

ÇEŞİTLİ KLİNİK ÖRNEKLERDEN ÜRETİLEN
GRAM NEGATİF BAKTERİLERDE
METALLO-BETA-LAKTAMAZ VARLIĞININ ARAŞTIRILMASI

PINAR KAYMAK

YÜKSEK LİSANS TEZİ
MİKROBİYOLOJİ VE KLİNİK MİKROBİYOLOJİ
ANABİLİM DALI
2009

CUMHURİYET ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

ÇEŞİTLİ KLİNİK ÖRNEKLERDEN ÜRETİLEN
GRAM NEGATİF BAKTERİLERDE
METALLO-BETA-LAKTAMAZ VARLIĞININ ARAŞTIRILMASI

PINAR KAYMAK

YÜKSEK LİSANS TEZİ

MİKROBİYOLOJİ VE KLİNİK MİKROBİYOLOJİ
ANABİLİM DALI

TEZ DANIŞMANI
DOÇ DR. A. YASEMİN ÖZTOP

SİVAS
2009

Bu alışma Cumhuriyet Üniversitesi Fen/Sağlık Bilimleri Enstitüsü tez yazım kurallarına uygun olarak hazırlanmış ve jürimiz tarafından Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı'nda yüksek lisans tezi olarak kabul edilmiştir.

Başkan	Prof. Dr. Ömer POYRAZ	_____
ye	Doç. Dr. A. Yasemin ÖZTOP	_____
ye	Yrd. Doç Dr. Rana TAŐKIN	_____

ONAY

Bu tez çalışması, 10/02/2009 tarihinde Enstitü Yönetim Kurulu tarafından belirlenen ve yukarıda imzaları bulunan jüri yeleri tarafından kabul edilmiştir.

Prof. Dr. Tijen KAYA TEMİZ
SAğLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ MÜDÜRÜ

Bu tez Cumhuriyet Üniversitesi Senatosu'nun 24.09.2008 tarihli ve 007 sayılı toplantısında kabul edilen Fen/Sağlık Bilimleri Enstitüsü Lisansüstü Tez Yazım Kılavuzu adlı yönergeye göre hazırlanmıştır.

Biricik oğlum Toprak'a...

İÇİNDEKİLER

ÖZET.....	v
ABSTRACT.....	vi
TEŞEKKÜR.....	vii
ÇİZELGELER DİZİNİ.....	viii
KISALTMALAR DİZİNİ.....	ix
1 GİRİŞ.....	1
2 GRAM NEGATİF BAKTERİLER.....	3
2.1 Enterobacteriaceae Ailesinin Genel Özellikleri.....	3
2.1.1 Escherichia Cinsi.....	4
2.1.1.1 Escherichia coli.....	4
2.1.2 Klebsiella Cinsi.....	5
2.1.3 Enterobacter Cinsi.....	5
2.1.4 Serratia Cinsi.....	5
2.1.4.1 Serratia marcescens.....	6
2.1.5 Morganella Cinsi.....	6
2.1.5.1 Morganella morganii.....	6
2.2 Gram Negatif Nonfermantatif Bakteriler.....	6
2.2.1 Pseudomonas aeruginosa.....	6
2.2.2 Acinetobacter baumannii.....	7
3 BETA LAKTAM ANTİBİYOTİKLER.....	7
3.1 Penisilinler.....	8
3.1.1 Doğal Penisilinler.....	8
3.1.2 Penisilinaza Dirençli Penisilinler.....	8
3.1.3 Aminopenisilinler.....	8
3.1.4 Karboksi ve Üreidopenisilinler.....	9
3.2 Sefalosporinler.....	9
3.2.1 I. Kuşak Sefalosporinler.....	9
3.2.2 II. Kuşak Sefalosporinler.....	9
3.2.3 III. Kuşak Sefalosporinler.....	9
3.2.4 IV. Kuşak Sefalosporinler.....	9
3.3 Monobaktamlar.....	10
3.4 Karbapenemler.....	10
3.4.1 İmipenem.....	10
3.4.2 Meropenem.....	11
3.5 Beta-Laktamaz İnhibitörleri.....	12
4 BETA LAKTAM ANTİBİYOTİKLERE DİRENÇ MEKANİZMASI.....	12
4.1 Kromozomal genlerde mutasyon oluşması.....	12
4.2 Direnç genlerinin dışarıdan alınması.....	13
4.3 Dışarıdan alınan genlerde mutasyon oluşması.....	13
4.4 İlacın hedef bölgesi olan PBP'lerde meydana gelen değişiklikler.....	14
4.5 Dış membran geçirgenliğinin bozulması.....	14

4.6	Beta-laktamaz enzimleri ile ilacın inaktive edilmesi.....	14
5	BETA-LAKTAMAZLAR.....	15
5.1	Grup 1 Kromozomal Beta Laktamazlar.....	17
5.2	Grup 2 Plazmid Kontrolündeki Beta Laktamazlar.....	18
5.2.1	Grup 2a	20
5.2.2	Grup 2b.....	20
5.2.3	Grup 2be.....	20
5.2.4	Grup 2br.....	21
5.2.5	Grup 2c.....	21
5.2.6	Grup 2d.....	21
5.2.7	Grup 2e.....	21
5.2.8	Grup 2f.....	21
5.3	Grup 3 Beta Laktamazlar (Metallo Beta-Laktamazlar).....	21
5.3.1	MBL'ların sınıflandırılması	23
5.3.1.1	Grup 3a	23
5.3.1.2	Grup 3b	23
5.3.1.3	Grup 3c	24
5.3.2	MBL'ların Epidemiyolojisi	24
5.4	Grup 4 Beta Laktamazlar.....	25
6	KARBAPENEMLERE DİRENÇ MEKANİZMALARİ.....	25
6.1	İlacın Hücre İçinde Etkin Konsantrasyona Ulaşamaması.....	25
6.1.1	Porin Değişimleri	25
6.1.2	Aktif Pompa Sistemlerinin İndüklenmesi	26
6.2	Karbapenemleri Hidroliz Eden Enzimlerin Varlığı.....	26
6.2.1	İntrinsik (kromozomal) Karbapenemazlar	26
6.2.2	Ekstrinsik (kazanılmış) Karbapenemazlar.....	26
6.3	Hedef PBP Değişimleri.....	28
7	BETA-LAKTAMAZ SAPTAMA YÖNTEMLERİ.....	28
7.1	İndirekt Beta-Laktamaz Testleri.....	29
7.1.1	İBL Saptanması	29
7.1.2	GSBL Saptanması.....	30
7.1.3	MBL Saptanması.....	32
7.1.3.1	Çift Disk Sinerji Yöntemi	32
7.1.3.2	Modifiye Hodge Testi	33
7.1.3.3	Kombine Disk Yöntemi	33
8	GEREÇ VE YÖNTEM.....	34
8.1	Kullanılan Araç ve Gereçler.....	34
8.2	Kullanılan Besiyerleri.....	34
8.2.1	Kanlı Agar	34
8.2.2	EMB Besiyeri.....	34
8.2.3	Mueller-Hinton Besiyeri.....	34
8.2.4	Iso-Sensitest Agar.....	35
8.3	Kullanılan Antibiyotik Diskleri.....	35
8.4	Kullanılan Çözeltiler.....	35

8.4.1 McFarland 0.5.....	35
8.4.2 0.1M EDTA Çözeltilisi.....	36
8.5 Kullanılan Bakteriler.....	36
8.6 Bakterilerin Antibiyotik Duyarlılıklarının Saptanması.....	36
8.6.1 MBL Saptanması	36
8.6.2 İBL Saptanması.....	37
8.6.3 GSBL Saptanması.....	37
8.7 İstatiksel Yöntem.....	38
9 BULGULAR.....	39
10 TARTIŞMA.....	54
11 SONUÇLAR.....	64
KAYNAKLAR.....	65
ÖZGEÇMİŞ.....	72

ÖZET

ÇEŞİTLİ KLİNİK ÖRNEKLERDEN ÜRETİLEN GRAM NEGATİF BAKTERİLERDE METALLO-BETA-LAKTAMAZ VARLIĞININ ARAŞTIRILMASI

Pınar KAYMAK

Yüksek Lisans Tezi, Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı
Danışman Doç. Dr. A. Yasemin ÖZTOP
2009, 72 sayfa

Metallo-Beta-Laktamaz (MBL) üreten gram negatif bakteriler dünyanın her yerinde gittikçe artan oranlarda izole edilmektedir. Bu suşlar içinde karbapenemlere duyarlı MBL taşıyan *Enterobacteriaceae* ailesinden bakteriler bulunduğu bildirilmektedir.

Bu çalışmada; Cumhuriyet Üniversite Hastane'sinde Mart-Mayıs 2007 tarihleri arasında çeşitli kliniklerde yatan hastalardan üretilen 135 gram negatif bakteride MBL varlığı kombine disk yöntemi ile, antibiyotiklere duyarlılık durumları Clinical and Laboratory Standards Institute'nin (CLSI) önerileri doğrultusunda disk difüzyon yöntemi ile araştırıldı. Ayrıca bakterilerde genişlemiş spektrumlu beta-laktamaz (GSBL) bulunma sıklığı çift disk sinerji testi ile, indüklenebilir beta-laktamaz (İBL) bulunma sıklığı disk indüksiyon testi ile araştırıldı.

Çalışma sonunda 135 suşun hiçbirinde MBL bulunamadı. GSBL sıklığı *Escherichia coli*'de %28, *Klebsiella spp.* ve *Enterobacter spp.*'de %25, *Serratia marcescens*'te %50 oranında saptandı. 20 adet *Pseudomonas aeruginosa* suşunun 10'unda (%50) İBL aktivitesi saptandı.

Anahtar kelimeler: Gram negatif bakteri, MBL, karbapenem, antimikrobiyal duyarlılık, GSBL, İBL

ABSTRACT

INVESTIGATION OF METALLO- BETA-LACTAMASE BEING IN GRAM NEGATIVE BACTERIA PRODUCED FROM VARIOUS CLINICAL SPECIMENS

Pınar KAYMAK

Master of Science Thesis, Department of Microbiology and Clinical Microbiology

Supervisor Associate Prof. Dr. A. Yasemin ÖZTOP

2009, 72 pages

Metallo-Beta-Lactamase (MBL) producing gram negative bacteria have been increasingly isolated all over the world. Carbapenem-susceptible MBL carrying bacteria from Enterobacteriaceae family have been informed in this strains.

In this study, in 135 gram negative bacteria isolated from various clinical patients are investigated MBL being with combined-disk method, antibiotic susceptibility with disc diffusion method according to suggestions of Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) between March and May 2007 in Cumhuriyet University Hospital. Additionally, the frequency being of extended spectrum beta-lactamase (ESBL) was investigated with double disc synergy test, the frequency being of induced beta-lactamase (IBL) was also investigated with disc induction test in bacteria.

The end of study there weren't any MBL activity inside of 135 strains. The frequency ESBL was 28% in *Escherichia coli* strains, 25% in *Klebsiella spp* and *Enterobacter spp.* strains, 50% in *Serratia marcescens* strains. IBL activity was detected in 10 of 20 (50%) *Pseudomonas aeruginosa* isolates.

