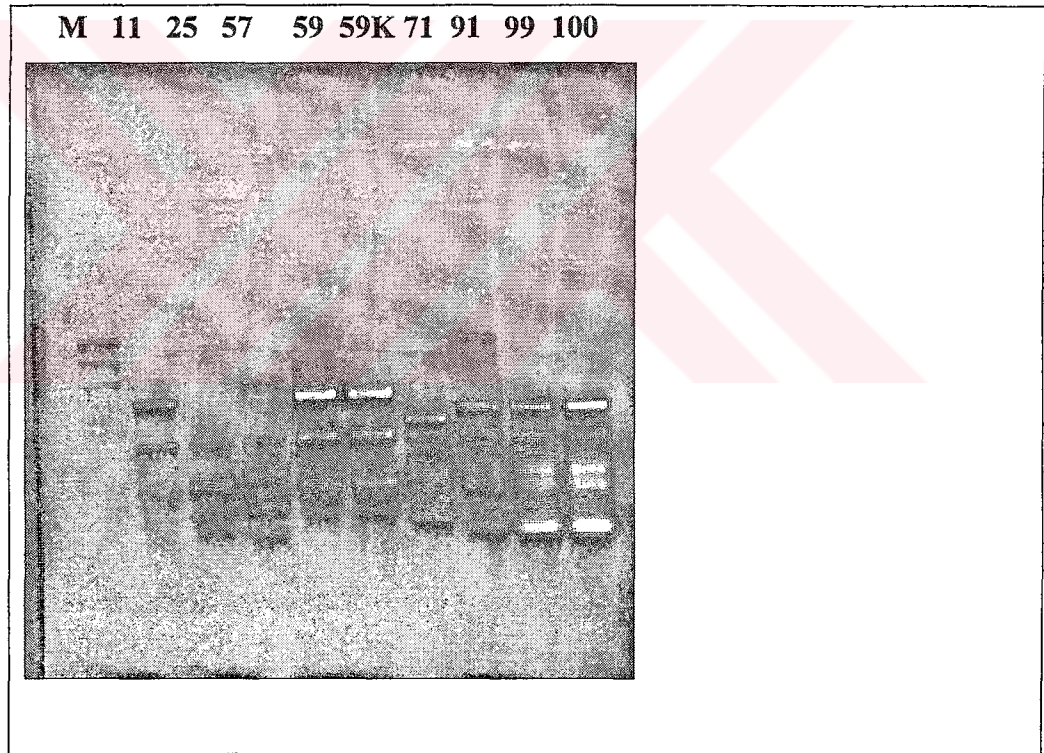
Antibakteriyel ajan	MİK aralığı ($\mu\text{g/ml}$)	Duyarlı suş sayısı n (%)	Orta Duyarlı suş sayısı n (%)	Dirençli suş sayısı n (%)	MİK50 ($\mu\text{g/ml}$)	MİK90 ($\mu\text{g/ml}$)
Seftazidim	2-2048	2 (10.0)	6 (30.0)	14 (70.0)	32	2048
Sefotaksim	64-1024	0 (0.0)	0 (0.0)	20 (100)	256	1024
Seftriakson	256-2048	0 (0.0)	0 (0.0)	20 (100)	2048	2048

4.1.4 Genotipik benzerlik

İzole edilen bakterilerin genotipik benzerliklerini değerlendirmek amacıyla yapılan ERIC-PCR sonucu *K. pneumoniae* suşları için 6 farklı genotip, *E. coli* suşları içinse 9 farklı genotip tespit edildi. Kolonizasyon saptanan hastalardan izole edilen enfeksiyon hastalığı etkeni suşların, kolonizan suşlarla genotipik olarak benzer olduğu tespit edildi. Aynı dönemde YBÜ'sinde tedavi gören hastalardan izole edilen suşlar arasında da genotipik benzerliğin olduğu görüldü (Tablo 4.7 ve Tablo 4.8)

Tablo 4.7 : GSBL üreten *K. pneumoniae* izolatlarının genotipik benzerlikleri (Benzer genotipler aynı harf ile kodlanmıştır.).

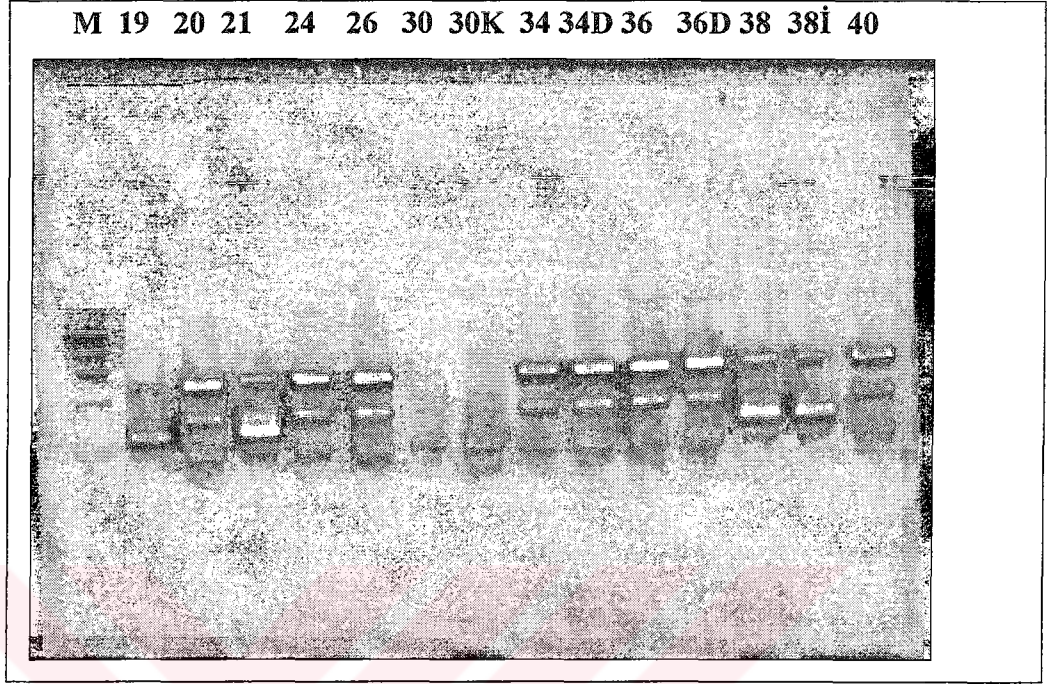
HASTA NO	BAKTERİNİN İZOLE EDİLDİĞİ ÖRNEK	GENOTİP
11	Rektal sürüntü	A
25	Rektal sürüntü	B
57	Rektal sürüntü	C
59	Rektal sürüntü	D
59	Kateter	D
71	Rektal sürüntü	E
91	Rektal sürüntü	F
99	Rektal sürüntü	F
100	Rektal sürüntü	F



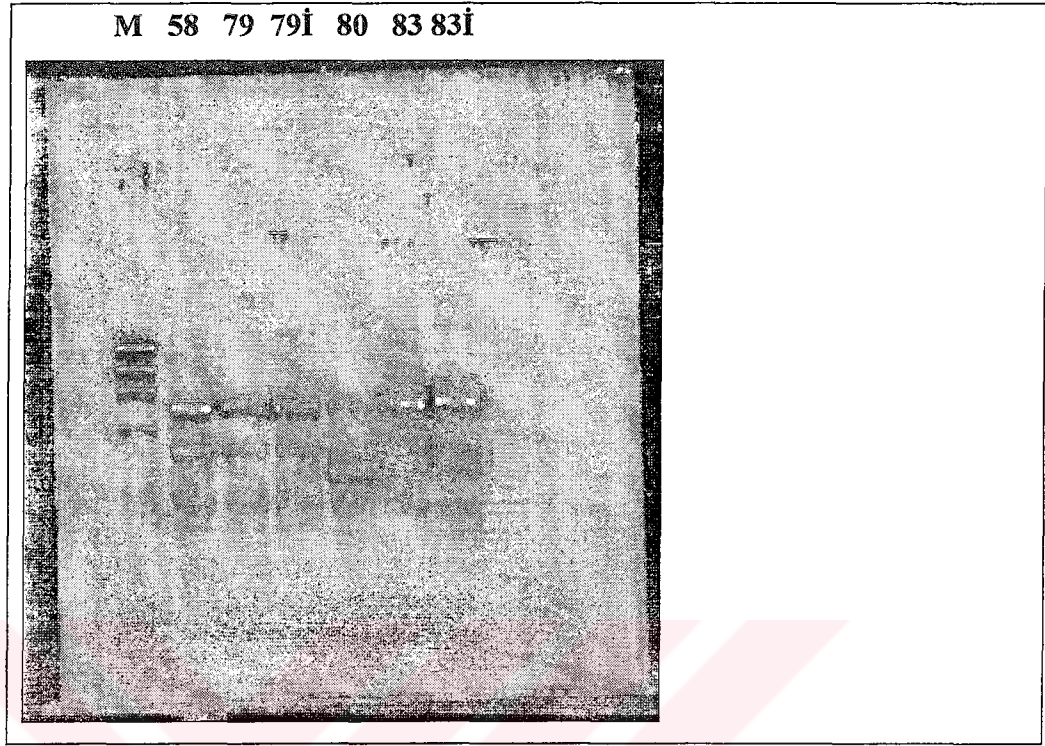
Şekil 4.1 : İzole edilen *K. pneumoniae* suşlarının agaroz jel elektroforezi sonrası görüntüsü (M:Moleküler ağırlık belirleyici, sırasıyla izolatların ait olduğu hastaların numaraları, K (Kateter))

Tablo 4.8 : GSBL üreten *E.coli* izolatlarının genotipik benzerlikleri (Benzer genotipler aynı harf ile kodlanmıştır.).

HASTA NO	BAKTERİLERİN İZOLE EDİLDİĞİ ÖRNEK	GENOTİP
19	Rektal sürüntü	A
20	Rektal sürüntü	A
21	Boğaz sürüntüsü	A
24	Boğaz sürüntüsü	B
26	Rektal sürüntü	B
30	Rektal sürüntü	C
30	Kan	C
34	Boğaz sürüntüsü	D
34	Derin trakeal aspirat	D
36	Boğaz sürüntüsü	D
36	Derin trakeal aspirat	D
38	Rektal sürüntü	E
38	İdrar	E
40	Rektal sürüntü	F
58	Rektal sürüntü	G
79	Rektal sürüntü	G
79	İdrar	G
80	Rektal sürüntü	H
83	Rektal sürüntü	K
83	İdrar	K



Şekil 4.2 : İzole edilen *E. coli* suşlarının agaroz jel elektroforezi sonrası görüntüsü (M:Moleküler ağırlık belirleyici, sırasıyla izolatların ait olduğu hastaların numaraları, D (DTA), K (Kan), İ (İdrar)).



Şekil 4.3 :İzole edilen *E. coli* suşlarının agaroz jel elektroforezi sonrası görüntüsü (M:Moleküler ağırlık belirleyici, sırasıyla izolatların ait olduğu hastaların numaraları, İ : İdrar).