Key words: Gram negative bacteria, MBL, carbapenem, antimicrobial susceptibility, ESBL, IBL

TEŞEKKÜR

Bu çalışmanın planlanması ve gerçekleşmesi sırasında her türlü öneri ve yardımıyla bana destek olan tez danışmanım Sayın Doç Dr. A. Yasemin Öztop'a, çalışmamda kullandığım suşların temininde yardımcı olan Sayın Prof. Dr. M. Zahir Bakıcı'ya, istatistiksel analizlerde yardımlarını esirgemeyen Sayın Yrd. Doç. Dr. Ziyet Çınar'a, Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı öğretim üyeleri ve çalışan personele, çalışmamda kullandığım MBL pozitif kontrol suşu temininde Ankara Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji Kliniği Şefi Sayın Esra Büyükbaşaran'a, çalışmam esnasında göstermiş oldukları ilgi ve destek için iş arkadaşlarıma ve Sevgili Esra Bolsu'ya teşekkürlerimi sunarım.

Ayrıca çalışmam sırasında her türlü emeğini esirgemeyen sevgili anneme, babama ve eşime sonsuz teşekkürler.

Bu çalışma T-320 proje numaralı 'Çeşitli Klinik Örneklerden Üretilen Gram Negatif Bakterilerde Metallo-Beta-Laktamaz Varlığının Araştırılması' proje adı ile Cumhuriyet Üniversitesi Bilimsel Araştırma Fonu tarafından desteklenmiştir.

ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge 5.1 Beta-laktamaz grupları ve genel özellikleri.....	16
Çizelge 7.1 Beta-Laktamaz Testleri	28
Çizelge 7.2 Direkt Beta-Laktamaz Testleri	29
Çizelge 7.3 GSBL Testleri (E.coli ve Klebsiella spp. için).....	30
Çizelge 9.1 Çalışmaya alınan bakteriler.....	39
Çizelge 9.2 Çeşitli klinik örneklerden üretilen bakteriler	40
Çizelge 9.3 Örneklerin alındığı kliniklere göre üretilen bakteriler.....	40
Çizelge 9.4 Cerrahi ve dahili kliniklerden alınan örneklerden üretilen bakterilerin dağılımı.....	41
Çizelge 9.5 Enterobacteriaceae ailesine ait suşların antibiyogram sonuçları.....	43
Çizelge 9.6 <i>Pseudomonas aeruginosa</i> ve <i>Acinetobacter baumannii</i> suşlarının antibiyogram sonuçları	44
Çizelge 9.7 Çalışmaya alınan suşların GSBL ve İBL üretme durumları	45
Çizelge 9.8 Çeşitli kliniklerden gelen örneklerden GSBL ve İBL üreten bakteriler.	46
Çizelge 9.9 Cerrahi ve dahili birimlere göre GSBL ve İBL üreten bakterilerin dağılımı	46
Çizelge 9.10 GSBL+ ve GSBL- <i>E.coli</i> suşlarının çeşitli antibiyotiklere direnç ve duyarlılık durumları.....	47
Çizelge 9.11 GSBL+ ve GSBL- <i>Klebsiella</i> spp. suşlarının çeşitli antibiyotiklere direnç ve duyarlılık durumları.....	48
Çizelge 9.12 GSBL+ ve GSBL- <i>Enterobacter</i> spp suşlarının çeşitli antibiyotiklere direnç ve duyarlılık durumları.....	50
Çizelge 9.13 GSBL+ ve GSBL- <i>S.marcescens</i> suşlarının çeşitli antibiyotiklere direnç ve duyarlılık durumları.....	51
Çizelge 9.14 GSBL+ ve GSBL- ile İBL+ ve İBL- <i>P.aeruginosa</i> suşlarının çeşitli antibiyotiklere direnç ve duyarlılık durumları.....	52

KISALTMALAR DİZİNİ

ATCC	American Type Culture Collection
BOS	Beyin Omurilik Sıvısı
C	Citozin
CLSI	Clinical and Laboratory Standards Institute
DNA	Deoksiribonükleik Asit
ESBL	Extended Spectrum Beta-Lactamase
EDTA	Etilendiamintetraasetik Asit
FTR	Fizik Tedavi ve Rehabilitasyon
G	Guanin
GSBL	Genişlemiş Spektrumlu Beta Laktamaz
İBL	İndüklenebilir Beta-Laktamaz
KCN	Potasyum Siyanür
KDS	Kadın Doğum Servisi
MBL	Metallo Beta-Laktamaz
MİK	Minimum İnhibitör Konsantrasyonu
MPA	2-Merkaptopropionik Asit
NRŞ	Nöroşirürji
OMP	Outer Membran Protein
PBP	Penisilin Bağlayan Protein
PCR	Polimeraz Zincir Reaksiyonu
SMA	Sodyum Merkuptoasetik Asit
SPSS	Statistical Package for the Social Sciences
VP	Voges Prokauer
YDS	Yeni Doğan Servisi
YBS	Yoğun Bakım Servisi
YBÜ	Yoğun Bakım Ünitesi
6-APA	6- aminopenisilonikasit

1. GİRİŞ

Beta-laktamazlar çoğu bakterilerin salgıladığı ve beta-laktam antibiyotiklere karşı direnç sorunu oluşturan enzimlerdir. Gram pozitif bakterilerde de görülmekle birlikte aslında beta-laktamazlar gram negatif bakteriler arasında önem kazanmaktadır. Gram negatif bakterilerin beta-laktam antibiyotiklere karşı en önemli antibiyotik direnç mekanizmalarından biri beta-laktamaz salgılamalarıdır.¹ Beta-laktamazlar beta-laktam antibiyotikleri hidrolize ederek etkisiz hale getirirler. Bu reaksiyon ‘metallo enzimler’ dışında serin ester aracılığıyla olur. Metallo enzimler ise farklı olarak çinko iyonu kullanırlar, katalitik aktiviteleri için çinkoya gereksinim duyarlar, etilendiamintetraasetik asit (EDTA) ve tiol temelli bileşiklerle inhibe edilirler.² Metallo beta-laktamaz (MBL) üretiminden sorumlu genler bir integron yapısında bulunurlar, plazmidlerle taşınabilirler ve kromozomda da bulunabilirler.³ Serin beta-laktamazlar Sınıf A, C ve D, metallo enzimler Sınıf B olarak deoksiribonükleik asit (DNA) sekans benzerliğine göre Ambler tarafından sınıflandırılmıştır.⁴

Sınıf B içinde yer alan metallo enzimler karbapenemleri hidrolize ederek bu grup antibiyotiğe karşı direnç oluştururlar ve karbapenemlerin klinikte kullanımını bu sebepten dolayı tehdit altında olmaktadır.⁵ Aynı zamanda MBL’ler penisilin, sefalosporin gibi diğer beta-laktam antibiyotikleri de hidrolize edebilmektedirler. MBL üreten *Pseudomonas aeruginosa* ilk olarak 1991’de Japonya’da bildirilmiştir.⁶ Daha sonra MBL’ler birçok coğrafi bölgelerde de tanımlanmıştır ve MBL üreten bakteriler aztreonam hariç tüm beta-laktamlara yüksek düzeyde dirençlidir. *Pseudomonas* spp., *Acinetobacter* spp. ve *Enterobacteriaceae*’de saptanmış 5 enzim tipinden oluşurlar. Kazanılan MBL’ler moleküler yapılarına göre; IMP, VIM, SPM, GIM ve SIM olarak adlandırılırlar⁷ ve son yıllarda sayıları artarak dünya çapında yayılma göstermişlerdir.

Son 25 yılda genişlemiş spektrumlu beta-laktamazlar (GSBL) ve plazmidlerle taşınan AmpC beta-laktamazlar ortaya çıkmış ve sayıları artmıştır. Karbapenemler, bu beta-laktamazların hidrolizine karşı stabil olmaları sebebiyle dirençli gram negatif bakterilerin yol açtığı enfeksiyonların tedavisinde iyi bir seçenek olmuştur. Ancak son yıllarda karbapenemlere karşı da, özellikle nonfermantatif gram negatif basiller arasında, artan bir direnç sorunu ortaya çıkmaya başlamıştır. MBL üreten *P.aeruginosa* suşları dünyanın farklı bölgelerinde birkaç hastane enfeksiyonu salgınına neden

olmuştur. Bu suşlar septisemi, pnömoni gibi ciddi enfeksiyonlardan da sorumlu olmuştur.⁸ Karbapenemlerle tedavide başarısızlığa da neden olmaktadır.⁹

Son zamanlarda ülkemizde de MBL üreten gram negatif mikroorganizmalara rastlanması çeşitli araştırmaların yapılmasını gerektirmiştir. MBL üreten bakterileri saptama zorluğu, önemli riskleri de beraberinde getirmektedir. Bu enzim genini taşıyan bakteriler hastane içinde fark edilmeden yayılarak, hastane enfeksiyonlarına neden olurlar ve diğer patojen mikroorganizmalara MBL genini transfer edebilirler. Ayrıca gizlenmiş MBL genleri taşıyan mikroorganizmalarla infekte hastaların klinik durumu ve karbapenemlerle tedavi edilebilirliği de bilinmemektedir. Bu nedenle karbapenem duyarlı MBL taşıyan mikroorganizmaların laboratuvarlarda saptanması klinik açıdan son derece önemlidir. MBL taşıyan bakteriler standart duyarlılık yöntemleriyle karbapenemlere duyarlı saptanabilmektedirler. Yapılan bir çalışmada imipenem veya meropenem duyarlı veya orta duyarlı bakterilerde MBL üretimi incelenmiş, “Gizlenmiş MBL genini taşıyan bakteriler” adı verilen bakterilerin varlığı gösterilmiştir.⁵

Bu çalışmanın amacı, Cumhuriyet Üniversitesi Tıp Fakültesi Araştırma ve Uygulama Hastanesi Mikrobiyoloji Laboratuvar’ında çeşitli klinik hastalarına ait örneklerden üretilen gram negatif bakterilerde (*Enterobacteriaceae* türleri ve nonfermantatif bakteriler) MBL üreten suşların oranını belirlemek ve bu bakterilerin çeşitli antibiyotiklere duyarlılıklarını saptamaktır.

2. GRAM NEGATİF BAKTERİLER

Bakteri hücre duvarı kimyasal ve fiziksel özelliklerine göre 'gram boyama' yöntemi ile iki büyük gruba ayrılır. Bu yöntem Danimarkalı bilim adamı Hans Christian Gram tarafından 1884 yılında bulunmuştur. Gram boyama, gram pozitif ve gram negatif bakteri gruplarını ayırmak için kullanılan empirik bir yöntemdir. Gram boyası ile pembe renkte boyanan, hücre duvarı ince bakterilere gram negatif bakteri, gram boyası ile mor renkte boyanan, hücre duvarı kalın bakterilere gram pozitif bakteri ismi verilir.

Gram pozitif bakterilerin aksine, gram negatif bakterilerin hücre duvarının ince olması hücre duvarının sadece %10'unun peptidoglikan tabakasından oluşmasıdır. Peptidoglikan tabakası hücre duvarına sağlamlık ve direnç vermektedir. Bu tabakanın dışında gram negatif bakterilerde üç polimer katman bulunur. Bunlardan birisi olan lipoprotein katmanı, hemen peptidoglikan katmanının dışında bağlantı katmanıdır. Bu katmanın peptidoglikan ile olan bağlantısında periplazmik aralık denilen ve belirli enzimlerin işlev yaptığı bir aralık bulunur. Periplazmik aralıkların içerisi periplazmik jel ile doludur. Bu jel içinde fosfatazlar, nükleazlar, beta laktamazlar, şeker bağlayan proteinler, aminoasitler, oligosakkaritler ve bazı iyonlar bulunur. Gram pozitif bakterilerde ise beta laktamaz enzimleri hücre dışına salınmaktadır. Bunların dışında dış zar denilen ve çift fosfolipid katmanından oluşan kısım vardır ve gram negatif bakterilerdeki bu dış membran katmanı hücre duvarına bir seçicilik özelliği kazandırır. En dışta lipopolisakkarid adı verilen hücre yapısı maddesi yoğun olarak bulunur ve bu katman polisakkaridlerle kompleks lipidlerin birleşiminden oluşmuştur.