4.2 Risk faktörlerinin analizi

Hastalar GSBL üreten *E. coli* ve *K. pneumoniae* ile kolonizasyon ve enfeksiyon hastalığı gelişimi açısından risk faktörlerini değerlendirmek amacıyla yaş, cinsiyet, santral venöz kateterizasyon, hemodiyaliz uygulanması, invaziv veya non-invaziv mekanik ventilatör kullanımı, APACHE 2 skorları, antibiyotik ve kortikosteroid kullanımı, altta yatan hastalığın türü açısından karşılaştırıldı.

4.2.1 Yaş

GSBL üreten *E. coli* ve *K. pneumoniae* ile kolonize olan hastaların yaş ortalaması 42,66 yıl; olmayan hastaların yaş ortalaması ise 52,71 yıl olarak bulundu. Her iki grup arasında yaş konusunda kolonizasyon gelişimi açısından anlamlı bir fark bulunmadı ($p>0,05$).

Kolonize olan hastalar içerisinde enfeksiyon hastalığı gelişimi açısından hastaların yaşları karşılaştırıldığında, enfeksiyon hastalığı gelişen hastaların yaş ortalaması 58,14 yıl iken, kolonize olup enfeksiyon gelişmeyen hastaların yaş ortalaması 59,19 yıl olarak bulundu. Her iki grup arasında yaş konusunda enfeksiyon hastalığı gelişimi açısından anlamlı bir fark bulunmadı ($p>0,05$).

4.2.2 Cinsiyet

GSBL üreten *E. coli* ve *K. pneumoniae* ile kolonize hastaların 10'u erkek 12'si kadın hastalardan, kolonize olmayan hastaların 41'i erkek 37'si kadın hastalardan oluştu. Her iki grup arasında cinsiyet konusunda kolonizasyon gelişimi açısından anlamlı bir fark bulunmadı ($p>0,05$).

Kolonize olan hastalar içerisinde enfeksiyon hastalığı gelişimi açısından hastaların yaşları karşılaştırıldığında; enfeksiyon hastalığı gelişen hastaların 6'sının kadın 1'inin erkek olduğu, enfeksiyon gelişmeyen hastaların 9'unun erkek 6'sının kadın olduğu görüldü. Kadın cinsiyetinin enfeksiyon hastalığı gelişimi açısından anlamlı olduğu tespit edildi ($p<0,05$).

4.2.3 Yatış süresi

GSBL üreten *E. coli* ve *K. pneumoniae* ile kolonize hastaların ortalama yatış süresi 16,22 (4-35) gün kolonize olmayan hastaların ortalama yatış süresi 10,94 (4-56) gün olarak bulundu. Her iki grup arasında yatış süresi konusunda kolonizasyon gelişimi açısından anlamlı bir fark bulunmadı ($p>0,05$).

Kolonize olan hastalar içerisinde enfeksiyon hastalığı gelişimi açısından hastaların yatış süreleri karşılaştırıldığında; enfeksiyon hastalığı gelişen hastaların ortalama yatış süresi 14,57 gün; enfeksiyon gelişmeyen hastaların ortalama yatış süresi 16,33 gün olarak bulundu. Her iki grup arasında yatış süresi konusunda enfeksiyon gelişimi açısından anlamlı bir fark bulunmadı ($p>0,05$).

4.2.4 Yoğun bakım ünitesine kabul öncesi hastanede yatış öyküsü bulunması

GSBL üreten *E. coli* ve *K. pneumoniae* ile kolonize hastaların 9'unda, kolonize olamayan grupta ise 29 hastada yoğun bakım ünitesi öncesinde yatış öyküsü bulunurken; kolonize olan hastaların 13'ünde kolonize olmayan hastaların 49'unda önceye ait yatış öyküsü yoktu. Her iki grup arasında yoğun bakım ünitesi öncesinde yatış öyküsü olması konusunda kolonizasyon gelişimi açısından anlamlı bir fark bulunmadı ($p>0,05$).

Kolonize olan hastalar içerisinde enfeksiyon hastalığı gelişimi açısından yoğun bakım ünitesi öncesinde yatış öyküsü karşılaştırıldığında enfekte olan 7 hastadan 5'inde enfekte olmayan 15 hastadan ise 3'ünde yoğun bakım ünitesi öncesinde yatış öyküsü olduğu görüldü. Yoğun bakım ünitesi öncesinde yatış öyküsü bulunmasının kolonize bakterilerle enfeksiyon hastalığı gelişimi açısından istatistiksel olarak anlamlı olduğu tespit edildi ($p<0,05$).

4.2.5 Mekanik ventilatör kullanımı

Çalışmaya alınan 100 hastadan 46'sında invaziv mekanik ventilatör, 24'ünde invaziv olmayan mekanik ventilatör , 3'ünde hem invaziv mekanik ventilatör hem de invaziv olmayan mekanik ventilatör kullanımı olduğu görüldü. GSBL üreten *E. coli* ve *K. pneumoniae* ile kolonize 22 hastanın 12'sinde invaziv, 2'sinde invaziv olmayan mekanik ventilatör kullanımı, 2 hastada ise hem invaziv hem de invaziv olmayan mekanik ventilatör kullanımı tespit edildi. Kolonize olmayan 78 hastadan 34'ünde invaziv , 22'sinde invaziv olmayan mekanik ventilatör, 1'inde ise hem invaziv hem de invaziv olmayan mekanik ventilatör kullanımı tespit edildi. İnvaziv mekanik ventilatör kullanımının kolonizasyon gelişimi açısından istatistiksel olarak anlamlı bir etki oluşturduğu saptandı ($p<0,05$).

Kolonize olan hastalar içerisinde enfeksiyon hastalığı gelişimi açısından aynı değerlendirme yapıldığında; 7 hastadan 6'sında invaziv , bir hastada hem invaziv hem de invaziv olmayan mekanik ventilatör kullanımı tespit edilirken; kolonize ancak klinik enfeksiyon gelişmeyen 15 hastadan 6'sında invaziv, 2 hastada hem invaziv hem de invaziv olmayan mekanik ventilatör kullanımı, 2 hastada ise invaziv olmayan mekanik ventilatör kullanımı tespit edildi. Her iki grup arasında mekanik ventilatör (invaziv veya invaziv olmayan) kullanımı konusunda enfeksiyon hastalığı gelişimi açısından istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmadı ($p>0,05$).

4.2.6 Santral venöz kateter (SVK) kullanımı

GSBL üreten *E. coli* ve *K. pneumoniae* ile kolonize hastaların 11'inde SVK kullanımı mevcutken, kolonize olmayan hastaların 25'inde SVK kullanımı tespit edildi. Her iki grup arasında SVK kullanımının kolonizasyon gelişimi açısından istatistiksel olarak anlamlı bir fark oluşturmadığı görüldü ($p>0,05$).

Kolonize olan hastalar içerisinde enfeksiyon hastalığı gelişimi açısından SVK kullanımı değerlendirildiğinde; enfeksiyon gelişen hastaların 5'inde,

gelişmeyen hastaların ise 6'sında SVK kullanımı tespit edildi. Her iki grup arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark olmadığı görüldü ($p>0,05$).

4.2.7 Hemodiyaliz

GSBL üreten *E. coli* ve *K. pneumoniae* ile kolonize hastaların 3'ünde, kolonize olmayan hastaların 5'inde hemodiyaliz uygulaması tespit edildi. Her iki grup arasında hemodiyaliz uygulamasının kolonizasyon gelişimi açısından istatistiksel olarak anlamlı bir fark oluşturmadığı görüldü ($p>0,05$).

Kolonize olan hastalar içerisinde enfeksiyon hastalığı gelişimi açısından hemodiyaliz uygulaması değerlendirildiğinde, enfekte hastaların 2'sinde enfekte olmayan hastaların ise 1'inde hemodiyaliz uygulandığı tespit edildi. Her iki grup arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark olmadığı görüldü ($p>0,05$).

4.2.8 APACHE 2 skoru

GSBL üreten *E. coli* ve *K. pneumoniae* ile kolonize hastaların Apache 2 skorlarının ortalaması 19,63, kolonize olmayan hastalarda bu değer 18,11 olarak bulundu. Her iki grup arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark olmadığı görüldü ($p>0,05$).

Kolonize olan hastalar içerisinde enfeksiyon hastalığı gelişimi açısından Apache 2 skorları değerlendirildiğinde enfekte hastaların Apache 2 skor ortalaması 22,85, enfekte olmayan hastaların Apache 2 skor ortalaması 18,13 olarak belirlendi. Her iki grup arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark olmadığı görüldü ($p>0,05$).

4.2.9 Steroid kullanımı

GSBL üreten *E. coli* ve *K. pneumoniae* ile kolonize hastaların 8'i steroid kullanırken kolonize olmayan hastaların 21'i steroid kullandığı görüldü. Kolonizasyon gelişmesi açısından her iki grup arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmadı ($p>0,05$).

Kolonize olan hastalar içerisinde enfeksiyon hastalığı gelişimi açısından steroid kullanımı değerlendirildiğinde, enfekte hastaların 3'ünün enfekte olmayan hastaların ise 5'inin steroid kullandığı görüldü. Enfeksiyon hastalığı gelişimi açısından steroid kullanımının istatistiksel olarak anlamlı bir fark oluşturmadığı tespit edildi ($p>0,05$).

4.2.10 Sefalosporin kullanımı

GSBL üreten *E. coli* ve *K. pneumoniae* ile kolonize 22 hastanın 4'ü sefuroksim, 3'ü seftriakson, 1'i sefepim, 2'si sefoperazon-sulbaktam kullanırken, kolonizasyon tespit edilmeyen 78 hastadan 8'i sefuroksim, 5'i seftriakson, 5'i sefepim, 1'i sefoperazon-sulbaktam kullanıyordu. Sefalosporin kullanımının kolonizasyon gelişimi açısından istatistiksel olarak anlamlı fark oluşturduğu görüldü ($p<0,05$).

Kolonize olan hastalar içerisinde enfeksiyon hastalığı gelişen hastalardan 1'inde sefuroksim kullanımı mevcutken, enfeksiyon hastalığı gelişmeyen hastalardan 3'ünde sefuroksim, 3'ünde seftriakson, 1'inde sefepim, 2'sinde sefoperazon kullanımı mevcuttu. Kolonize hastalar arasında enfeksiyon hastalığı gelişimi açısından sefalosporin kullanımının istatistiksel olarak anlamlı bir fark oluşturmadığı tespit edildi ($p>0,05$).

4.2.11 Altta yatan hastalık

MALİGNENSİ:

GSBL üreten *E. coli* ve *K. pneumoniae* ile kolonize 22 hastanın 2'si, kolonize olmayan 78 hastanın ise 3'ünde altta yatan malign bir hastalık mevcuttu. Kolonizasyon açısından malignensinin istatistiksel olarak anlamlı bir risk faktörü oluşturmadığı görüldü ($p>0,05$).

Kolonize olan hastalar içerisinde enfeksiyon gelişen 7 hastadan 1'inde, enfekte olmayan 15 hastadan yine 1'inde altta yatan malignensi mevcuttu. Malignensinin enfeksiyon hastalığı gelişiminde istatistiksel olarak anlamlı bir fark oluşturmadığı tespit edildi ($p>0,05$).