İnsan vücudunda peptidoglikan maddesi hiç bulunmadığından, bağışıklık sisteminin gram pozitif bakterileri fark etmeleri daha kolaydır. Gram negatif bakteriler hastalık oluşturma açısından klinik önemi olan bakterilerdir. Bu bakteri grubundan *Enterobacteriaceae* ve nonfermantatif bakteriler beta laktamaz üretmesi açısından önemlidir (<http://tr.wikipedia.org/wiki/Gram-negatif>, <http://www.mikrobiyoloji.org>).

2.1 *Enterobacteriaceae* Ailesinin Genel Özellikleri

Enterobacteriaceae ailesindeki bakteriler yaklaşık 0.3-0.5 µm en ve 1.0-6.0 µm boyunda, çoğu hareketli, bazıları hareketsiz, düz, gram negatif çomakçıklardır. Endospor oluşturmazlar. Değişebilen anaeroplardır. Genel kullanım besiyerlerinde kolaylıkla ürerler. Tanımlamaları biyokimyasal testlerle gerçekleşir. Bazılar tek karbon kaynağı olarak glikozu kullanırlar. Sitokrom oksidaz negatiftirler. Nitratı, nitrite indirgerler.

Bu üç özellik tüm *Enterobacteriaceae* üyelerinde bulunur. Fermantatif metabolizmaları var olup glikozu parçalayarak asit ve bir çoğu gaz da oluşturabilir.

Enterobacteriaceae ailesindeki bakteri türlerinin bitki, böcek, hayvan ve insanlar olmak üzere çok geniş bir konak alanları vardır. Birçok *Enterobacteriaceae* türlerinin, tehlikeye açık kimselerde (diyabetli, immün yetmezliği olan, immunosupressif ilaç kullanan, kanserli, yaşlı vs.) fırsatçı patojen olarak birçok hastalıklara yol açtıkları ve bu hastalık örneklerinden başta *Escherichia coli*, *Klebsiella* spp., *Enterobacter* spp., *Proteus* spp., *Serratia* spp., *Salmonella* olmak üzere birçok bakterilerin soyutlandığı ve ayrıca yine bunların birçoğunun hastane enfeksiyonu etkenleri olarak görüldükleri bilinmektedir.

Enterobacteriaceae üyeleri çoklu antibiyotik direnci gösterirler. Gram negatif enterik bakteriler birkaç antibiyotiğe direnci kodlayan R plazmidleri bulundurlar. Antibiyotik direnci, duyarlı suşlara R plazmidleri ile transfer edilebilir.

Escherichia, *Edwardsiella*, *Salmonella*, *Shigella*, *Citrobacter*, *Klebsiella*, *Enterobacter*, *Hafnia*, *Serratia*, *Proteus*, *Providencia*, *Morganella* ve *Yersinia* *Enterobacteriaceae* ailesi içerisinde yer almaktadır.¹⁰

2.1.1 *Escherichia* Cinsi

Hafif hareketli, bazen hareketsiz, şekerleri asit ve gaz yaparak parçalayan, laktozu ve manitolü ayrıştıran bakterilerdir. Metil kırmızısı testi olumlu, voges proskauer (VP) olumsuzdur. Sitrathlı ve KCN'li besiyerlerinde üremezler, çoğu üreyi parçalamaz ve fenilalanini deamine etmezler. İndol oluştururlar, H₂S oluşturmazlar ve jelatini eritmezler. *Escherichia* cinsi içinde 6 tür olduğu kabul edilmektedir. En önemli tür olan *E.coli* dışında hastalık materyallerinden nadiren soyutlanan türler; *E.adecarboxylata*, *E.hermannii*, *E.vulneris* ve *E.fergussonii*'dir.¹¹

2.1.1.1 *Escherichia coli*

Yaklaşık olarak 2-6 µm boyunda ve 1.0-1.5 µm eninde, düz, uçları yuvarlak, çomakçık şeklinde bakterilerdir. *E.coli* farklı antijenik özellikleri ile çok sayıda suş ve serotipe ayrılmaktadır. Bazı suş ve serotipler insan ve hayvanlar için patojenite gösterir. *E.coli*, insanlarda safra ve idrar yolları enfeksiyonları ve karaciğer apsesi oluşturur. *E.coli* mikrobiyoloji laboratuvarlarından en sık izole edilen türlerden biridir. İnsanlarda nadiren septisemi yapar. Süt çocuklarında epidemik gastroenteritit yapar. Bu bakterilerin bazı suşları laktozu 24 saatten fazla bir sürede fermente ederler. Bunlara

paracoliform ya da paracolobactrum denir. Bazı nadir mutantlar hariç çok aktif bir β -galaktozidaz'a sahiptirler. Mannitol, indol ve metil red testleri (+); adonitol, inositol, VP, sitrat, H₂S, üreaz, gelatin, KCN testleri (-); sakaroz, salisin ve dulsitol testleri değişkendir. Lizin dekarboksilaz genellikle (-)'dir. Bazı suşları hemolitikdir.¹¹

2.1.2 *Klebsiella* Cinsi

Klebsiella cinsi içerisinde yer alan türler yapılan çalışmalar sonucunda *Klebsiella pneumoniae*'nin alt türleri olarak adlandırılmışlardır. Bu türler *Klebsiella pneumoniae* subsp. *pneumoniae* (*K.pneumoniae*), *Klebsiella pneumoniae* subsp. *ozaenae* (*K.ozaenae*), *Klebsiella pneumoniae* subsp. *rhinoscleroma* (*K.rhinoscleromatis*)'dir. Bu türler *Enterobacteriaceae* familya üyelerinin genel karakterlerine sahip, 0.7-1.5 μ m en ve 2.0-5.0 μ m boylarında, gram negatif, hareketsiz, sporsuz, genellikle kapsüllü basillerdir. *K.pneumoniae*; insanlarda üst solunum yolu ve dışkı florasında bulunan bir bakteri olduğu için patojenliği uygunsuz koşullar karşısında fırsatçı patojen olarak açığa çıkar. Bu nedenle hastane enfeksiyonlarından sorumlu bir bakteridir. Öncelikle pnömoni yapar ve bakteriyel pnömonilerin %2'sinden sorumludur. *Klebsiella*'nın yaptığı hastalıklarına göre farklı yerlerden materyaller alınır. Bunlar; balgam, idrar, boğaz ve yara sürüntüsü, BOS ve kan gibi örneklerdir.¹²

2.1.3 *Enterobacter* Cinsi

Enterobacteriaceae ailesindeki diğer bakteriler gibi doğada, toprak, su, insan ve hayvan dışkısında doğal olarak bulunur. İnsanlarda enfeksiyonlarını fırsatçı patojen olarak yaparlar. Bu bakteriler peritriş kirpikleri ile hareketli, yaklaşık 0.6-1.0 μ m en ve 1.2-3.0 μ m boylarında sporsuz, genelde kapsülsüz, gram negatif, fakültatif anaerob basillerdir. Fıratçı patojen olarak idrar yolu, üst solunum yolu, yara, yanık, menenjit, sepsis enfeksiyonları yapabilir. *Enterobacter*'lerin hastane enfeksiyonlarında sıkça bulunması tedavinin, izole edilen mikroorganizmaya özgü yapılan antibiyogram testine göre yapılması gerekliliğini göstermektedir.¹²

2.1.4 *Serratia* Cinsi

Küçük, hareketli, gram negatif bakterilerdir. Mannitol, sükröz ve salisinden asit ve bazen az miktarda gaz yaparak parçalarlar. İndol, metil kırmızısı olumsuz, VP ve sitrat olumludur. Jelatini çabuk eritirler. Doğada yaygın olarak toprak, bitki ve suda, nadir olarak hayvan ve insanda flora elemanı olarak bulunur.¹³

2.1.4.1 *Serratia marcescens*

Kokobasil görüntüsünde, 0.5-0.7 µm en ve 0.9-2.0 µm boyunda, peritriş kirpikleri ile hareketli, kapsülsüz, gram negatiftir. Bu bakterilerin kolonileri kırmızı pigmentli ve düzensiz kenarlı olabilir. Marcescin adı verilen bakteriosinleri ve O, H antijenleri bulunur. Enfeksiyonlar genellikle hastane enfeksiyonları olan idrar yolları, üst solunum yolları, sepsis, menenjit ve endokardit şeklinde görülür.¹³

2.1.5 *Morganella* Cinsi

2.1.5.1 *Morganella morganii*

Hareketli, 0.6-0.7 µm en ve 1.0-2.0 µm boyunda, fakültatif anaerob, üre negatif, laktoz fermantasyonu negatif özellik gösterir. O ve H antijenlerine göre serovarlara ayrılır. İnsan ve bazı memeli hayvanların bağırsak florasında bulunmaktadır. Fırsatçı patojen olarak idrar yolları ve çeşitli enfeksiyonlarda görülebilir.¹⁰

2.2 Gram Negatif Nonfermantatif Bakteriler

Aerop, spor oluşturmayan basillerdir. Karbonhidratları enerji kaynağı olarak kullanmazlar veya karbonhidratları fermantasyon dışındaki metabolik yollarla parçalarlar. Nonfermantatif bakteriler içinde *Acromobacter*, *Acidovorax*, *Acinetobacter*, *Agrobacterium*, *Alcaligenes*, *Alishewanella*, *Balneatrix*, *Bergeyella*, *Bordetella*, *Brevundimonas*, *Burkholderia*, *Chryseobacterium*, *Delftia*, *Flavobacterium*, *Moraxella*, *Oligella*, *Parococcus*, *Pseudomonas*, *Rhizobium*, *Shewanella*, *Weeksella* cinsleri bulunur (<http://www.mikrobiyoloji.org>).

2.2.1 *Pseudomonas aeruginosa*

Uzunlukları çok değişik olmakla beraber 1.5-3.0 µm uzunluğunda ve 0.5 µm kadar genişliğinde, sporsuz, kapsülsüz, çomakçıklardır. Buyyonda yüzeyde zar yaparak yoğun ve homojen bir üreme gösterir ve zarın hemen altında mavi-yeşil pigmenti belirir. Floresans özelliği olan ve besiyerinin her tarafına yayılmış olan yeşil mavimsi pigmentleri görülür. Kabarık, küçük ve koliform kolonilere benzeyen R kolonileri bulunur. Bazı kolonileri de mukoid görünümlüdür. Kültürlerde aromatik meyva, tatlımsı veya trimetil amin kokusuna benzer koku duyulur. Piyosiyanin ve piyoverdin pigmentleri bulunur. Pigmentleri oksijensiz ortamda görülmez, oda ısısı ve etüvde daha iyi oluşur. Doğada yaygın olarak bulunabilen bir bakteri olduğu için, organik maddeler içinde, sularda uzun süre canlı kalabilirler.

İnsan ve memeli hayvanların bağırsağında flora elemanı olarak bulunurlar. Yüksek ısı ve kuruluğa karşı dirençsizdirler. Hastane ortamları organik madde (kan, irin, deri döküntüleri) yönünden zengin olduğu için ve direnç gösteren kökenlerin bu ortamlarda daha fazla oluşması nedeniyle sık rastlanılan bir patojen olarak görülür. İdrar yolu, göz, dış kulak, orta kulak, yanık ve yara enfeksiyonları, menenjit, bronşit ve bronkopnömoni, sepsisemi, osteomyelit, pseudomembranöz kolit gibi hastalıklardan izole edilebilirler. *Pseudomonaslar* çabuk dirençli duruma geçtikleri için üretildiği kültürlerden izole edildikten sonra antibiyogram testi yapılarak kullanılacak antibiyotik kararı verilmelidir. Genel olarak beta laktamlar, aminoglikozidler, kinolonlar ve sefalosporinler etki edici antibiyotiklerdir.¹⁰

2.2.2 *Acinetobacter baumannii*

Çift veya zincir yapmış, kok veya kokobasil görünümünde, sporsuz, bazen kapsüllü, gram negatif, oksidaz negatif, katalaz pozitif, aerop bakterilerdir. Daha çok toprak, su ve atık suların florasında ve daha önemlisi hastane ortamı florasında bulunabilirler. Her türlü besiyerinde ürerler.¹²

3. BETA LAKTAM ANTİBİYOTİKLER

Beta-laktam antibiyotikler günümüzde en sık kullanılan antibiyotik türevlerinin başında gelmektedir. Beta-laktam antibiyotikler başlıca 5 grupta toplanırlar:

1. Penisilinler
2. Sefalosporinler
3. Monobaktamlar
4. Karbapenemler
5. Beta-Laktamaz İnhibitörleri

Beta-laktam antibiyotikler, etkilerini peptidoglikan sentezinde görevli olan transpeptidaz ve karboksipeptidazları inhibe edip, hücre duvar sentezini durdurarak gösterirler.¹⁴ Tüm beta-laktam antibiyotikler bakterilerin sitoplazmik membranları üzerinde bulunan ve bakteri hücre duvarında peptidoglikan sentezinden sorumlu olan penisilin bağlayan protein (PBP) adı verilen hedef proteinlere bağlanarak etkilerini göstermektedirler. Beta-laktam antibiyotik tarafından PBP'leri inhibe edilen bakteride peptidoglikan sentezlenemeyeceğinden hücre duvar yapısı bozulmaktadır. Bu durum

bakterinin ozmotik direnç kaybına ve ölümüne neden olmaktadır. Beta-laktam antibiyotiklerin hedeflerine bağlanmaları ve etkinlik göstermeleri için gram negatif bakterilerde porin (Outer Membran Protein, OMP) adı verilen içi su dolu protein kanalcıklarından geçmeleri, sitoplazmik membranla dış membran arasındaki periplazmik boşlukta yer alan beta laktamazlardan etkilenmemeleri gerekmektedir.¹⁵ Gram pozitif bakterilerde dış membran bulunmayıp, sitoplazmik membranın üzerinde kalın bir peptidoglikan tabakası uzanmaktadır. Beta-laktamazlar bu tabakaya yapışık veya bakteri hücresi etrafında serbest olarak yer almaktadır.¹⁶

3.1 Penisilinler

Güçlü bakterisidal etkili ve düşük toksisiteli betalaktam türevi bir antibiyotik grubu olan penisilinler Alexander Fleming tarafından 1928 yılında keşfedilmiştir. Kimyasal yapıda yapılan değişikliklerle çok sayıda türevi geliştirilmiştir. Penisilinlerde temel yapıyı bir betalaktam halkası, bir tiazolidin halkası ve yan zincir oluşturur. Beta laktam ve tiazolidin halkasının oluşturduğu yapıya 6-aminopenisilanikasit (6-APA) denir. Halen kullanılan tüm penisilinler 6-APA türevidir. Yan zincirlerdeki değişiklikler ise antibakteriyel spektrumu ve farmakolojik özellikleri belirler.

Penisilinlerin klinik kullanım kolaylığı açısından antimikrobiyal spektrumlarına göre sınıflandırılmaları tercih edilmektedir.¹⁷

3.1.1 Doğal Penisilinler

Beta laktamaz yapmayan gram pozitif bakterilere (*S.pneumoniae*, *S.pyogenes*, *S.agalactiae*, viridans streptokoklar ve penisiline duyarlı *S.aureus*), *B.fragilis* dışındaki anaeroplara ve *Neisseria*'lara karşı etkilidir. Oral kullanılabilen tek doğal penisilin olan penisilin V'nin *Neisseria*'ya etkisi yoktur, dolayısıyla sadece gram pozitif bakterilerin enfeksiyonlarında kullanılır.

3.1.2 Penisilinaza Dirençli Penisilinler

Stafilokok enfeksiyonlarında ilk seçenek olarak kullanılmakla beraber streptokoklara da etkileri vardır.

3.1.3 Aminopenisilinler

Penisilin G ile aynı etki spektrumuna sahip olmakla beraber gram negatif koklara ve *Enterobacteriaceae*'ya karşı etkilidirler.

3.1.4 Karboksi ve Üreidopenisilinler

P.aeruginosa dahil gram negatif aerobik basillere etkilidirler. *Pseudomonas* dışındaki gram negatiflere, streptokoklara ve *Haemophilus* suşlarına karşı üreidopenisilinler daha etkilidir. Anaerop gram pozitif kokların büyük çoğunluğu tüm penisilinlere duyarlıdır.¹⁸

3.2 Sefalosporinler

1940’larda keşiflerinden sonra yaygın olarak kullanılan bakterisidal ajanlardır. Tüm sefalosporinler 7-amino sefalosporinik asit çekirdeğinden türetilmişlerdir. Yapılan yan zincir ilaveleri ile antibakteriyel aktivite ve farmakokinetiklerinde değişmeler elde edilmiştir.

Sefalosporinler için çeşitli sınıflamalar yapılmış ancak bunlardan en yaygın olanı gram negatif basiller karşısındaki etki spektrumlarına göre kuşak ve jenerasyon sınıflamasıdır.¹⁹

3.2.1 I. Kuşak Sefalosporinler

Spektrumu dardır ve gram pozitif koklara etkileri belirgindir. Enterokoklar ve metisiline dirençli stafilokoklar hariç gram pozitif kokların çoğuna etkilidirler. Ayrıca *E.coli*, *K.pneumoniae*, *Proteus mirabilis* gibi bazı gram negatif basillere de etkilidirler. Sefalotin, Sefazolin, Sefaleksim bu kuşaktadır.

3.2.2 II. Kuşak Sefalosporinler

Gram pozitif koklara etkileri değişmekle birlikte gram negatiflere etkileri artmıştır. Özellikle *Haemophilus influenzae*’ya karşı etkilidirler. İkinci kuşaklar içerisinde yer alan sefamisinler aneoroblara en etkili sefalosporinlerdir. Sefamandol, Sefuroksim, Sefoksitin bu kuşaktadır.

3.2.3 III. Kuşak Sefalosporinler

Gram negatif bakterilere çok etkili iken stafilokoklara etkinlikleri azdır. Sefotaksim, Seftezidim, Seftriakson, Sefaperazon bu kuşaktadır.

3.2.4 IV. Kuşak Sefalosporinler

Pseudomonas aeruginosa dahil gram negatif bakterilere ve gram pozitif koklara etkilidir. Geniş spektrumlu Sefepim, Sefpriom bu kuşakta yer almaktadır.

3.3 Monobaktamlar

Bu grubun klinik kullanımındaki tek üyesi aztreonam'dır. Aztreonam dar spektrumludur, gram pozitif ve anaerop bakterilerin PBP'lerine bağlanamadığından bu gruptaki mikroorganizmalara etkisi yoktur. Bakterisidal etkilidir. Aztreonam, parenteral uygulamadan sonra dokulara ve vücut sıvılarına çok iyi dağılır. *K.pneumoniae*, *H.influenzae*, *M.catarrhalis* gibi sık rastlanan gram negatif patojenlere etkilidir.²⁰

3.4 Karbapenemler

Streptomyces cattleya'dan elde edilen thienamycin derivativesidir. Karbapenemler çok geniş spektrumlu antibakteriyel aktiviteye ve klinikte gözlenen birçok beta laktamaza karşı stabiliteye sahiptir. Ancak sınıf B MBL'ler dahil, karbapenemazlar bu antibiyotikleri hidrolize edebilmektedir.

Çok geniş etki spektrumu, iyi klinik etkinliği, uygun güvenlik profili ile karbapenemler, ağır enfeksiyonların başlangıç tedavisinde ilk tercih edilecek olan antibiyotikler içinde oldukça değerlidir. Günümüzde klinik kullanımda olan karbapenem üyeleri imipenem ve meropenemdir.²¹

3.4.1 İmipenem

Diğer klasik beta laktam antibiyotiklerden yapısal olarak farklıdır. Bütün penisilinler ve sefalosporinler molekül yapılarında asiklamino yan zincir taşırken, imipenem hidroksietil yan zincir bulundurur. Ayrıca klasik beta laktamlarda yan zincirler cis konfigürasyonunda iken, imipenemdeki hidroksietil yan zincir trans konfigürasyonundadır. Bu trans yapısı imipenemin beta laktamaz stabilitesinden sorumludur.

Antibakteriyel Aktivite; İmipenem Lancefield sınıflamasına göre A,B,C,G grubunda yer alan aerobik gram pozitif bakterilere karşı mükemmel etkinlik gösterir. Penisilinde olduğu gibi duyarlı enterokoklara bakteriyostatik etkilidir. Beta laktamaz yapmayan penisiline dirençli enterokok suşları ve *E.faecium* imipeneme dirençlidir. Metisiline dirençli stafilokoklar imipeneme de dirençlidir. İmipenem *Enterobacteriaceae*'lere, *H.influenzae* ve *N.gonorrhoeae*'ye düşük konsantrasyonlarda etkilidir. Antipseudomonal penisilin ve sefalosporinlere dirençli *P.aeruginosa* suşları imipeneme duyarlıdır. *Acinetobacter* türleri genellikle imipeneme duyarlı iken, *S.maltophilia* dirençlidir. *B.fragilis* dahil birçok anaerobik bakteriye etkilidir.

Etki Mekanizması; İmipenem gram pozitif ve gram negatif bakterilerin penisilin bağlayan proteinlerine karşı yüksek afinite ile bağlanır. Birçok bakteri tarafından salgılanan kromozomal veya plazmidle taşınan beta laktamaz, penisilinaz, sefalosporinaz ile hidrolize olmaz. Ancak *S.maltophilia*, bazı Basilluslar ve Bakteroides'ler tarafından üretilen enzimler imipenemi parçalar. Karbapenemler penisilin ve sefalosporinlerin aksine, aminoglikozid ve kinolonlar gibi gram negatif mikroorganizmalara karşı postantibiyotik etkiye sahiptirler.

Direnç; *S. maltophilia* imipenem ve diğer karbapenemleri inaktive eden enzimler üretirler. Benzer enzimler *B.cepacia*'da da vardır. Bununla beraber direnç temel olarak D₂ olarak bildirilen dış membran proteinin kaybı ile olmaktadır.

Farmakokinetik ve Farmakodinamik; İmipenemin plazma yarılanma ömrü yaklaşık bir saattir. Serum proteinlerine bağlanma oranı %10-20 arasında olup, imipenem %20, silastatin ise %40 oranında bağlanır. Yaklaşık 10 saat içinde verilen dozun %70'i idrarda saptanır. Total dozun %48.6'sı idrarla değişmeden atılmaktadır.