KRONİK OBSTRUKTİF AKCİĞER HASTALIĞI:

GSBL üreten *E. coli* ve *K. pneumoniae* ile kolonize 22 hastanın 9'u, kolonize olmayan 78 hastanın ise 18'inde kronik obstruktif akciğer hastalığı tespit edildi. Kolonizasyon açısından kronik obstruktif akciğer hastalığının istatistiksel olarak anlamlı bir risk faktörü oluşturmadığı görüldü ($p>0,05$).

Kolonize olan hastalar içerisinde enfeksiyon gelişen 7 hastadan 2'sinde, enfekte olmayan 15 hastadan 7'sinde kronik obstruktif akciğer hastalığı tespit edildi. Kronik obstruktif akciğer hastalığının enfeksiyon gelişiminde istatistiksel olarak anlamlı bir fark oluşturmadığı tespit edildi ($p>0,05$).

4.2.12 Kolonizasyon

GSBL üreten *E. coli* ve *K. pneumoniae* ile enfeksiyon hastalığı gelişimi açısından kolonizasyon bir risk faktörü olarak analiz edildiğinde, enfeksiyon hastalığı gelişen 7 hastadan 7'sinin de GSBL üreten *E. coli* veya *K. pneumoniae* ile kolonize olduğu, kolonizasyon olmaksızın enfeksiyon hastalığı gelişmediği görüldü.

4.2.13 Kolonizasyon gelişme süresi

GSBL üreten *E. coli* ve *K. pneumoniae* ile enfeksiyon hastalığı gelişen 7 hastada ortalama 6,79 günde kolonizasyon tespit edilirken; enfeksiyon gelişmeyen 15 hastada ortalama 13,70 günde kolonizasyonun saptandığı görüldü. Erken kolonizasyon gelişiminin kolonize hastalarda enfeksiyon hastalığı gelişimi açısından istatistiksel olarak anlamlı bir fark oluşturduğu görüldü ($p<0,05$).

4.2.14 Mortalite

GSBL üreten *E. coli* ve *K. pneumoniae* ile kolonize 22 hastanın 6'sı, kolonize olmayan 78 hastanın ise 24'ü yoğun bakım ünitesinde kaybedildi. Kolonize olan ve olmayan grup arasında mortalite açısından istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmadı ($p>0,05$).

Kolonize olan hastalar içerisinde enfeksiyon hastalığı gelişen 7 hastadan 2'si, enfekte olmayan 15 hastadan ise 4'ü hayatını kaybetti. Hastalardan hiçbirisinin GSBL üreten bakterilerle gelişen enfeksiyonlar nedeniyle kaybedilmediği görüldü. Her iki grup arasında mortalite açısından anlamlı bir fark bulunmadı ($p>0,05$).

Tablo 4.9 : Kolonizasyon açısından risk faktörlerinin değerlendirilmesi

<i>Risk faktörleri</i>	<i>P</i>
<i>Yaş</i>	<i>>0.05</i>
<i>Cinsiyet</i>	<i>>0.05</i>
<i>Yatış süresi</i>	<i>>0.05</i>
<i>YBÜ'si öncesi hastane yatışı</i>	<i>>0.05</i>
<i>Sefalosporin kullanımı</i>	<i>< 0.05</i>
<i>İnvaziv mekanik ventilatör kullanımı</i>	<i>< 0.05</i>
<i>SVK kullanımı</i>	<i>>0.05</i>
<i>APACHE 2 skoru</i>	<i>>0.05</i>
<i>Kortikosteroid kullanımı</i>	<i>>0.05</i>
<i>Altta yatan hastalık</i>	<i>>0.05</i>
<i>Hemodiyaliz</i>	<i>>0.05</i>

Tablo 4.10 : Kolonize hastalarda enfeksiyon hastalığı gelişimi açısından risk faktörlerinin değerlendirilmesi

<i>Risk faktörleri</i>	<i>P</i>
<i>Yaş</i>	<i>>0.05</i>
<i>Cinsiyet</i>	<i>< 0.05</i>
<i>Kolonizasyon</i>	<i>< 0.05</i>
<i>Yatış süresi</i>	<i>>0.05</i>
<i>Kolonizasyon gelişim süresi</i>	<i>< 0.05</i>
<i>YBÜ'si öncesi hastane yatışı</i>	<i>< 0.05</i>
<i>Sefalosporin kullanımı</i>	<i>> 0.05</i>
<i>Mekanik ventilatör kullanımı</i>	<i>>0.05</i>
<i>SVK kullanımı</i>	<i>>0.05</i>
<i>APACHE 2 skoru</i>	<i>>0.05</i>
<i>Kortikosteroid kullanımı</i>	<i>>0.05</i>
<i>Alta yatan hastalık</i>	<i>>0.05</i>
<i>Hemodiyaliz</i>	<i>>0.05</i>

4.3 Maliyet hesaplaması

Maliyet hesaplaması yapılırken, yılda 250 hastanın yattığı, ortalama yatış süresinin 10 gün olduğu, hastaların %20'sinin sürveyans amacıyla alınan kültürlerinden birinde GSBL üreten bir enterik bakteri izole edildiği ve bir hafta süreyle sıkı temas izolasyonu uygulandığı kabul edilen bir model tasarlandı.

4.3.1 Laboratuvar maliyeti

İki farklı yöntem izlendi.

Yöntem 1: 250 hastanın 10 gün boyunca 3 boğaz ve 3 rektal kültür alınarak (YBÜ'sine yatışta, 48.saat ve 7.günde) izlendiği kabul edildi. Klinik Patoloji laboratuvarında boğaz kültürünün 30.000.000 TL, gaita kültürünün ise 50.000.000 TL fiyatla işlem görmesi referans alındığında; 750 boğaz kültürü

için 22.500.000.000 TL, 750 rektal sürüntü örneği içinse 37.500.000.000 TL olmak üzere bir yıl için toplam 60 milyar TL kültür değerlendirme maliyeti olacağı hesaplandı.

Yöntem 2 : Aynı modeldeki bir surveyans çalışmasına özgü kültür maliyeti; kullanılacak besiyerleri, antibiyotik diskleri, bakteri tanımlama kiti ve teknisyen giderleri göz önüne alınarak hesaplandı.

1 adet MacConkey besiyeri: 300.000 TL

1 adet Kanlı agar: 350.000 TL

1 adet Mueller-Hinton agar: 250.000 TL

1 adet transport besiyeri: 50.000 TL

1 adet antibiyotik diski: 40.000 TL X 5 (Her testte 5 adet disk kullanılacak)

Teknisyen maliyeti: 1.200.000 TL (Aylık ücret 800.000.000 TL, her ay 5 saatini bu çalışmaya ayırdığında test başına işgücü maliyeti)

API 20E sistemi ile bakterinin tanımlanması: 15.000.000 TL (test başına)

TOPLAM : 17.350.000 TL

250 hastadan hasta başına 6 kültür alındığında toplam maliyet 26.025.000.000 TL/yıl olarak gerçekleşecektir. Kültürlerin %20'sinde GSBL üreten bakteri izole edildiği ve sadece bu bakteriler için tür tanımlaması yapılması planlandığında ise maliyet 8.025.000.000 TL/yıl (3.525.000.000 TL/yıl tarama testleri, 4.500.000.000 TL/yıl pozitif izolatların tanımlama testleri) olacaktır.

4.3.2 Hasta bakım maliyeti

YBÜ'sinde bir hastaya günde en az 40 temas (doktor, hemşire, hasta bakıcı) olmaktadır. Sıkı temas izolasyonu uygulanan hastaya her temas öncesi eldiven ve tek kullanımlık önlük giyilmesi gereklidir. Hastanemizde tek kullanımlık bir önlüğün fiyatı 3.500.000 TL, bir çift eldivenin fiyatı ise 30.000 TL'sidir. Bir hastaya 7 gün süreyle sıkı temas izolasyonu prensiplerine uygun bakım verilmesi sonucu günde 140.000.000 TL önlük, 1.200.000 TL eldiven harcaması yapılması gerekecektir. 250 hastadan 50'sine bir hafta süresince

izolasyon tedbirleri uygulanması sonucu 4.942.000.000 TL'lik ek harcama yapılması gerekecektir.

Ülkemizde izole oda veya yatak için ayrı bir fiyat uygulaması olmaması nedeniyle, ön görülen modelde izole edilen hasta için yatak ücretinin normale göre %25 fazla olması durumunda (YBÜ'sinde normal yatak ücreti 105.000.000 TL) izolasyon uygulanan her gün için 26.250.000 TL ek ödeme yapılmasını gerektirmektedir. Bu ise 250 hastadan 50'sine bir hafta süresince izolasyon tedbirleri uygulanması sonucu 9.187.500.000 TL'si ek maliyet getirecektir.

GSBL üreten *K. pneumoniae* ve *E. coli* ile kolonizasyonu tespiti yönelik sürdürülecek sürveyans yönteminin 1 yıllık toplam maliyeti, uygulanacak olan laboratuvar yöntemine göre yaklaşık 18-70 milyar TL olarak hesaplanmıştır.

TARTIŞMA

Yoğun bakım üniteleri, acil yaşam desteğine ihtiyaç duyan hastaların yatırılarak yaşam fonksiyonlarının normalleştirmeye yönelik tedavinin adeta zamanla yarışır biçimde verildiği hizmet birimleridir. Dirençli bakterilerle gelişen enfeksiyon hastalıkları ise YBÜ'lerinde en önemli mortalite nedenlerinden biridir. Avrupa'da 1417 YBÜ'sinde yapılan bir çalışmada, hastaların %20,6'sında YBÜ'sinde enfeksiyon hastalığı geliştiği bildirilmiştir (70). Sürveyans programları, enfeksiyon kontrolünde en önemli yaklaşımlardan birini oluşturmaktadır. Her merkezin kendi verilerini analiz ederek enfeksiyon kontrol programındaki öncelikleri tespit etmesi gerektiği bilinmektedir. İç Hastalıkları YBÜ'sinde gerçekleştirilen bu çalışmada; ünite de tedavi gören hastalarda GSBL üreten *Enterobacteriaceae* ile enfeksiyon hastalığı gelişim oranını belirlemek ve bilinen bir salgın olmaksızın GSBL üreten *E. coli* ve *K. pneumoniae* ile kolonizasyonun sürveyans kültürleri ile erken dönemde tespitinin maliyet etkinliğini değerlendirmek olmak üzere temel iki hedef belirlendi.