Yan Etkiler; İmipenem genellikle iyi tolere edilir. İntravenöz olarak kullanıldığında bazen flebite neden olur. Hipersensitivite ve penisilinler ile çapraz direnç gelişimi olabilir. Ciddi yan etkisi yoktur. Diyare, psedomembranöz enterokolit, pıhtılaşma bozuklukları, nefrotoksisite veya hepatotoksisite bildirilmiştir. Hızlı infüzyon, hastaların %1'inde bulantı ya da kusmaya neden olabilir. Sık olmasa da lökopeni bildirilmiştir. En ciddi yan etkisi nöbete neden olmasıdır. Bu yan etki altta yatan santral sinir sistemi patolojisi olan veya renal yetmezliği bulunan ancak doz ayarlaması yapılmayan hastalarda görülebilir. Nöbet hastaların %1.5'inde görülmektedir.²²

3.4.2 Meropenem

Meropenemin acil yan zincirleri trans pozisyonundan ziyade penisilin ve sefalosporinlerdeki gibi cis pozisyonundadır. Bununla beraber imipenemde bulunan N-formidil grubun aksine meropenem ikinci halkanın ikinci pozisyonunda dimetilkarbanoil prolidolidin derivesine sahiptir. Bu dihidropeptidaz 1 aktivitesine karşı stabiliteyi sağlar.

Antibakteriyel Aktivite; Meropenem gram negatif mikroorganizmalara karşı imipenemden daha etkilidir. Seftazidim ve diğer antipsedomonal sefalosporinler ve piperasilin gibi antipsedomonal penisilinlere karşı çapraz direnç yoktur. İmipenemde olduğu gibi meropenem de *P.aeruginosa*'ya karşı postantibiyotik etki gösterir.

Etki Mekanizması; Aktivitesinden, bakteri içine mükemmel penetrasyonu, penisilin bağlayan proteinlere karşı yüksek affinitesi ve beta laktamazlara stabilitesi sorumludur.

Direnç; İmipenem gibi meropenem de *S.maltophilia*'da bulunan çinko bağımlı beta laktamazlarla hidrolize olur. *E.faecium*'un hücre duvarında bulunan PBP5 ve PBP6'ya bağlanamaz. Meropenem gram negatif mikroorganizmaların D₂ porinlerinden imipenemden daha hızlı geçtiği için permeabilite yoluyla gelişen direnç nadirdir.²³

3.5 Beta-Laktamaz İnhibitörleri

Beta-laktamaz inhibitörlü kombine penisilinler, son yıllarda klavulanik asit, sulbaktam ve tazobaktam gibi beta-laktamaz inhibitörleri ile ampisilin, amoksisilin, tikarsilin, piperasilin gibi penisilin türevlerinin aynı preparat içinde birleştirilmesi ile beta-laktamaz salgılayan bakterileri de etki spektrumu içine alan ilaçlar olarak geliştirilmiştir. Ancak bu kombine preparatlardaki beta-laktamaz inhibitörleri, tüm beta-laktamazları inhibe edemezler. Bu ilaçlar genellikle *Staphylococcus*, *Haemophilus*, *Bacteriodes*, *Klebsiella* türleri ve *E.coli*'nin basit beta-laktamazlarını inhibe ederler.²⁴

4. BETA LAKTAM ANTİBİYOTİKLERE DİRENÇ MEKANİZMASI

Bakterilerde antibiyotiklere karşı direnç gelişiminde 3 genetik mekanizma rol oynar.

4.1 Kromozomal genlerde mutasyon oluşması

DNA replikasyonu sırasında her gende 10^{-9} ile 10^{-10} sıklıkta mutasyon oluşabilmektedir. Antibiyotiklerin bakteri hücresindeki hedefleri, hücrenin üremesi ve devamı için yaşamsal önemi olan proteinlerdir. Direnç mutasyonları, antibiyotiğin hedefinden başka, bakterideki düzenleyici genlerde de oluşabilmektedir. *Enterobacter* spp.'de kromozomal Amp C beta-laktamaz üretiminin artışı, *P.aeruginosa*'da OmpD porininin ifadesinin azalması ile imipeneme direnç oluşması ve atım pompalarının etkisi bu tip dirence örneklerdir. Mutasyon ile oluşan direncin kalıcı olması, bakterinin buna ne kadar dayanabildiğine bağlıdır. Örneğin, OmpD porininin ifadesinin azalması çabuk gelişebilmesine karşı yaygın bir direnç mekanizması değildir. Büyük olasılıkla bu porin, bakteri için yaşamsal olduğundan imipenem olmadığında bakteri bu porinleri tekrar yapmaktadır. Direnç kazanmanın bakteriye zararlı olan etkileri "fitness cost"(dayanıklılığın bedeli) olarak tanımlanmaktadır. Buna karşın, mutasyonların

bakterideki zararlı etkileri bazen bakteri tarafından başka yollar ile telafi edilebilmektedir. Eğer mutasyon ile gelişen direnç bakteriye zarar vermeden yüksek sıklıkta ortaya çıkıyorsa, o antibiyotik kullanıldığında kısa bir süre içinde direnç gözlenecektir.²⁵

4.2 Direnç genlerinin dışarıdan alınması

Direnç genlerinin duyarlı bakterilere geçişinde en sık gözlenen mekanizma konjugatif plazmidlerin geçişidir. Bu kromozom dışı replikatif DNA şekilleri, birçok geni kodlamaktadır. Bazı plazmidlerin konak açısından çok özgül olmasına karşın bazıları birçok farklı tür bakteriye girip replike olabilmektedir. Plazmidler arasında direnç genleri çoğunlukla transpozonlar tarafından taşınmaktadır. Bunlar direnç genlerini, bir plazmidten plazmide veya kromozoma ya da kromozomdan plazmide taşıyabilmektedir. Bazı transpozonlar bakteriden bakteriye de geçebilmektedir. Ancak bunlar çoğunlukla gram pozitif bakterilerde gözlenmektedir. İntegronlar direnç determinantlarının alınmasını ve ifadesini kolaylaştıran doğal rekombinasyon sistemleridir. Gram negatif bakterilerde, çoğunlukla plazmid ve transpozonlarda çok yaygın olarak bulunmakta ve özellikle sülfonamid ve streptomisine direncin yayılmasında önemli rol oynamaktadırlar. Çeşitli beta-laktamazlar ve aminoglikozid değiştirici enzimlere ait genler integronlarda bulunmaktadır. İntegronların direnç genlerinin yayılımı ve ifadesi için önemli bir kapasiteleri olmasına karşın gram negatif bakterilerde daha yaygın olan genlerin integronlardan çok transpozonlarda taşındığı gözlenmektedir.²⁶

4.3 Dışarıdan alınan genlerde mutasyon oluşması

Bu mekanizmaya en iyi örnek, gram negatif bakterilerde son yıllarda sayıları artmış olan GSBL enzimleridir. GSBL'lerin plazmid kontrolünde sentezlenen TEM-1 beta-laktamazından 1-2 nokta mutasyonu sonucu türediği saptanmıştır.²⁵

Beta-laktam antibiyotiklerin etki gösterebilmeleri için dış zardan ve periplazmik aralıktan geçerek PBP'lere etkin konsantrasyonda ulaşması ve bağlanması gereklidir. Bakteriler, bu basamakların her birinde bir engel oluşturarak direnç geliştirebilirler. Bakterilerde beta-laktam antibiyotiklere karşı oluşan direnç 3 yolla gelişebilmektedir.²⁶

4.4 İlacın hedef bölgesi olan PBP'lerde meydana gelen değişiklikler

Bu direnç kromozomal mutasyonlar sonucunda ortaya çıkar. PBP'nin beta laktam antibiyotiğe afinitesinin azalması yoluyla, PBP sayısında azalma olması veya beta laktam antibiyotiklere düşük afinite gösteren yeni PBP'in sentezlenmesi yollarıyla olur.

Bakterilerde iki grup PBP belirlenmiştir. Birincisi, düşük moleköl ağırlıklı PBP (DD-karboksipeptidazlar), ikincisi de yüksek moleköl ağırlıklı PBP'dir (transpeptidaz ve transglikozidos'lar). Yüksek moleköl ağırlıklı PBP'deki değişikliğe bağlı oluşan penisilin direnci gram pozitiflerde gram negatiflerden daha fazladır.²⁷

4.5 Dış membran geçirgenliğinin bozulması

Hücre membranının geçirgenliğinin azalması gram negatif bakteriler için özellikle önem taşır. Bu bakterilerin membranları gram pozitif bakteri membranlarına nazaran daha komplike bir yapıya sahiptir. Gram negatif bakterilerde beta-laktam molekülleri dış membran proteini adı verilen, porin proteinlerinden oluşan porlar yoluyla geçer. Porinlerin özellikleri, porinlerin sayıları ve antibiyotiğin yük, çözünürlük, büyüklük gibi özellikleri hücre içine giriş hızını belirler. Bu nedenlere bağlı olarak antibiyotik reseptörlere ulaşmamakta ve etkisini gösterememektedir.²⁵

4.6 Beta-laktamaz enzimleri ile ilacın inaktive edilmesi

Beta-laktamazlar, beta-laktam halkasındaki siklik amid bağlarını parçalayarak beta-laktam ajanların etkinliğini ortadan kaldıran, penisilinler, sefalosporinler ve benzeri beta laktam antibiyotikleri hidrolize eden ve bu antibiyotiklere direnç gelişimine neden olan enzimlerdir. Beta laktam antibiyotiklere karşı klinikte en çok gözlenen direnç mekanizmasıdır. Beta-laktamazlar; gram pozitif, gram negatif ve anaerob bakteriler tarafından sentezlenir. Beta-laktamaz genleri bakteri kromozomunda veya plazmid, transpozon, integron gibi hareketli genetik elemanlarda bulunabilir.²⁸ Gram pozitif bakteriler arasında beta laktamaz üreten en önemli patojen stafilokoklardır. Anaeroblardan *Clostridium* ve *Fusobacterium*'ların beta-laktamazları esas olarak penisilini parçalarken *Bacteriodes*'ler tarafından üretilen beta-laktamazlar ise sıklıkla sefalosporinaz etkinliği göstermektedir. Gram negatif bakteriler, daha çok sayıda beta-laktamaz üretirler. Başta Enterobacteriaceae üyeleri olmak üzere gram negatif bakterilerin beta-laktam direncindeki en önemli mekanizma beta-laktamaz üretimidir.²⁹

5. BETA-LAKTAMAZLAR

1940 yılında Abraham ve Chain'nin penisilinazı ortaya koymalarından bugüne kadar 400'e yakın beta-laktamaz enzimi tanımlanmıştır. 1980'de Ambler tarafından moleküler yapılarına göre 4 sınıfa ayrılmışlardır.³⁰

Sınıf A: Aktif bölgelerinde serin aminoasit taşıyan, öncelikle penisilinleri hidroliz eden beta-laktamazlardır. Gram negatif bakterilerde en sık bulunan TEM-1 enzimi bu gruba iyi bir örnektir.

Sınıf B: Aktive gösterebilmeleri için çinkoya bağlı tiyol grupları gerektiren metalloenzimlerdir.

Sınıf C: Aktif bölgelerinde serin aminoasit taşıyan, öncelikle sefalosporinazlardan oluşan, kromozomal AmpC geni tarafından kodlanması nedeniyle AmpC enzimler olarak da adlandırılan enzimlerdir.

Sınıf D: Oksasilini hidroliz eden serin beta-laktamazlardır.