Çalışmamızda, YBÜ'sinde yatan hastalardan enfeksiyon hastalığı etkeni olarak izole edilen tüm *Enterobacteriaceae* suşları için GSBL üretimi %13.72, *E. coli* ve *K. pneumoniae* içinse GSBL üretimi %16.27 olarak tespit edildi. Çalışmanın yapıldığı dönemde üniversitemiz erişkin hastanesinde GSBL üretiminin tespitine yönelik testler rutin olarak yapılmadığı için diğer servislerle veya önceki yıllarla karşılaştırma olanağı elde edilemedi. Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi Erişkin Hastanesi yoğun bakım ünitelerinde yatan hastalardan izole edilen Gram negatif basillerde GSBL'ların moleküler analizinin konu edildiği bir çalışmada GSBL üretimi %35 oranında saptanmıştır (71); ancak bu çalışmada cerrahi YBÜ'lerinin de çalışmaya dahil edilmesi, belirli bir dönemde izole edilen tüm bakterilerle değil de rastgele seçilen bakterilerle çalışılması, iki çalışma arasında GSBL pozitiflik

oranlarının karşılaştırılmasını mümkün kılmamıştır. Uygun epidemiyolojik yöntemler izlenen çalışmalarda da GSBL üreten bakteri izolasyon sıklıkları, ülkeler ve merkezler arasında farklılık göstermektedir. Hollanda'da 11 hastaneyi içeren bir araştırmada, GSBL üreten *E. coli* ve *K. pneumoniae* oranı %1'in altında bulunurken (72), Fransa'da *K. pneumoniae* için aynı oran %40 olarak bulunmuştur (73). Avrupa'da seftazidim direnci; yoğun bakım ünitesi dışında izole edilen *K. pneumoniae* suşlarında %20 , yoğun bakım ünitelerinde izole edilen *K. pneumoniae*'larda ise %42 olarak bulunmuştur (7). Amerika Birleşik Devletleri'nde YBÜ'lerinde veya YBÜ dışında seftazidim direnci *K. pneumoniae*'da %5-10 arasında bulunmuş, ülke genelinde ise tüm *Enterobacteriaceae* için bu oran %3 olarak bildirilmiştir (7). Japonya'da 196 merkezden gönderilen veriler toplandığında, GSBL üreten *E. coli* oranı %0.1'in altında, *K. pneumoniae* oranı ise %0.3 olarak bildirilmiştir (41). Diğer Asya ülkelerinde ise *E. coli* ve *K. pneumoniae*'da GSBL üretim oranları Kore'de %4.8 (74), Tayvan'da %8.5 (75), Hong Kong'ta ise %12 (42) olarak bildirilmiştir.

Ülkemizde GSBL ilk olarak 1992 yılında *Klebsiella* türlerinde gösterilmiştir (43). Akata ve ark. nozokomiyal enfeksiyonlardan saptanan *Enterobacteriaceae* izolatları ile yaptıkları çalışmada %11.8 (44), Durmaz ve ark. *Klebsiella* türlerinde %48 (76), Aktaş ve ark. yenidoğan YBÜ'lerinde izole edilen *K. pneumoniae* suşlarında %60 (45), Gülay ve ark. ise *K. pneumoniae* için %80 (77) oranında GSBL üretimi rapor etmişlerdir. Leblebicioğlu ve arkadaşlarının, 16 hastanenin YBÜ'lerinden izole edilen Gram negatif bakterilerin antibiyotik duyarlılıklarının belirlendiği çalışmalarında, *K. pneumoniae*'da %50 oranında GSBL üretimi bildirilmiştir (78). Yaptığımız çalışmada GSBL pozitif izolat görülme sıklığı Batı Avrupa ve ülkemiz literatürüne göre düşük saptanmıştır. Bunda; özellikle fermentasyon yapmayan Gram negatif bakterilerle görülen enfeksiyon hastalığı oranlarındaki belirgin artışın önemli payı olduğu düşünülmüştür. Çalışmanın yapıldığı dönemde bakteriyemi etkeni olarak 2, alt solunum yolu örneklerinden 2 GSBL üreten

E. coli ve *K. pneumoniae* izole edilirken; bakteriyemi etkeni olarak 12 (5 *A. baumannii*, 3 *A. lwoffii*, 3 *P. aeruginosa*, 1 *S. maltophilia*) alt solunum yolu örneklerinden ise 28 (14 *A. baumannii*, 1 *A. lwoffii*, 7 *P. aeruginosa*, 6 *S. maltophilia*) fermentasyon yapmayan Gram negatif basil izole edilmesi, YBÜ’ünde ağırlıklı olarak sorun oluşturan bakteri grubunun *Pseudomonas* ve *Acinetobacter* türleri olduğunu düşündürmektedir.

Gastrointestinal sistem birçok nozokomiyal etken için önemli bir rezervuar görevi yapmaktadır (79). Ayrıca YBÜ’lerinde tedavi gören hastalarda kısa sürede Gram negatif basillerle boğaz kolonizasyonu gelişmektedir (80) Çalışmamızda hastaların %22’ünde GSBL üreten *K. pneumoniae* ve *E. coli* (8 *K. pneumoniae*, 14 *E. coli*) ile kolonizasyon, tüm hastaların %7’ünde, kolonize hastaların ise %31.8’inde bu bakterilerle enfeksiyon hastalığı tespit ettik. Hollander ve ark. YBÜ’ünde tedavi gördükten sonra nörolojik rehabilitasyon ünitesine transfer edilen hastalarda 11 ay süresince ile yaptıkları taramada 10 hastada üst solunum yollarında GSBL üreten *K. pneumoniae* ile kolonizasyon tespit etmiştir (81). Yine ülkemizde yapılan bir çalışmada YBÜ’ünde yatan hastalarda %60 oranında boğazda kolonizasyon geliştiği ve nozokomiyal enfeksiyonların %48’inde kolonize olan bakterilerin etken olarak izole edildiği bildirilmiştir (82). Pena ve ark. yaptıkları çalışmada 4 ay boyunca YBÜ’ünde tedavi gören hastaları rektal sürüntü örnekleri ile haftalık olarak taradıklarında hastaların %38’inde GSBL üreten *K. pneumoniae* ile fekal kolonizasyon tespit etmiş (5); Maustaoui ve ark. ise, cerrahi yoğun bakım ünitesinde tedavi gören hastaların %29.4’ünde GSBL üreten *K. pneumoniae*, *E. coli* ve *C. diversus* ile rektal taşıyıcılık saptamış, kolonize hastaların %8’inde bu bakterilerle enfeksiyon hastalığı geliştiğini bildirmiştir (83). Gardam ve ark. bir transplantasyon ünitesinde 3.kuşak sefalosporinlere dirençli *Enterobacteriaceae* ailesindeki bakterilerle kolonizasyonun tespitine yönelik sürveyans çalışmasında hastaların %24’ünde kolonizasyon saptamış; kolonize hastaların ise %9’unda bu bakterilerle enfeksiyon hastalığı gelişmiştir (84). Yücel ve arkadaşlarının yenidoğan YBÜ’ünde yaptıkları çalışmada ise GSBL

üreten *K. pneumoniae* ile kolonize bebeklerden %11.3'ünde enfeksiyon hastalığı geliştiği saptanmıştır (85). Kolonizasyonun dirençli bakterilerle gelişen enfeksiyon hastalıklarında önemli bir risk faktörü olduğu gösterilmiştir.

Literatürdeki çalışmalar değerlendirildiğinde kolonizasyonun genelde birinci hafta içerisinde gerçekleştiği görülmektedir (5,83,85). Çalışmamızda ise YBÜ'sine kabul edildiğinde kolonize olan 4 hasta haricinde, rektal kolonizasyonun ortalama 6.9 günde, boğaz kolonizasyonu ise ortalama 7.5 günde oluşmuştur. Hastalarda sadece bir kültürde GSBL üreten bakterilerle kolonizasyon tespit edilmesi, kalıcı kolonizasyon olmadığı fikrini doğursa da, hastalardan 10'unda kolonizasyonun tespit edildiği kültürden sonra tekrar kültür alınmadan YBÜ'sinden taburcu olması ve YBÜ'sinde GSBL üreten bakterilere karşı etkinliği yüksek olan antibiyotikler içerisinde yer alan imipenem, amikasin ve piperasilin-tazobaktam kullanımının yaygın olması, bu bulgunun tartışılmasını zorlaştırmaktadır.

Dirençli bakterilerle kolonizasyon gelişiminde predispozan birçok ortak faktör tanımlanmıştır. Uzun süreli hastane yatış öyküsü, altta yatan hastalığın şiddeti, üriner ve vasküler kateterizasyon, mekanik ventilator kullanımı, geniş spektrumlu antibiyotiklerin yaygın ve uzun süreli kullanımı, yenidoğanlarda düşük doğum ağırlığı gibi nedenler çoklu dirençli bakterilerle enfeksiyon hastalığı ve kolonizasyon gelişimi için genel anlamda ortak risk faktörleri olarak tanımlanmıştır (86-90). Ancak merkezler arasındaki tanı ve tedavi programlarındaki farklılık, bu risk faktörlerinin her çalışmada yeniden irdelenmesini gerektirmektedir. Yaptığımız çalışmada yaş, cinsiyet, yatış süresi, YBÜ'si öncesi hastanede yatış öyküsü, santral venöz kateter kullanımı, altta yatan hastalık, kortikosteroid kullanımı ve hemodiyaliz uygulaması kolonizasyon gelişimi açısından istatistiksel olarak anlamlı bir fark oluşturmazken; sefalosporin kullanımı ve invaziv mekanik ventilator kullanımı kolonizasyonu artıran faktörler olarak tespit edilmiştir.

Yaptığımız çalışmada, boğaz kültüründe GSBL üreten *E. coli* ile kolonizasyon saptanan 4 hastadan 2'sinde derin trakeal aspirat kültüründe

benzer genotipik kalıba sahip *E. coli* izole edilmiştir. Her 2 hasta da mekanik ventilatör kullanımı mevcut olup, bu 2 hasta ventilatör ilişkili pnömoni tanısıyla tedavi görmüşlerdir. Mekanik ventilatör kullanımı 48 saati aşan hastaların boğaz sürveyans kültürleri alınarak izlendiği prospektif bir çalışmada, hastaların %18'inde Gram negatif basillere bağlı pnömoni geliştiği görülmüş ve aynı bakterilerin %85'inin boğaz bölgesinden daha önce izole edildikleri bildirilmiştir (91).

Çalışmamızda geniş spektrumlu sefalosporinlerin kullanımı kolonizasyon gelişim açısından istatistiksel olarak anlamlı bir risk faktörü olarak belirlenmiştir. Geniş spektrumlu sefalosporinler 1980'lerde kullanıma girdikten kısa süre sonra bu antibiyotiklere karşı direnç bildirilmiştir. Diğer taraftan da, vankomisin dirençli enterokokları seçici etki göstermesi nedeniyle bir başka önemli sorunun tetikleyici faktörleri içerisinde gösterilmiştir (92,93) Benzer durum GSBL enzimlerinin ortaya çıkışında da görülmüştür. Özellikle seftazidimin yaygın olarak kullanılması GSBL üreten bakterilerle salgınların yaygınlaşmasıyla, kullanımının kısıtlanması ise salgınların kontrol altına alınmasıyla ilişkilendirilmiştir (94-96). Geniş spektrumlu sefalosporinlerin kullanımı sadece GSBL üreten bakterilerle enfeksiyon hastalığı gelişiminden değil, aynı zamanda bu bakterilerle olan kolonizasyondan da sorumlu bir faktör olarak tespit edilmiştir (5,81,84).

Bu çalışmada kolonize hastalarda bu bakterilerle enfeksiyon hastalığı gelişimi için risk faktörleri olarak erken kolonizasyon gelişmesi, YBÜ'si öncesi hastane yatış öyküsü olması ve kadın cinsiyeti karşımıza çıkmaktadır. Enfeksiyon hastalığı gelişen 7 hastada 4'ünde üniteye kabul edildikleri gün 2'sinde ise yatışın 48.saatinde kolonizasyon tespit edilmiştir. 4 günden uzun süreli YBÜ'si öncesi yatış öyküsü bulunan bu hastalar, enfeksiyöz problemlerden kaynaklanan uç organ hasarı nedeniyle YBÜ'sine kabul edilmişler ve dirençli patojenlerle enfeksiyon hastalığı geliştirme açısından yüksek risk grubu içerisinde yer almışlardır. İlk bakışta kadın cinsiyeti enfeksiyon hastalığı gelişiminde beklenmeyen bir veri olarak görünse de, bu

özellik üriner sistem enfeksiyonları için risk faktörleri içerisinde yer almaktadır (97). Enfeksiyon hastalığı görülen 7 hastadan 3'ünde idrar yolu enfeksiyonu saptanmıştır. Bu hastaların hepsinin kadın olması anatomik olarak rekto-üretral yakınlığın hastalarda enfeksiyona yatkınlık oluşturacağını düşündürmüştür.

Bu çalışmanın yapıldığı yedi aylık zaman diliminde, GSBL üreten bakterilerle kolonizasyon oluşmadan hiçbir hastada bu bakterilerle enfeksiyon hastalığı gelişmediği saptandı. Kolonizasyonun, enfeksiyon hastalığı gelişimi açısından bu kadar önemli olması kolonize bölgelere yönelik koruyucu seçici dekontaminasyon tedavileri ile bu durumun engellenip engellenemeyeceği sorularını akla getirmektedir. Decre ve ark. Fransa'da bir YBÜ'sinde patlak veren SHV-4 GSBL üreten *K. pneumoniae* salgınında, polimiksin B-eritromisin kombinasyonu ile seçici sindirim yolu dekontaminasyonuna yönelik bir çalışma yapmış; gastrointestinal kolonizasyon prevalansında istatistiksel olarak anlamlı bir düşme saptanmazken, intestinal bölge dışındaki alanlarda kolonizasyon ve enfeksiyon hastalığı gelişim oranının arttığı görülmüştür (98). Hollander ve ark. ise üst solunum yollarında kolonizasyon saptanan hastalarda 'hexetidin' içeren gargara, gentamisin ve povidon-iodin içeren merhemlerle kolonizasyonu eradike edemezken; povidon-iodin içeren nazal sprey ile eradikasyonu sağlamıştır (81). Ancak bu çalışmada hasta sayısının sınırlı olması ve mekanik ventilatör uygulaması gibi ek risk faktörlerinin bulunmaması özellikle yoğun bakım hastaları için bu yaklaşımın geçerliliğinin şüphe ile karşılanmasına neden olmaktadır. Temas izolasyonu, bu bakterilerin yayılımının engellenmesinde halen en geçerli yaklaşım olarak karşımıza çıkmaktadır (99).

GSBL sentezinin tespiti ile ilgili önemli bir başka sorun ise bu enzimlerin her zaman 'oxyimino-sefalosporinler' ve aztreonamın tamamı için MİK değerlerini NCCLS kriterlerine göre dirençli olarak yorumlatacak kadar yükseltmemesidir (20,21). NCCLS tarafından disk difüzyon yöntemi ile yapılan antibiyotik duyarlılık testlerinde, seftazidim (30µg) ve sefpodoksim

(10µg) için 22 mm, aztreonam (30µg) ve sefotaksim (30µg) için 27 mm, seftriakson (30µg) içinse 25 mm ve altında zon ölçülmesi (34) veya bu beş antibiyotikten herhangi birinden 1 µg/ml içeren sıvı besiyerinde üreme olması durumunda GSBL üretiminden şüphelenilmesi önerilmektedir (21). CTX-M tipi enzimlere sahip bakteriler in vitro testlerde seftazidime duyarlı bulunabilmektedir (100). Özellikle yoğun bakım üniteleri gibi uygunsuz antibiyotik tedavisinin mortaliteyi belirgin olarak artıracakları kliniklerde bu durum büyük önem taşımaktadır. Çalışmamızda da GSBL pozitif 2 *K. pneumoniae* suşu sefotaksime duyarlı, aynı izolatlar seftriakson orta duyarlı bulundu. GSBL pozitif 3 *K. pneumoniae* izolatu ise seftazidime orta duyarlı bulundu. Yine GSBL pozitif 2 *E. coli* seftazidime duyarlı, GSBL pozitif farklı 6 *E. coli* izolatu ise seftazidime orta duyarlı bulundu.

In vitro duyarlılık testlerinde yine önemli bir sorun bakteriyel inokulum miktarı ile ilişkilidir. 10^5 'lik inokulumda seftazidim, sefotaksim ve seftriaksondan birine duyarlı görülen bakteriler, inokulum 10^7 ve 10^8 gibi daha yüksek değerlere çıkartıldığında dirençli tespit edilebilmektedir (101). Bu çalışmada da inokulum etkisini değerlendirebilmek amacıyla, hedef antibiyotiklerden en az birine direnç görüldüğünde duyarlılık testleri daha yüksek inokulumda tekrarlandı ve GSBL üretimi saptanmadı. Bu bakterilerin biyokimyasal tiplendirme sonucunda *Enterobacter* türleri olarak tanımlanması direncin GSBL enzimleri tarafından değil, bu grup bakterilerin kromozomal olarak kodladığı AmbC grubu enzimler tarafından oluşturulduğunu düşündürdü.

GSBL sentezleyen bakterilerle oluşan enfeksiyonların tedavisinde; karbapenemler, β -laktam/ β -laktamaz inhibitör kombinasyonları, florokinolonlar ve aminoglikozid grubu antibiyotikler alternatif tedavi seçeneklerini oluşturmaktadır (65). GSBL'ların β -laktamaz inhibitörlerine duyarlı Bush grup 2e içerisinde yer almaları, bu bakterilerle ortaya çıkan enfeksiyonların tedavisinde bu ajanları içeren kombinasyon tedavilerinin kullanımını gündeme getirmiştir. Çalışmamızda GSBL sentezleyen

K. pneumoniae izolatlarında piperasilin-tazobaktam direnci %100, GSBL sentezleyen *E. coli* izolatlarında ise %85.7 olarak tespit edildi. GSBL üreten bakterilere karşı inhibitör kombinasyonlarının terapötik etkisi, GSBL'ların grup 1 β -laktamaz olan AmbC grubu enzimlerle sıklıkla beraber görülmesi, yanısıra antibiyotiklerin etkin bir şekilde bakteri hücrelerine ulaşmasına engel olan porin defekti içeren mutantların sıklığındaki artış tarafından sınırlandırmıştır (102,103). Bu bulgular ışığında bizim merkezimizde de GSBL üreten bakterilerle enfeksiyon hastalığı gelişme riskinin yüksek olduğu hastalarda β -laktam/ β -laktamaz kombinasyonlarının ampirik kullanımını önermiyoruz.

Florokinolonlara karşı direnç bütün dünyada artış göstermektedir. İngiltere'deki hastanelerin %90'ından fazlasında, 1995-2001 yılları arasında kan kültürlerinden izole edilen *E. coli*'lerde direncin %2.1 den %6.5'e çıktığı bildirilmiştir (104). GSBL sentezleyen bakterilerde ise bu oran daha yüksek olarak karşımıza çıkmaktadır. Edelstein ve ark. yaptığı çalışmada GSBL sentezleyen *K. pneumoniae* ve *E. coli*'de siprofloksasin direncini %26 (105), Kang ve ark. ise %80 olarak bildirmiştir (106). Çalışmamızda da GSBL üreten bakterilerde siprofloksasin direnci *K. pneumoniae*'da %66.6, *E. coli* de ise %95 olarak tespit edildi.

Bu veriler ışığında, GSBL üreten bakterilerle gelişen enfeksiyonların tedavisinde en etkin alternatifleri aminoglikozidler ve karbapenem grubu antibiyotikler oluşturmaktadır. Çalışmamızda da amikasin direnci *K. pneumoniae*'da %22.3, *E. coli*' de %2 olarak tespit edilmiş; imipenem karşı dirence rastlanmamıştır. Ancak burada önemli bir nokta, aminoglikozid direncinin bir direnç plasmidi üzerinde beraber taşınabilmesidir. Bu nedenle aminoglikozid direnci GSBL üreten izolatlarda yaygınlaşabilir; yanısıra imipenemin yaygın kullanımı sonucu karbapenem dirençli fermentasyon yapmayan Gram negatif bakterilerin görülme sıklığındaki artış olası komplikasyonlar olarak karşımıza çıkabilir . Yapılan çalışmalarda, GSBL üreten bir *K. pneumoniae* salgınında imipenem kullanımının artması sonucunda

imipenem dirençli *Acinetobacter baumannii* suşlarının yaygınlaştığı (107) ve AmbC grubu β -laktamaz sentezleyen bir *K. pneumoniae*'da dış membran proteini kaybına bağlı olarak imipenem direnci geliştiği bildirilmiştir (108). Porin defektine bağlı direncin yanısıra enzimatik hidrolize bağlı imipenem direnci de *K. oxytoca*'da gösterilmiştir (109). Ekim 2004 içerisinde hastanemiz İç Hastalıkları YBÜ'sinde yatan bir hastanın derin trakeal aspirat ve torasentez kültürlerinde GSBL üreten karbapenem dirençli bir *E. coli* suşu izole edilmiştir (110).

Çalışmamızda izole ettiğimiz GSBL üreten bakterilerin genetik benzerliklerini değerlendirildiğinde 9 *K. pneumoniae* suşu için 6 genotip, 20 *E. coli* içinse 9 farklı genotip tanımlanmıştır. Kolonize hastalardan izole edilen enfeksiyon hastalığı etkeni suşların kolonizan suşlarla benzer genotipe sahip olduğu görülmüştür. Elde edilen bulgular hastaların kolonize olduğu suşlarla enfekte olduğunu göstermekte ve bu kadar fazla sayıda genotip görülmesi %22'lik kolonizasyon oranının salgın değil sporadik olarak geliştiğini ortaya koymaktadır. Bilinen bir salgın olmaksızın GSBL sentezleyen enterik bakterilerle kolonizasyon gelişimini araştıran çalışmalarda izole edilen suşların moleküler epidemiyoljisi değerlendirildiği farklı çalışmalarda, Hollander ve ark. nörolojik rehabilitasyon ünitesinde 11 ay süre ile yaptıkları çalışmada üst solunum yollarından izole edilen bütün suşlar için benzer tek bir genotip bulmuştur (81). Trick ve ark. YBÜ'sinde yaptıkları çalışmada GSBL sentezleyen 21 *K. pneumoniae* için 3 farklı genotip, 17 *E. coli* içinse 10 farklı genotip belirlemiştir (111). Moustoui ve ark. ise bir cerrahi YBÜ'sinde 14 *K. pneumoniae* için 9 farklı genotip, 10 *E. coli* için 4 genotip, 5 *C. diversus* içinse 2 farklı genotip tespit etmişlerdir (112).