Beta-laktamazların en yeni sınıflandırma şeması, 1995 yılında Bush, Jacoby ve Mederios tarafından biyokimyasal özellikleri ve substrat profillerine göre beta-laktamazları 4 gruba ayırdıkları sınıflandırmadır.³¹ Bu grupların genel özellikleri çizelge 5.1'de görülmektedir.³²

Çizelge 5.1 Beta-laktamaz grupları ve genel özellikleri

Beta-laktamaz grubu	Alt grup	Molekül sınıfı	Tercih Edilen Substrat	Özellik
1		C	Sefalosporinler	Çoğunlukla gram-negatif bakterilerdeki kromozomal enzimler (ancak plazmidde de kodlanabilir) Klavulanik asitle inhibe olmaz.
2		A, D		Birçoğu klavulanik asitle inhibe olur.
	2a	A	Penisilinler	Stafilokok ve enterokoklardaki penisilinazlar
	2b	A	Penisilinler Sefalosporinler	Çoğunlukla gram-negatif bakterilerdeki geniş spektrumlu beta-laktamazlar (TEM-1, TEM-2, SHV-1)
	2be	A	Penisilinler, dar ve geniş spektrum Sefalosporinler, Monobaktamlar	Oksiiminosefalosporin ve monobaktamlara direnç oluşturan genişlemiş spektrumlu betalaktamazlar (ESBL)
	2br	A	Penisilinler	İnhibitörlere dirençli TEM (IRT) beta laktamazlar bir tane SHV türevi
	2c	A	Penisilinler, Karbenisilin	Karbenisilini hidroliz eden enzimler
	2d	D	Penisilinler, Kloksasilin	Oksasilini hidroliz eden enzimler Klavulanik asit ile az inhibe olurlar.
	2e	A	Sefalosporinler	Klavulanik asit ile inhibe olan sefalosporinazlar
	2f	A	Penisilinler Sefalosporinler Karbapenemler	Karbapenemleri hidroliz eden, aktif bölgede serin içeren ve klavulanik asit ile inhibe olan enzimler
3	3a, 3c	3b, B	Birçokβ-laktam, karbapenemler dahil	Metallo-beta-laktamazlar. Klavulanik asit ile inhibe olmazlar.
4		?	Penisilinler	Diğer gruplara girmeyen dizileri belirlenmemiş enzimler

5.1 Grup 1 Kromozomal Beta Laktamazlar

Bu grupta bulunan beta laktamazlar sefalosporinazlardır. Bu enzimlerin moleküler sınıfı 'C'dir. Salmonella dışında hemen tüm gram negatif bakterilerde kromozom kontrolünde sentezlenen beta-laktamazlar bulunur. Ancak miktar, sentez yolu ve dirençteki rolleri açısından farklılıklar gösterir. Enzimler, indüklenebilen enzimler ve yapısal enzimler olarak bulunabilmekte ve yüksek düzeyde veya düşük düzeyde olabilmektedir. *E.coli*, *P.mirabilis* ve *Shigella* spp.de düşük düzeyde sentezlenen yapısal enzimler vardır ve miktarları ampisilin ve dar spektrumlu sefalosporinlere karşı direnç oluşturmayacak kadar düşük düzeydedir. Buna karşın *E.coli*, izolatlarının %2'sinde AmpC enzimlerinin aşırı sentezi sonucu yüksek düzeyde direnç oluşabilmektedir.

İndüklenebilir kromozomal enzimler klinikte sık karşılaşılan gram negatif bakterilerde bulunur. *Enterobacter* spp., *P.aeruginosa*, *Citrobacter freundii*, *Serratia* spp., *Morganella morganii*, *Providencia stuartii* ve *Providencia rettgeri*'deki sentezlenen kromozomal beta laktamazlar indüklenebilen türdedir. *E.coli*'de bu enzimi kodlayan genler olmasına rağmen promoter bölge aktif olmadığından indüklenme özelliği yoktur. *Citrobacter freundii* ve *Morganella morganii*'de İndüklenebilir beta-laktamaz (İBL) taşıyan genler plazmid üzerinde gösterilmiştir. Plazmidler ile taşınabilir hale gelmesi bu direncin bu enzimi kodlayan genleri taşımayan *Salmonella* spp. ve *K.pneumoniae* gibi bakterilere de yayılmasına neden olmuştur.

Klonlama çalışmaları, kromozomal tip -1 beta laktamaz indüksiyonunda, AmpR, AmpC ve AmpD olarak adlandırılan 3 genin rol oynadığını göstermiştir. Bu genler Enterobacteriaceae ailesinin tüm üyelerinde bulunmaz; örneğin *E.coli*'de AmpC ve AmpD genleri vardır, ancak AmpR kaybolmuştur. Plazmid kaynaklı AmpC beta laktamazının aşırı salgılanması porin kaybı ile birlikte görüldüğünde karbapenem direncine neden olmaktadır. Yirmiden fazla AmpC sınıfı beta laktamaz tanımlanmış olup bunlardan 5'i (DHA-1, DHA-2, ACT-1, CMY-13 ve CFE-1) indüklenebilir özelliktedir.

AmpC türü beta laktamaz üreten bakteriler geniş spektrumlu sefalosporinlerin yanı sıra sefoksitine ve beta-laktamaz inhibitörlerine de (klavulanik asit ve sulbaktam) dirençlidir. Buna karşın aztreonam, kloksasilin ve karbapenem grubu antibiyotiklere karşı duyarlıdırlar. Tüm beta-laktam antibiyotikler beta-laktamaz üretimini indükleyebilir ancak imipenem, klavulanik asit ve kombinasyonları, sefoksitin ve

sefotetan güçlü indükleyicidirler. Plazmid kaynaklı AmpC beta-laktamazların indüklenme özelliği yoktur.

Normalde, bakteri tarafından beta laktamazlar bir represör mekanizma ile düşük düzeyde sentezlenirken ortama bir penisilin ya da sefalosporin eklendiğinde enzim sentezinde birkaç yüz kat artış olabilmektedir. Farklı beta laktam antibiyotikler değişik oranlarda olmak üzere Grup 1 beta laktamazları indükleyebilirler. Ancak, indükleyici yani beta laktamın ortadan kalkmasıyla beraber tekrar eski bazal beta laktamaz sentezine geri döner. Bu yüzden bu mekanizma ile klinikte kalıcı bir direnç söz konusu olmaz.³²

5.2 Grup 2 Plazmid Kontrolündeki Beta Laktamazlar

Bu grup beta laktamazlar en geniş kategoriyi oluşturmakta olup, A ve D molekül sınıfını içermektedirler. Bu beta laktamazlar penisilinleri, sefalosporinleri, kloksasilini, karbapenisilini, karbapenemleri ve monobaktamları hidrolize etmelerine göre 6 alt gruba ayrılırlar. Bunların en büyük grubu türler arasında kolayca yayılabilen geniş spektrumlu beta laktamazlardır. Gram negatif bakterilerde gözlenen beta laktam antibiyotiklere karşı direnç büyük oranda plazmid kontrolündeki beta laktamazlara bağlıdır. Moleküler sınıf A'da olan ve 2b, 2be ve 2br alt grubunda bulunan TEM ve SHV grubu enzimler, sık soyutlanan türlerde yaygın olmaları ve plazmidlerce taşınmaları nedeni ile klinik açıdan önem taşımaktadırlar. Grup 2b'de yer alan TEM-1, TEM-2 ve SHV-1 'geniş spektrumlu' enzimlerdir. Bu enzimlere ampisilin, karbenisilin, tikarsilin, sefalotin gibi beta laktam antibiyotiklere direnç oluşturmaları nedeniyle geniş spektrumlu denilmiştir. TEM-1, TEM-2, SHV-1 beta laktamazları Enterobacteriaceae ailesinde yaygın olarak bulunur. Bu beta laktamaz penisilinler ve 1. kuşak sefalosporinleri etkin bir şekilde parçaladıkları halde geniş spektrumlu beta laktamazlara (yeni sefalosporinler, monobaktamlar) sınırlı etki gösterirler veya etkisizdirler. Klavulanik asit, sulbaktam ve tazobaktam gibi beta laktamaz inhibitörlerine duyarlıdırlar.^{32,33}

GSBL'ler TEM-3'den TEM-27'ye, SHV-2'den SHV-7'ye kadar numaralandırılmıştır. Moleküler sınıf D'de ve beta laktamaz sınıflandırılmasında 2d grubunda yer alan OXA grubu enzimlerin tercih ettikleri substrat kloksasilindir. OXA-10 enzimi, OXA-1'den OXA-10'a kadar olan OXA enzimlerine oranla daha geniş spektrumlu bir enzimdir. Sefaperazona yüksek direnç oluşturmakta, eğer çok miktarda sentezlenirse aztreonam, sefotaksim ve seftriakson duyarlılıklarında azalmaya yol

açabilmektedir. Son yıllarda bu enzimlerin de genişlemiş spektrumlu mutantlarının çıktığı saptanmıştır. Aynı TEM ve SHV enzimlerinde olduğu gibi OXA enzimlerinin genlerinde oluşan mutasyonlar enzim molekülünde genellikle 1-4 amino asidin değişmesine, dolayısıyla farklı bir enzim molekülünün oluşmasına yol açar. Bu genişlemiş spektrumlu türevler (OXA-11,14-17) özellikle nozokomiyal enfeksiyon etkenlerinde saptanmaları nedeniyle giderek önem kazanmaktadır.

Ülkemizde yapılan bazı çalışmalarda GSBL enzimlerinin varlığı gösterilmiştir. 2f grubunda Enterobacteriaceae ve *Serratia marcescens*'in karbapenemleri hidrolize eden enzimleri bulunur. Bu mikroorganizmalar da son yıllarda hastane enfeksiyonlarında sık karşılaşılan etkenlerdir. Ayrıca *Enterobacter cloacae*, *Serratia marcescens*, *Proteus vulgaris* ve *Bacteroides fragilis*'de plazmid kontrolünde bulunan beta laktamazlar saptanmıştır.

GSBL'ler, mikrobiyolojik olarak oksiminio sefalosporinleri hidrolize edebilen, klavulanik asit tarafından inhibe olabilen enzimler olarak tanımlanmaktadır. Yapısal özellikler ve evölüsyon açısından GSBL'ler 9 farklı grup içinde sınıflandırılmaktadır. Bu gruplar TEM, SHV, CTX-M, PER, VEB, GES/IBC, TLA, BES ve OXA'dır. GSBL'lerin büyük çoğunluğu aktif bölgesinde bir serin molekülü içerir ve Ambler'in moleküler sınıflamasına göre A sınıfında yer alır. OXA grubu enzimler ise D moleküler sınıfında yer almaktadırlar. Beta laktamazların biyokimyasal özelliklerinin ön planda tutulduğu Bush-Jacoby-Medeiros sınıflamasına göre ise GSBL'ler 2be, 2e ve 2d alt gruplarına sokulmaktadır.

GSBL'ler oksiminio sefalosporinler ve aztreonamın yanı sıra birinci kuşak sefalosporinleri ve geniş spektrumlu olanlar dahil penisilinleri de hidrolize uğrattır. Ancak bu enzimlerin sefamisin grubu sefalosporinlere (sefoksitin ve sefotetan) karşı etkisi yoktur. Sefamisinlere etkili olmamaları, GSBL'leri AmpC tipi beta laktamazlardan ayıran önemli karakteristik özellikleridir. Ancak yine de istisnai durumların söz konusu olabileceği unutulmamalıdır. Örneğin TEM₅₂'nin moksalaktam ve sefotetanı hidrolize uğratabildiği gösterilmiştir. GSBL'lerin büyük çoğunluğu, özellikle de TEM ve SHV kökenli olanlar, plazmidler tarafından sentez edilmekle birlikte, kromozomlar aracılığıyla sentezlenen veya integron kökenli çok sayıda GSBL de mevcuttur. Günümüzde tüm beta laktamazlar içinde sayıları en hızla artan beta laktamaz gruplarının başında GSBL'ler gelmektedir.