Tek klondan oluşan salgınlarda sürveyans kültürlerinin, salgının kontrol altına alınmasında etkin olduğu gösterilmiştir. Yine özellikle vankomisin dirençli enterokoklarda risk altındaki hasta popülasyonu iyi belirlendiğinde, enfeksiyon hastalığı ortaya çıkmadan sürveyans kültürleri aracılığıyla kolonizasyon saptanarak yayılım önlenmektedir. GSBL üreten bakterilerle

kolonizasyonun, bilinen bir salgın olmaksızın saptanmasının önemi tam olarak bilinmemektedir. Literatürde fekal kolonizasyon oranlarıyla ilgili çeşitli çalışmalar mevcut olmasına rağmen bu yöndeki çalışmaların maliyet ve etkinliği değerlendirilmemiştir. Bu alanda tek çalışma Gardam ve ark. tarafından yapılmıştır. 18 ay boyunca transplantasyon ünitesine kabul edilen 287 hasta hem GSBL hem de AmbC grubu beta-laktamaz üreten bakterilerle kolonizasyon ve enfeksiyon hastalığı gelişimi açısından izlenmiş, hastaların %24'ünde kolonizasyon %6'sında ise enfeksiyon hastalığı gelişmiştir. Ek izolasyon tedbirleri uygulanmamasına rağmen salgın gelişmediği bildirilmiştir. Böyle bir üniteye bu amaçla yapılacak sürveyans çalışmasının maliyetinin 1.130.184 Kanada doları olacağı hesaplanmıştır. Salgın dışında kolonizasyon tespitine yönelik çalışmalar yüksek maliyete rağmen etkisiz bulunmuştur (84). Bu çalışma ülkemizde GSBL üreten bakterilerle kolonizasyonun tespitinin etkinlik ve maliyetini değerlendiren ilk, tüm literatürde ise ikinci çalışmadır. Çalışmanın yapıldığı süre retrospektif olarak değerlendirildiğinde, GSBL üreten bakterilerle enfekte hastaların hiçbirinin bu sebeple kaybedilmemiştir. YBÜ'sinde standart hasta bakım önlemleri dışında ek bir izolasyon önlemi önerilmemesine rağmen bir salgın oluşmamış, ancak kısa dönemli klonal yayılmalar olduğu görülmüştür. İç Hastalıkları YBÜ'sinde bütün hasta temaslarında temas öncesi eldiven giyilmekte ve temas sonrası eldiven hasta başında çıkartıldıktan sonra alkollü el dezenfektanı ile el temizliği yapılmaktadır. Bu şekilde uygulanan temas-korunma önlemleri salgın oluşmasını engelleyici etki göstermiştir. Kolonize hastaların YBÜ'sinde yatış sürelerinin kısa olması tek klondan bir salgın oluşmasında önleyici rol oynamıştır.

Sürveyans çalışmaları için bir başka önemli konuyu ise maliyet değerlendirmesi oluşturmaktadır. Ülkemizde sağlık hizmetlerinin maliyeti Batı Avrupa ve Kuzey Amerika ülkeleriyle karşılaştırıldığında çok düşüktür. Özellikle hasta yatak ücretleri arasında belirgin farklılık mevcuttur. Gardam ve ark. yaptığı çalışmada (84) izole bir odanın günlük fiyatı 225 Kanada doları

iken, ülkemizde izole oda ücreti adında bir fiyatlandırma dahi bulunmamaktadır. Yoğun bir takip gerektiren sürveyans çalışmaları rutin olarak uygulandığında kapsamlı bir iş gücünü (kültürlerin düzenli olarak alınması, laboratuvara nakli, kültürlerin değerlendirilmesi, antibiyotik duyarlılık testleri, sonuçların bir klinik mikrobiyolog ve hastane epidemiyoloğu tarafından değerlendirilmesi) gerektirmektedir. Ülkemiz şartlarında bunların temini ve ortaya çıkacak maliyetin karşılanması önemli bir sorun oluşturmaktadır.

Sürveyans çalışmaları halen enfeksiyon kontrol önlemleri içerisinde önemli bir yer tutmaktadır (110). Yüksek düzeyde iş gücü ve ekonomik kaynak gerektiren bu çalışmalar için doğru hedef seçilmesi istenen sonucun elde edilmesi için büyük önem taşımaktadır. Çalışmamızda bilinen bir salgın olmaksızın GSBL üreten *E. coli* ve *K. pneumoniae*'ya yönelik kolonizasyonun erken tespitine yönelik çalışmanın, neden olacağı maliyet oranında etkin olmadığı görülmüştür. Sonuç olarak, yoğun bakım ünitesinde tedavi gören bütün hastaların GSBL üreten *E. coli* ve *K. pneumoniae* kolonizasyonu açısından rutin olarak sürveyans kültürleriyle taranmasının, ülkemiz gibi sağlık harcamaları için bütçesi kısıtlı bir ülke için önerilebilir bir yaklaşım olmadığı ortaya konmuştur. Ancak pekçok salgının bir 'indeks' vaka ile başladığı göz önüne alındığında, kolonizasyon açısından risk faktörlerini taşıyan (sefalosporin kullanan, mekanik ventilatör ihtiyacı olan, YBÜ'si öncesi hastanede yatış öyküsü olan) hastaların üniteye kabullerinde ve üniteler arası nakillerinde bu şekilde taranması salgınların önlenmesinde etkin bir yaklaşım olabilir.

KAYNAKLAR:

1. Bush K. New β -Lactamases in Gram negative bacteria: Diversity and impact on the selection of antimicrobial therapy. Clin Infect Dis 2001 ;32(7):1085-9.
2. Brun-Buisson C, Legrand P, Philippon A, Montravers F, Ansquer M, Duval J. Transferable enzymatic resistance to third-generation cephalosporins during nosocomial outbreak of multiresistant *Klebsiella pneumoniae*. Lancet 1987; 8;2(8554):302-6.
3. Yuan M, Aucken H, Hall LM, Pitt TL, Livermore DM. Epidemiological typing of klebsiella with extended-spectrum β -Lactamases from European intensive care units. J Antimicrob Chemother 1998; 41(5):527-39.
4. Aksaray S, Dokuzoğuz B, Güvener E et al. Surveillance of antimicrobial resistance among Gram negative isolates from intensive care units in eight hospitals in Turkey. J Antimicrob Chemother 2000; 45: 695-699.
5. Pena C, Pujol M, Ricart A. et al. Risk factors for faecal carriage of *Klebsiella pneumoniae* producing extended spectrum beta-lactamase (ESBL-KP) in the intensive care unit. J Hosp Infect. 1997;35(1):9-16.
6. Gür D. β -laktamazlar. Flora 1997; 2:3 (Ek) 3-16.
7. Bradford PA. Extended spectrum beta-lactamases in the 21st Century: Characterization, epidemiology and detection of this important resistance threat. Clin Microbiol Rev.2001; 14(4): 933-951.
8. Kliebe C, Nies BA, Meyer JF, Tolxdorff-Neutzling RM, Wiedemann B. Evolution of plasmid-coded resistance to broad-spectrum cephalosporins. Antimicrob Agents Chemother 1985; 28(2):302-307.
9. Bush K, Jacoby GA, Medeiros AA. A functional classification scheme for β -lactamases and its correlation with molecular structure. Antimicrob Agents Chemother 1995; 39:1211-1233.

10. Livermore DM. β -Lactamases in laboratory and clinical resistance. Clin Microbiol Rev. 1995; 8(4):557-84.
11. Bauernfeind A, Casellas JM, Goldberg M et al. A new plasmidic cefotaximase from patients infected with *Salmonella typhimurium*. Infection 1992; 20:158-163.
12. Ishii Y, Ohno A, Taguchi H, Imajo S, Ishiguro M, Matsuzawa H. Cloning and sequence of the gene encoding a cefotaxime-hydrolyzing class A β -lactamase isolated from *Escherichia coli*. Antimicrob Agents Chemother 1995; 39:2269-2275.
13. Hall LMC, Livermore DM, Gur D, Akova M, Akalin HE. OXA-11, an extended-spectrum variant of OXA-10 (PSE-2) β -lactamase from *Pseudomonas aeruginosa*. Antimicrob. Agents Chemother 1993; 37:1637-1644.
14. Nordman P, Ronco E, Naas T, Duport C, Michel-Briand Y, Labia R. Characterization of a novel extended-spectrum β -lactamase from *Pseudomonas aeruginosa*. Antimicrob Agents Chemother 1993; 37:962-969.
15. Vahaboglu H, Dodanli S, Eroglu C et al. Characterization of multiple antibiotic resistant *Salmonella typhimurium* strains: molecular epidemiology of PER-1-producing isolates and evidence for nosocomial plasmid exchange by a clone. J Clin Microbiol 1996; 34:2942-2946.
16. Vahaboglu H, Öztürk R, Aygün G et al. 1. Widespread detection of PER-1 type extended-spectrum β -lactamases among nosocomial *Acinetobacter* and *Pseudomonas aeruginosa* isolates in Turkey: a nationwide multicenter study. Antimicrob. Agents Chemother 1997; 41:2265-2269.
17. Silva J, Aguilar C, Ayala G et al. TLA-1: a new plasmid-mediated extended-spectrum β -lactamase from *Escherichia coli*. Antimicrob Agents Chemother 2000; 44:997-1003.

18. Rossolini GM, Franceschini N, Lauretti L *et al.* Cloning of a *Chryseobacterium (Flavobacterium) meningosepticum* chromosomal gene (*bla*_{A_{CME}}) encoding an extended-spectrum class A β -lactamase related to the *Bacteroides* cephalosporinases and the VEB-1 and PER β -lactamases. *Antimicrob Agents Chemother* 1999; 43:2193-2199.
19. Poirel L, Thomas IL, Naas T, Karim A, Nordman P. Biochemical sequence analyses of GES-1, a novel class A extended-spectrum β -lactamase, and the class 1 integron IN52 from *Klebsiella pneumoniae*. *Antimicrob Agents Chemother* 2000; 44:622-632.
20. Katsanis GP, Spargo J, Ferraro MJ, Sutton L, Jacoby GA. Detection of *Klebsiella pneumoniae* and *Escherichia coli* strains producing extended-spectrum β -lactamases. *J Clin Microbiol* 1994; 32:691-696.
21. National Committee for Clinical Laboratory Standards. Methods for dilution antimicrobial susceptibility tests for bacteria that grow aerobically 2000. Approved standard M7-A5 and informational supplement M100-S10. NCCLS, Wayne, Pa.
22. Tenover FC, Mohammed MJ, Stelling J, O'Brien T, Williams R. Ability of laboratories to detect emerging antimicrobial resistance: proficiency testing and quality control results from the World Health Organization's external quality assurance system for antimicrobial susceptibility testing. *J Clin Microbiol* 2001; 39:241-250.
23. Jarlier V, Nicolas M, Fournier G, Philippon A. Extended broad-spectrum β -lactamases conferring transferable resistance to newer β -lactam agents in Enterobacteriaceae: Hospital prevalence and susceptibility patterns. *Rev Infect Dis* 1988; 10:867-878.
24. Thomson KS, Sanders CC. Detection of extended-spectrum β -lactamases in members of the family Enterobacteriaceae: Comparison of the double-disk and three-dimensional tests. *Antimicrob Agents Chemother* 1992; 36:1877-1882.

25. Tzelepi E, Giakkoupi P, Sofianou D, Loukova V, Kermeroglou A, Tsakris A. Detection of extended-spectrum β -lactamases in clinical isolates of *Enterobacter cloacae* and *Enterobacter aerogenes*. J Clin Microbiol 2000; 38:542-546.
26. Carter MW, Oakton KJ, Warner M, Livermore DM. Detection of extended-spectrum beta-lactamases in klebsiellae with the Oxoid combination disk method. J Clin Microbiol. 2000; 38(11):4228-32.
27. Cormican MG, Marshall SA, Jones RN. Detection of extended-spectrum β -lactamases producing strains by the E-test ESBL screen. J Clin Microbiol 1996; 34:1880-4.
28. Livermore DM, Brown DF. Detection of beta-lactamase-mediated resistance. J Antimicrob Chemother 2001; 48 (Suppl 1):59-64.
29. Sanders CC, Barry AL, Washington JA *et al.* Detection of extended-spectrum β -lactamase-producing members of the family *Enterobacteriaceae* with the Vitek ESBL test. J Clin Microbiol 1996; 34:2997-3001.
30. Bauernfeind A, Chong Y, Lee K. Plasmid-encoded AmbC beta-lactamases: How far have we gone 10 years after the discovery? Yonsei Med J 1998; 39(6):520-5.
31. Gheorghiu R, Yuan M, Hall LM, Livermore DM. Bases of variation in resistance to beta-lactams in *Klebsiella oxytoca* isolates hyperproducing K1 beta-lactamase. J Antimicrob Chemother 1997; 40(4):533-41.
32. Medeiros AA, Crellin J. Comparative susceptibility of clinical isolates producing extended-spectrum beta-lactamases to ceftibuten: effect of a large inoculum. Pediatr Infect Dis J 1997; 16:49-55.
33. National Committee for Clinical Laboratory Standards. Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing; M100-S11 11th Informational Supplement. NCCLS documents. 2001 Wayne, Pa, USA.
34. Livermore DM, Winstanley TG, Shannon KP. Interpretative reading, recognizing the unusual and inferring resistance mechanisms from

- resistance phenotypes. *J Antimicrob Chemother* 2001; 48 (Suppl 1):87-102.
35. Steward CD, Wallace D, Hubert SK *et al.* Ability of laboratories to detect emerging antimicrobial resistance in nosocomial pathogens: A survey of Project ICARE laboratories. *Diagn Microbiol Infect Dis* 2000; 38:59-67.
 36. Casellas JM, Goldberg M. Incidence of strains producing extended-spectrum β -lactamase in Argentina. *Infection* 1989; 17:434-436.
 37. Jacoby GA, Medeiros AA. More extended-spectrum β -lactamases. *Antimicrob Agents Chemother* 1991; 35:1697-1704.
 38. Gold HS, Moellering RC Jr. Antimicrobial-drug resistance. *N Engl J Med* 1996; 335(19):1445-53.
 39. Stobberingh EE, Arends J, Hoogkamp-Korstanje JAA *et al.* Occurrence of extended-spectrum beta-lactamases in Dutch hospitals. *Infection* 1999; 27:348-354.
 40. Branger C, Lesimple AL, Bruneu B, Berry P, and Lambert-Zechovsky N. Long-term investigation of the clonal dissemination of *Klebsiella pneumoniae* isolates producing extended-spectrum β -lactamases in a university hospital. *J Med Microbiol* 1998; 47:210-209.
 41. Yagi T, Kruokawa H, Shibata N, Shibayama K, Arakawa Y. A preliminary survey of extended-spectrum β -lactamases (ESBLs) in clinical isolates of *Klebsiella pneumoniae* and *Escherichia coli* in Japan. *FEMS Microbiol Lett* 2000; 184:53-56.
 42. Ho PL, Tsang DNC, Que TL, Ho M, Yuen KY. Comparison of screening methods for detection of extended-spectrum β -lactamases and their prevalence among *Escherichia coli* and *Klebsiella* species in Hong Kong. *APMIS* 2000; 108:237-240.
 43. Gur D, Pitt TL, Hall LM, Akalin HE, Livermore DM. Diversity of klebsiellae with extended-spectrum beta-lactamases at a Turkish university hospital. *J Hosp Infect* 1992; 22(2):163-7.

44. Akata F, Tatman M, Ozkan E , Tansel O , Otkun M, Tugrul M. Prevalence of extended-spectrum beta-lactamases produced by nosocomial isolates of *Enterobacteriaceae* in Trakya University Hospital, Turkey. *New Microbiol* 2003; 26(3):257-62.
45. Aktas E, Yigit N, Yazgı H , Ayyıldız A. Detection of antimicrobial resistance and extended-spectrum beta-lactamase production in *Klebsiella pneumoniae* strains from infected neonates. *J Int Med Res* 2002; 30(4):445-8.
46. Philippon A, Arlet G, Lagrange PH. Origin and impact of plasmid mediated extended-spectrum beta-lactamases. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 1994; 13 (Suppl.1):17-29.
47. Quinn JP. Clinical significance of extended-spectrum beta-lactamases *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 1994;13 (Suppl 1):39-42.
48. Rice LB. Successful interventions for gram-negative resistance to extended-spectrum β -lactam antibiotics. *Pharmacotherapy* 1999; 19:120-128.
49. Bradford PA, Cherubin CE, Idemyor V, Rasmussen BA, Bush K. Multiply resistant *Klebsiella pneumoniae* strains from two Chicago Hospitals: identification of the extended-spectrum TEM-12 and TEM-10 ceftazidime-hydrolyzing β -lactamases in a single isolate. *Antimicrob Agents Chemother* 1994; 38:761-766.
50. Bradford PA, Urban C, Jaiswal A *et al.* SHV-7, a novel cefotaxime hydrolyzing β -lactamase, identified in *Escherichia coli* isolates from hospitalized nursing home patients. *Antimicrob Agents Chemother* 1995; 39:899-905.
51. Yang Y, Bhachech N, Bradford PA, Jett BD, Sahm DF, Bush K. Ceftazidime-resistant *Klebsiella pneumoniae* and *E. coli* isolates producing TEM- 10 and TEM-43 from St. Louis. *Antimicrob Agents Chemother* 1998; 42:1671- 1676.

52. Paterson DL, Mulazimoglu L, Casellas JM *et al.* Epidemiology of ciprofloxacin resistance and its relationship to extended-spectrum beta-lactamase production in *Klebsiella pneumoniae* isolates causing bacteremia. Clin Infect Dis 2000; 30:473-478.
53. Lucet JC, Decré D, Fichelle A *et al.* Control of a prolonged outbreak of extended-spectrum β -lactamase-producing Enterobacteriaceae in a university hospital. Clin Infect Dis 1999; 20:1411- 1418.
54. Rahal JJ, Urban C, Horn D. Class restriction of cephalosporin use to control total cephalosporin resistance in nosocomial *Klebsiella*. JAMA 1998; 280:1233-1237.
55. Dominguez EA, Smith TL, Reed E, Sanders CC, Sanders WE. A pilot study of antibiotic cycling in a hematology oncology unit. Infect Control Hosp Epidemiol 2000; 21:4-8.
56. Meyer KS, Urban C, Eagan JA, Berger BJ, Rahal JJ. Nosocomial outbreak of *Klebsiella* infection resistant to late generation cephalosporins. Ann. Intern. Med. 1993; 119:353-358.
57. Patterson JE, Hardin TC, Kelly CA, Garcia RC, Jorgensen JH. Association of antibiotic utilization measures and control of multiple-drug resistance in *Klebsiella pneumoniae*. Infect Control Hosp Epidemiol 2000; 21:455-458.
58. Rice LB, Eckstein EC, DeVente J, Shlaes DM. Ceftazidime resistant *Klebsiella pneumoniae* isolates recovered at the Cleveland Department of Veterans Affairs Medical Center. Clin Infect Dis 1996;23:118-124.
59. Rice LB, Willey SH, Papanicolaou GA *et al.* Outbreak of ceftazidime resistance caused by extended-spectrum β -lactamases at a Massachusetts chronic-care facility. Antimicrob Agents Chemother 1990;34:2193-2199.
60. Piroth L, Aubé H, Doise JM, Vincent-Martin M. Spread of extended-spectrum β -lactamase-producing *Klebsiella pneumoniae*: are β -

- lactamase inhibitors of therapeutic value? Clin Infect Dis 1998; 27:76-80.
61. Yağcı A. 'Restriction Fragment Length Polymorphism ve Polimeraz Zincir Reaksiyonu Bazlı Tiplendirme Yöntemleri' Durmaz R (ed) Uygulamalı Moleküler Mikrobiyoloji 2.baskı İstanbul: Nobel Tıp Kitapevi 2001:149-160.
 62. Mammeri H, Laurans G, Eveillard M, Castelain S, Eb F. Coexistence of SHV-4- and TEM-24-Producing *Enterobacter aerogenes* strains before a large outbreak of TEM-24 producing strains in a French Hospital. J Clin Microbiol 2001; 39 (6): 2184-2190.
 63. Olive DM, Bean P. Principles and applications of methods for DNA ased typing of microbial organisms J Clin Microbiol. 1999; 37(6):1661-9.
 64. Nathisuwan S, Burgess D, Lewis JH. Extended spectrum β -lactamases: Epidemiology, detection and treatment. Pharmacotherapy 2001; 21:920-8.
 65. Paterson DL. Recommendation for treatment of severe infections caused y *Enterobacteriaceae* producing extended-spectrum beta-lactamases (ESBLs). Clin Microbiol Infect 2000; 6(9):460-3.
 66. Akova M. Dikkat genişletilmiş spektrumlu beta-laktamaz var! Ankem Dergisi 2004; 18 (Ek 2): 98-103.
 67. Akhan S, Coskuncan F, Tansel O, Vahaboglu H. Conjugative resistance to tazobactam plus piperacillin among extended-spectrum beta-lactamase producing nosocomial *Klebsiella pneumoniae*. Scand J Infect Dis 2001; 33(7):512-5.
 68. Desimoni MC, Esquivel GP, Merino LA. Fecal colonization by xtended-spectrum beta-lactamase producing *Klebsiella pneumoniae* in a neonatal ntensive care unit. Enferm Infect Microbiol Clin 2004; 22(9):507-11.