Klavulanik asit, sulbaktam ve tazobaktam gibi beta laktamaz inhibitörleri, GSBL etkisini bloke edebilmekle birlikte, GSBL'lerin sıklıkla plazmidler üzerinde

kodlanmaları ve bu nedenle suşlar arasında kolaylıkla yayılmaları büyük sorun oluşturmaktadır. GSBL üreten klinik izolatları saptamak için çok sayıda metod önerilmektedir. GSBL taşıyan ajanlar ile oluşan enfeksiyonların yayılmasını önlemede ve tedavide en etkili ajan imipenem olarak görünmektedir.³⁴

5.2.1 Grup 2a

Bu alt grupta penisilini hidrolize eden, klavulanik asite duyarlı enzimler bulunmaktadır. *S. aureus*'un enzimleri bu gruptadır. Ayrıca *B.cereus*'un kromozomal beta-laktamazları, *Citrobacter amalonaticus*, *Eikenella corrodens* ve *Fusobacterium nucleatum*'da tanımlanan enzimler de bu gruptadır.³¹

5.2.2 Grup 2b

Hem penisilin hem sefalosporinleri hidrolize eden, klavulanik asit, sulbaktam ve tazobaktam gibi beta-laktamaz inhibitörlerine duyarlı beta-laktamazları içerirler.¹⁵ Plazmid kontrolündeki “geniş spektrumlu” TEM-1, TEM-2 ve SHV-1 enzimleri bu gruptadır. Bu enzimlere ampisilin, karbenisilin, tikarsilin, sefalotin gibi beta-laktam antibiyotiklere direnç oluşturmaları nedeniyle geniş spektrumlu denilmiştir. TEM-1, TEM-2 ve SHV-1 beta-laktamazları Enterobacteriaceae ailesinde yaygın olarak bulunur. Ayrıca OHİO-1 ve *H.influenzae*'da saptanan ROB-1 enzimini de içermektedir. TEM-1 beta-laktamazı özellikle *E.coli* suşlarında ampisilin ve amoksisilin direncine neden olan mekanizmalar arasında en sık görülenidir. Ayrıca TEM-1 enzimi, diğer *Enterobacteriaceae* üyelerinde olduğu gibi *Haemophilus*, *Vibrio* ve *Neisseria* gibi diğer cinslerde de bulunur. SHV-1 özellikle *K.pneumoniae* suşlarında bulunur.^{34,35}

5.2.3 Grup 2be

Oksiimino beta-laktamlar ve monobaktamlar gibi antibiyotiklerin yaygın kullanımını sonucunda TEM-1, TEM-2 ve SHV-1 gibi ana enzimlerden 1-4 aminoasit değişikliği ile genişlemiş spektrumlu beta-laktamlara (seftazidim, seftriakson, sefotaksim veya aztreonam) da etki eden yeni TEM-ve SHV-enzimleri gelişmiştir.³⁴ Bunlar grup 2be'de yer almakta ve ESBL (extended-spectrum beta-lactamase = genişlemiş spektrumlu beta-laktamazlar) olarak adlandırılmaktadır. Sefoksitin, sefotetan ve klavulanik asit gibi beta-laktamaz inhibitörlerine duyarlıdır. Özellikle *Klebsiella* ve *E.coli* suşlarında yaygındır. Bu grupta yer alan enzimlerden biri de PER-1 enzimidir. Bu enzim ilk kez Türkiye'de üretilen suşlarda saptanmıştır.^{36,37}

5.2.4 Grup 2br

Klavulanik asitten etkilenmeyen, geniş spektrumlu beta-laktamazlar bu gruba alınmıştır. TEM-30 dan TEM-36'ya kadar olan TEM enzimleri ve TRC-1 enzimi bu gruptadır.

5.2.5 Grup 2c

Bu grup içinde karbenisilini hidroliz eden, klavulanik asite duyarlı enzimler yer almaktadır. PSE-1, PSE-3, PSE-4 beta-laktamazları, *Aeromonas hydrophilia*'nın AER-1 enzimi, *M.catarrhalis*'in BRO-1 ve BRO-2 enzimleri, *V.cholerae*'nin SAR-1 enzimi de bu gruptadır.

5.2.6 Grup 2d

Bu grup, kloksasilini penisilinden daha hızlı hidroliz eden beta-laktamazları içermektedir. OXA enzimleri bu gruptadır. Bunlardan OXA-11 enzimi, Türkiye'de izole edilen bir suşta saptanmıştır.³⁸ Klavulanik asit ve sulbaktama dirençlidirler. Grup 2'nin diğer alt gruplarında bulunan tüm enzimler, moleküler sınıf A'da yer alırken, sadece bu alt grup moleküler sınıf D'de yer alır.

5.2.7 Grup 2e

Bu grupta yer alan beta-laktamazlar sefalosporinaz olmalarına karşın, grup 1'dekilerden farklı olarak klavulanik asitle inhibe olmaktadırlar. *B.fragilis*'in CepA enzimi, *B.uniformis* ve *B.vulgatus*'un kromozomal CblA ve CfxA, *E.coli*'den izole edilen FEC-1 ile *S.maltophilia*'nın L2 ve *Y.enterocolitica*'dan izole edilen Blal enzimleri bu grupta yer almaktadır.³¹

5.2.8 Grup 2f

Bu grupta, *E.cloacae*'nin indüklenebilen IMI-1 enzimi, *E.cloacae*'nin kromozomal NMC-A enzimi ve *S.marcescens*'in Sme-1 enzimi yer almaktadır. Karbapenemleri hidroliz etmekte, klavulanik asit ile inhibe olmaktadırlar.³¹

5.3 Grup 3 Beta Laktamazlar (Metallo Beta-Laktamazlar)

Metallo-beta-laktamazlar, Bush sınıflamasında fonksiyonel grup 3 veya Ambler sınıflamasında sınıf B'de yer alan ve diğer beta-laktamazlardan farklı olarak aktif bölgelerinde Zn⁺² iyonu bulunan enzimlerdir. Dolayısıyla bu enzimler klavulanat, tazobaktam, sulbaktam gibi klasik beta-laktamaz inhibitörlerinden etkilenmezken

EDTA gibi bir metal şelatörü ile inaktive olurlar. Bu enzimlerin en önemli özelliği monobaktamlar hariç tüm beta-laktamları ve bu arada karbapenemleri de hidroliz edebilmeleridir.⁹

1960'ların ortalarında ciddiye alınmayan klinik patojenlerden biri olan *B.cereus*'ta çinko bağımlı ilk MBL tanımlanmış, ikinci çinko bağımlı penisilinaz ise 1980'lerin başında *S.maltophilia*'da gösterilmiştir. Kısa süre sonra imipenem hidrolizi yapan MBL'lar *A.hydrophilia* ve *B.fragilis*'ten tanımlanmıştır. Önceleri bu grupta sadece kromozomal enzimlerin varlığı bilinirken, 1991'de Japonya'da *S.marcescens* ve *P.aeuriginosa* suşlarında plazmid kökenli bir MBL'in (IMP-1) saptanması, karbapenemlerin geleceği konusunda endişe doğurmuştur. Nitekim geçen süre içinde integron kökenli IMP (IMP-1-18) ve VIM (VIM-1-13) ailesi üyeleri Avrupa ülkelerinde de giderek artan oranlarda bildirilmeye başlanmıştır.

Aralarında küçük yapısal benzerlikler bulunan 2 majör enzim grubu tanımlanmıştır: Birinci grupta; geniş substrat özgüllüğü gösteren, monobaktamlar dışındaki tüm beta-laktamları hidroliz eden enzimler bulunur. İkinci grup; "gerçek karbapenemaz"lardan oluşur. Primer olarak *Aeromonas* türlerinde bulunan bu grup enzimler penisilin ve sefalosporinlere zayıf hidrolitik etki gösterir. Şimdiye dek, karbapenem dirençli suşların yalnızca küçük bir kısmında MBL varlığı saptanmıştır. Muhtemelen bu durumun sebebi, karbapenem direncinin, permeabilite değişiklikleri ve kromozomal sefalosporinazların üretiminde artış gibi daha kolay yollarla kazanılabilmesidir. Ancak Japonya'da MBL'ların plazmidler üzerinde gösterilmesi önemli bir sorunu ortaya çıkarmıştır. Plazmid aracılı karbapenem direncinin artışı sürdürüleceği ve belki de bu ajanların kullanımını sınırlayabileceği tahmin edilmektedir.³⁹

MBL'lar sıklıkla etki spektrumlarını genişletecek bir diğer enzimle birlikte üretilirler. Örneğin, alt grup 3b genellikle grup 2b'deki penisilinazlarla birlikte *S.maltophilia*'da ise L1 ile birlikte GSBL niteliği taşıyan L2 üretilmektedir. Böylelikle *S.maltophilia* suşları normalde MBL'ların etki etmediği aztreonama da direnç göstermektedir.

MBL'lar aktif bölgelerinde bir Zn^{+2} iyonu taşıdıklarından tanımlanmalarında bu çinko iyonuna bağlanarak enzimi inaktive eden EDTA, 2-merkaptopropionik asit (MPA) gibi bileşikler kullanılmaktadır.⁴⁰ Hastane salgınları açısından önemli bakteri türlerinde buldukları için tanımlanmaları enfeksiyon kontrolü açısından önemlidir.

MBL'ların en önemli özelliği karbapenemleri hidroliz edebilme yetenekleri olmasına karşın bazıları aynı zamanda çoğu beta-laktam grubunu da hidroliz edebilecek

kapasitededir. Dolayısıyla, MBL üreten organizmalar söz konusu olduğunda beta-laktam antibiyotiklerin kullanılabilirliği ciddi olarak sınırlanmış durumdadır.³⁹

5.3.1 MBL'ların sınıflandırılması

1995'te MBL'lar hep birlikte Bush ve arkadaşları tarafından “fonksiyonel grup 3” içinde sınıflandırılmıştır. Bu enzimlerin majör ayırt edici özellikleri metal iyon şelatörleri tarafından inhibe edilmesi ve klavulanik asit, sulbaktam, tazobaktam gibi ticari olarak elde edilebilen inhibitörlerden etkilenmemeleridir. İlk sınıflandırmanın yapıldığı sıralarda (1995'te) substrat profillerine göre bu enzimlerin subgruplara ayrılması söz konusu olmamıştır. Ancak ilerleyen yıllarda literatürde tanımlanan MBL sayısı arttıkça enzimlerin substrat özelliklerine göre alt gruplara ayrılması gerektiği ortaya çıkmıştır. Rasmussen ve Bush tarafından 3 fonksiyonel grup MBL tanımlanmıştır.³⁹

5.3.1.1 Grup 3a

Bu enzimler, genellikle penisilinleri imipenemden daha hızlı (en az %60) olarak hidrolize edebilirler. Sefalosporinler de, imipenem kadar olmasa da bu enzimler tarafından güçlü bir şekilde hidrolize edilir. Bu enzimler maksimum aktivite için çinko eklenmesini gerektirirler veya bu +2 değerlikli katyon tarafından aktive olurlar. Bu da çinko için düşük bağlanma affinitesi anlamına gelir.⁴¹ Bu grup içerisinde *B.cereus* II, *B.fragilis*'in CcrA, *B.cepacia*'nın PCM-1, *S. maltophilia*'nın L1, *Chryseobacterium indologenes*'in IND-1-4, *C. meningosepticum*'un BlaB enzimleri yanı sıra *S.marcescens*, *P.aeruginosa*, *A.baumannii*, *S.flexneri*, *K.pneumoniae* gibi değişik türlerde saptanan IMP-1-18 ve VIM-1-13 enzimleri yer almaktadır.³⁹

Subgrup 3a enzimleri çok geniş aralıkta çok çeşitli substratları tanıyabilir. Bu da onların çok çeşitli beta-laktam içeren ajanlara karşı tehdit oluşturmasına neden olur. Bu enzimlerin tümü penisilinleri hidroliz eder. Sefalosporinler genellikle imipenemden daha yavaş hidrolize olurlar.⁴¹ Katalitik çinko ilavesine ek olarak grup 3a enzimleri, maximum katalitik aktivite için suplemental iki değerlikli çinkoya ihtiyaç duyar.