69. Knaus WA, Draper EA, Wagner DP, Zimmerman JE. APACHE 2: A severity of disease classification system. *Crit. Care Med.* 1985;9:591-7.
70. Eggimann P, Pittet D. Infection control in the ICU *Chest.* 2001; 120(6):2059-93.
71. Eser KÖ. Yoğun bakım ünitelerinde yatmakta olan hastalardan izole edilen Gram negatif basillerde sınıf 1 integronların saptanması ve genişlemiş spektrumlu beta-laktamazların moleküler analizi H.Ü.T.F Sağlık Bilimleri Enstitüsü Doktora tezi, Ankara, 2004.
72. Stobberingh E E, Arends J, HoogkAmb-Korstanje JAA *et al.* Occurrence of extended-spectrum beta-lactamases in Dutch hospitals. *Infection* 1999; 27:348-354
73. Branger C, Lesimple AL, Bruneu B, Berry P, Lambert- Zechovsky N. Long- term investigation of the clonal dissemination of *Klebsiella pneumoniae* isolates producing extended-spectrum β -lactamases in a university hospital. *J Med Microbiol* 1998; 47:210-209.
74. Pai H, Lyu S, Lee JH *et al.* Survey of extended-spectrum β -lactamases in clinical isolates of *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae*: prevalence of TEM-52 in Korea. *J Clin Microbiol* 1999; 37:1758-1763.
75. Yan JJ, Wu SM, Tsai SH, Wu JJ, Su JI. Prevalence of SHV-12 among clinical isolates of *Klebsiella pneumoniae* producing extended-spectrum β -lactamases and identification of a novel AmbC enzyme (CMY-8) in southern Taiwan. *Antimicrob Agents Chemother* 2000; 44:1438-1442.
76. Durmaz R, Durmaz B, Koroglu M, Tekerekoglu MS. Detection and typing of extended-spectrum beta-lactamases in clinical isolates of the family. *Enterobacteriaceae* in a medical center in Turkey *Microb Drug Resist.* 2001; 7(2):171-5.
77. Gulay Z, Thomson CJ, Yulug N, Amyes SG. High prevalence of extended pectrum beta-lactamase production among *Klebsiella pneumoniae* strains isolated at a University Hospital in Turkey. *J Chemother* 2000;12(2):145 – 52.

78. Leblebicioglu H, Gunaydin M, Esen S, et al. Study Group Surveillance of antimicrobial resistance in gram-negative isolates from intensive care units in Turkey: Analysis of data from the last 5 years. *J Chemother* 2002; 14(2):140-6.
79. Donskey JC. The role of intestinal tract as a reservoir and source for transmission of nosocomial pathogens. *Clin Infect Dis* 2004;39:219-26.
80. Lynch JP 3rd. Hospital-acquired pneumonia: risk factors, microbiology, and treatment. *Chest* 2001; 119(2 Suppl):373-384.
81. Hollander, R., M. Ebke, H. Barck , E. von Pritzbuer. Asymptomatic carriage of *Klebsiella pneumoniae* producing extended-spectrum beta-lactamase by patients in a neurological early rehabilitation unit: Management of an outbreak. *J Hosp Infect* 2001; 48(3):207-13.
82. Gözüküçük R, Baykam N, Dokuzoğuz B. Yoğun bakım ünitelerinde yatan hastalarda orofarengeal kolonizasyon gelişimi ve nozokomiyal enfeksiyonlarla ilişkisinin incelenmesi. Hastane Enfeksiyonları Kongresi poster sunumu Poster no:P002 Nisan 2002, Ankara.
83. Moustou N, Bensghir R, Mjahed K *et al.* Digestive tract colonization with extended spectrum beta-lactamase producing *Enterobacteriaceae* in a surgical intensive care unit in Casablanca. *J Hosp Infect* 2000; 46(3):238-40.
84. Gardam MA, Burrows LL, Kus JV *et al.* Is surveillance for multidrug resistant *Enterobacteriaceae* an effective infection control strategy in the absence of an outbreak? *J Infect Dis* 2002 ; 186(12):1754-60.
85. Yücel BN, Vural M, Aygün G ve ark. Yenidoğan yoğun bakım biriminde *K. pneumoniae* ile kolonizasyonun araştırılması. *Klinik Dergisi* 2003; 16(2):73-78
86. Tornieporth NG, Roberts RB, John J, Hafner A, Riley LW. Risk factors associated with vancomycin-resistant *Enterococcus faecium* infection or colonization in 145 matched case patients and control patients. *Clin Infect Dis* 1996 ; 23(4):767-72.

87. Vahaboglu H, Coskuncan F , Tansel O *et al.* Clinical importance of extended-spectrum beta-lactamase (PER-1-type) producing *Acinetobacter spp.* and *Pseudomonas aeruginosa* strains. J Med Microbiol 2001;50(7):642-5
88. Lautenbach E, Strom BL, Bilker WB, Patel JB, Edelstein PH, Fishman NO. Epidemiological investigation of fluoroquinolone resistance in infections due to extended-spectrum beta-lactamase-producing *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae*. Clin Infect Dis 2001; 15;33(8):1288-94
89. Thuong M, Arvaniti K, Ruimy R *et al.* Epidemiology of *Pseudomonas aeruginosa* and risk factors for carriage acquisition in an intensive care unit. J Hosp Infect. 2003; 53(4):274-82.
90. Şardan YÇ. Metisilin dirençli *S. aureus* enfeksiyonlarının epidemiyolojisi ve kontrolü. 2. Sterilizasyon ve Dezenfeksiyon Hastane Enfeksiyonları Kongresi Kongre Kitabı 2001; 169-184.
91. Bonten MJ, Gaillard CA, van der Geest S *et al.* The role of intragastric acidity and stress ulcer prophylaxis on colonization and infection in mechanically ventilated ICU patients: A stratified, randomized, double-blind study of sucralfate versus antacids. Am J Respir Crit Care Med 1995; 152:1825-1834.
92. Livornese LL, Dias S Jr, Samel C *et al.* Hospital-acquired infection with vancomycin-resistant *Enterococcus faecium* transmitted by electronic thermometers. Ann Intern Med 1992 ; 117(2):112-6.
93. Weinstein JW, Roe M, Towns M, Sanders L *et al.* Resistant enterococci: A prospective study of prevalence, incidence, and factors associated with colonization in a university hospital. Infect Control Hosp Epidemiol 1996 ; 17(1):36-41.
94. Rice LB, Willey SH, Papanicolaou GA *et al.* Outbreak of ceftazidime resistance caused by extended-spectrum beta- lactamases at a

- Massachusetts chronic-care facility. *Antimicrob Agents Chemother* 1990; 34(11):2193-9.
95. Meyer KS, Urban C, Eagan JA, Berger BJ, Rahal JJ. Nosocomial outbreak of *Klebsiella* infection resistant to late generation cephalosporins. *Ann Intern Med* 1993; 119(5):353-8.
96. Rice LB, Eckstein, J. DeVente, D.M Shlaes. Ceftazidime-resistant *Klebsiella pneumoniae* isolates recovered at the Cleveland Department of Veterans Affairs Medical Center. *Clin Infect Dis* 1996; 23(1):118-24.
97. Akata F. Kadınlarda Alt Üriner Sistem Enfeksiyonları, Güncel Bilgiler Işığında İnfeksiyon Hastalıkları. Uzun Ö, Ünal S.(eds) cilt 1 s:329-43 Bilimsel Tıp Yayınevi Ocak 2002, Ankara.
98. Decre D, Gachot B, Lucet JC, Arlet G, Bergogne-Berezin E, Regnier B. Clinical and bacteriologic epidemiology of extended-spectrum beta-lactamase-producing strains of *Klebsiella pneumoniae* in a medical intensive care unit. *Clin Infect Dis* 1998; 27(4):834-44.
99. Garner JS. Guideline for isolation precautions in hospitals. Part I. Evolution of isolation practices, Hospital Infection Control Practices Advisory Committee. *Am J Infect Control* 1996; 24(1):24-31.
100. Bonnet R. Growing group of extended-spectrum beta-actamases: The CTX-M enzymes. *Antimicrob Agents Chemother* 2004 Jan; 48(1):1-14.
101. Jett BD, Ritchie DJ, Reichley R, Bailey TC, Sahm DF. In vitro activities of various beta-lactam antimicrobial agents against clinical isolates of *Escherichia coli* and *Klebsiella spp.* resistant to oxyimino cephalosporins. *Antimicrob Agents Chemother* 1995 ; 39(5):1187-90.
102. Rice LB, Carias LL, Bonomo RA, Shlaes DM. Molecular genetics of resistance to both ceftazidime and beta-lactam-beta-lactamase inhibitor combinations in *Klebsiella pneumoniae* and in vivo response to beta-lactam therapy. *J Infect Dis* 1996; 173(1):151-8.

103. Patterson JE. Problems in Gram negative resistance : Extended-spectrum beta-lactamases in: Emerging Pathogens: Implications for the future. Moellering RC Jr (ed) p: 33-51 Pharmanual PharmaLibri Publishers, Inc Montreal, Canada 2000.
104. Livermore DM, Nichols T, Lamagni TL, Potz N, Reynolds R, Duckworth G. Ciprofloxacin resistant *Escherichia coli* from bacteraemias in England; increasingly prevalent and mostly from men. J Antimicrob Chemother 2003; 52(6):1040-2.
105. Edelstein M, Pimkin M, Palagin I, Edelstein I, Stratchounski L. Prevalence and molecular epidemiology of CTX-M extended-spectrum beta-lactamase-producing *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae* in Russian hospitals. Antimicrob Agents Chemother 2003; 47(12):3724-32
106. Kang CI, Kim SH, Kim DM, Park WB. Risk factors for ciprofloxacin resistance in bloodstream infections due to extended-spectrum beta-lactamase producing *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae*. Microb Drug Resist 2004; 10(1):71-6.
107. Lee K, Ha GY, Shin BM *et al.* Korean Nationwide Surveillance of Antimicrobial Resistance (KONSAR) group. Metallo-beta-lactamase producing Gram negative bacilli in Korean Nationwide Surveillance of Antimicrobial Resistance group hospitals in 2003: Continued prevalence of VIM-producing *Pseudomonas spp.* and increase of IMP-producing *Acinetobacter spp.* Diagn Microbiol Infect Dis 2004; 50(1):51-8.
108. Bradford PA, Urban C, Mariano N, Projan SJ, Rahal JJ, Bush K. Imipenem resistance in *Klebsiella pneumoniae* is associated with the combination of ACT-1, a plasmid-mediated AmbC beta-lactamase, and the loss of an outer membrane protein. Antimicrob Agents Chemother 1997; 41(3):563-9.

109. Yigit H, Queenan AM, Rasheed JK *et al.* Carbapenem-resistant strain of *Klebsiella oxytoca* harboring carbapenem-hydrolyzing beta-actamase KPC-2. *Antimicrob Agents Chemother* 2003; 47(12):3881-9.
110. Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi Klinik Patoloji Laboratuvarı İstatistikleri. Ekim 2004, Ankara.
111. Trick WE, Weinstein RA, DeMarais PL *et al.* Colonization of skilled care facility residents with antimicrobial resistant pathogens. *J Am Geriatr Soc* 2001; 49(3):270-6.
112. Moustaoui N, Soukri A, Elmdaghri N, Boudouma M, Benbachir M. Molecular biology of extended spectrum beta-lactamase producing *Enterobacteriaceae* responsible for digestive tract colonization. *J Hosp Infect.* 2004; 57(3):202-8.
113. Ostrowsky BE, Trick WE, Sohn AH *et al.* Control of vancomycin resistant enterococcus in health care facilities in a region. *N Engl J Med* 2001; 344 (19):1427-33.
114. Herwalt LA, Decker MD. A practical handbook for hospital epidemiologists. 10th ed, 1998. SLACK Incorporated, U.S.A.