5.3.1.2 Grup 3b

Aeromonas türlerinin metallo enzimlerini kapsar ve bunlara “gerçek karbapenemazlar” da denir. Bu enzimlerin karbapenemlere yüksek özgülüğü bulunmaktadır. Karbapenemler dışındaki beta-laktamlara etkileri çok az olduğundan varlıkları nitrosetin hidrolizine dayanan testlerle gösterilemez. Bu enzimleri grup 3a

MBL'larından ayıran bir diğer özellik, çinko ilavesinin aktif enzim üzerindeki etkisidir. Tüm MBL'ların aktif bölgelerinde çinko bulunduğu ve enzimin katalitik aktivitesi için bu katyonun mutlaka ortamda bulunması gerektiği kabul edilmektedir. Bununla birlikte, grup 3b enzimlerinden en az 3 tanesi düşük çinko konsantrasyonları ile inhibe olur.³⁹ *Aeromonas* spp. enzimlerinin nitrocefini çok zayıf hidrolize etmesi nedeniyle bu karbapenemazlar yakın geçmişe kadar tanınmamıştır, varlıkları izoelektrik odaklama jellerinde tespit edilememiştir. Bu subgrubu tespit edebilmek için jel içinde karbapenem substrat olarak kullanılmalıdır. Grup 3b'deki bütün enzimler EDTA ile inhibe olur. Bu da aktif bölge metal iyonunun şelasyonunu gösterir. EDTA eklenmesinden sonra çinko eklemenin enzimlerin çoğunun aktivitesini geri kazandırdığı gösterilmiştir. Grup 3b enzimleri için imipenem açısından yüksek katalitik etkinlik bildirilmiş, fakat benzil penisilin veya sefaloridin için düşük veya zayıf hidroliz gözlenmiştir.⁴¹

5.3.1.3 Grup 3c

Bu grupta sadece *Legionella gormanii*'nin MBL'ı yer almaktadır. Bu enzim literatürde bir kez tanımlanmıştır. Yüksek sefalosporinaz aktivitesi ile diğer alt gruplardan ayrılmaktadır. Diğer grup 3 enzimlerinden farklı biyokimyasal özellikler taşımaktadır.³⁹ Bu enzim, geniş spektrumlu sefalosporinler ve sefamisinler de dahil sefalosporinleri çok yüksek oranda hidroliz etmesiyle ayrılır. İleri değerlendirmeler sonucunda bu enzimin grup 3a enzimiyle yakın ilişkili olabileceği gösterilebilir.⁴¹

Subgrup 3a enzim üreten organizmaların çoğu beta-laktam antibiyotiklerle olan saldırıya karşı koyabilmesine rağmen grup 3b enzimleri sadece karbapenemler değil daha geniş substrat profiline sahip beta-laktamazlarla birlikte üretilmeye gerek duyarlar.⁴²

5.3.2 MBL'ların Epidemiyolojisi

İmipenem dirençli suşların epidemiyolojisi son yıllarda başta Japonya olmak üzere daha yakından izlenmektedir. Çünkü Japonya plazmid aracılı MBL bildirimini yaptırdığı esas ülke konumundadır. 4 yıllık bir izlem periyodu içerisinde *Bacteriodes* spp'de imipenem dirençli suşların oranında küçük değişimler görülmüştür. Transfer edilebilir MBL, *B.fragilis*'te, bu izlem periyodunun ortasında saptanmış ve bildirilmiştir. *S.marcescens* suşlarına yönelik yapılan bir çalışmada suşların %4'ünden azında MBL üretimine bağlı karbapenem direnci saptanmıştır. Japonya'da yapılan iki çalışmada *P.aeruginosa*'da imipenem dirençli suşların çok az bir kısmında plazmid aracılı MBL

spesifik probu ile reaksiyon veren bir genin üretildiği saptanmıştır. Asıl not edilmesi gereken şudur ki; *P.aeruginosa* suşlarının %18'inde MBL üretimi dışında imipenem direnci saptanmıştır.³⁹

5.4 Grup 4 Beta Laktamazlar

Klavulanik asit ile pek de iyi inhibe edilmeyen küçük bir penisilinazlar grubundan oluşur. Biri dışında hepsi kromozomlarla kodlanırlar. Bu grup beta laktamazların yapıları henüz tam olarak saptanamamıştır. Bu gruba örnek olarak *Pseudomonas cepacia*'daki beta laktamazlar verilebilir.²⁶

Hastane enfeksiyonlarında en sık sorun olarak karşılaşılan enzimler, Grup 1'deki kromozomal beta-laktamazlar, Grup 2'deki GSBL enzimler ve Grup 3'deki MBL enzimleridir.

6. KARBAPENEMLERE DİRENÇ MEKANİZMALARI

Karbapenemlere karşı bilinen 3 etki mekanizması ile direnç gelişebilmektedir:

6.1 İlacın Hücre İçinde Etkin Konsantrasyona Ulaşamaması

6.1.1 Porin Değişimleri

Bu, özellikle *P.aeruginosa* suşlarındaki temel direnç mekanizmasıdır. *P.aeruginosa* suşlarında karbapenemler için özel bir porin olan OprD'nin kaybı bu grup antibiyotiklere direnç gelişmesine neden olmaktadır. OprD kaybı özellikle imipenem tedavisi sırasında gelişmektedir. Bir haftalık imipenem tedavisi sonunda *P.aeruginosa* suşlarının %50'sinde *oprD* geninde mutasyonlar olduğu saptanmıştır.⁴³ OprD'nin kaybı tipik olarak imipenem direncine ve azalmış meropenem duyarlılığına sebep olur. Fakat OprD kanallarını kullanamayan diğer beta-laktamlar üzerine etkisi yoktur. *P.aeruginosa*'daki duyarsızlık, ayrıca çoklu ilaç eflüks pompası (MexA-MexB-OprM)'nin mutasyonel sayı artışına bağlı olarak ortaya çıkarılabilir. Bu mekanizma meropenem, penisilin, sefalosporin, kinolon, tetrasiklin ve kloramfenikol için geçerli fakat imipenem için geçersizdir.⁴¹ *P.aeruginosa*'da Opr kaybı ile oluşan imipenem direnci sadece kromozomal AmpC beta-laktamazi korunduğunda ve tanımlandığında fonksiyon görür. Porin kaybıyla ve kromozomal AmpC beta-laktamazlarının aşırı üretimi ile oluşan imipenem direnci *Enterobacter spp.*'de tanımlanmıştır.⁴⁴ *K.pneumonia*'da ise porin kaybına bağlı ve plazmid aracılıklı AmpC beta-laktamazın

(ACT-1) varlığıyla direnç oluşur.⁴⁵ *Klebsiella* spp.'de porin kaybıyla birlikte SHV GSBL'leri ile ilişkili karbapenem direncine ait birkaç rapor da bildirilmiştir.⁴¹

6.1.2 Aktif Pompa Sistemlerinin İndüklenmesi

Aktif pompa (efflux) mekanizmaları *P.aeruginosa*'da tipiktir. Regülatör genlerde mutasyon, üç sistemin ileri derecede ekspresyonuna yol açar ve antipsödomonal beta-laktamlara düşük düzeyde direnç gelişir. Bu olay genellikle florokinolonlara, tetrasiklinlere ve kloramfenikole çapraz dirençten de sorumludur.²⁷

6.2 Karbapenemleri Hidroliz Eden Enzimlerin Varlığı

Karbapenemazlar, en geniş spektrumlu antibakteriyel etkinliğe sahip betalaktam sınıfı olan karbapenemlerden birini, en azından imipenem veya meropenemden birini, belirgin olarak hidrolize eden beta-laktamazlar olarak tanımlanabilir. Bu enzimlerin çoğu yalnız karbapenemlere değil diğer beta-laktam ajanlara da etkilidirler. Bu nedenle sadece karbapenem grubu beta-laktam ajanlara afinitesi diğer beta-laktamlara kıyasla daha fazla olan metalloenzimler “karbapenemaz” olarak adlandırılmaktadır.⁴⁶

6.2.1 İntrinsik (kromozomal) Karbapenemazlar

Bu grupta, *B.cereus* II, *B.fragilis*'in CcrA, *B.cepacia*'nın PCM-1, *S.maltophilia*'nın L1, *C.indologenes*'in IND-1-4, *C.meningosepticum*'un BlaB enzimleri sayılabilir. Bunların tümü Bush sınıflandırmasında grup 3'te yer alan MBL'lardır. Karbapenem hidrolize eden betalaktamaz genlerinin çoğu kromozomal olarak kodlanır. Bu durum bu enzimlerin yavaş yayılımını ve böylece karbapenemlere karşı beta-laktamaz aracılıklı direncin artmasının yavaş olmasını sağlamıştır. Yine de direnç paternleri değişebilir. Birçok yıldır nadir olarak bilinen enzimler beta-laktam kemoterapinin kullanımına gerçek ve artan oranda tehdit oluşturabilir. Düşük düzey direncin ne kadar beta-laktamaz aracılıklı olduğu bilinmemektedir. Fakat yüksek düzey direnç beta-laktamaz ile ilgilidir.⁴⁷

6.2.2 Ekstrinsik (kazanılmış) Karbapenemazlar

Sınıf A (Bush grup 2f)'da yer alan karbapenem hidroliz eden enzimler: *E.cloacae*'nin IMI-1, ve NMC-A enzimleri, *S.marcescens*'in Sme-1 ve 2 enzimleri ve *Kpneumonia*'nın KPC-1 enzimi bu grupta yer almaktadır. Bunlar, imipenem, meropenem, penisilinler, geniş spektrumlu sefalosporinler ve aztreonama direnç

gelişmesine neden olan ve tazobaktam başta olmak üzere beta-laktamaz inhibitörlerine duyarlı olan enzimlerdir. A sınıfındaki karbapenemazlar serin-betalaktamazlardır, klavulanik asit ile inhibe olurlar ve enderdirler. *E.cloacae* ve *S.marcescens*'teki enzimler (NMC-A, Sme-1, Sme-3, IMI-1) kromozomal, *K.pneumoniae*'daki KPC-1 ve *P.aeruginosa*'daki GES-2 plazmidiktir. KPC-1, karbapenemlere, 3. kuşak sefalosporinlere ve aztreonama direnç oluşturan, klavulanik asit ve tazobaktam ile inhibe olan bir enzimdir. Plazmidik oluşu ve Enterobacteriaceae içinde bulunmuş olması bu enzime ayrı bir önem kazandırmıştır. GES-2 (*P.aeruginosa*'daki) klavulanik asit ile inhibe olan, genişlemiş spektrumlu beta-laktamaz olan GES-1'in nokta mutantıdır.⁹

Sınıf B metalloenzimler: IMP-1-18, VIM-1-13, SPM-1, GIM-1. MBL geni transpoze edilebilir (aktarılabılır) bir eleman olan plazmid üzerinde yer alır. *K.pneumoniae*, çoğu geniş spektrumlu serin beta-laktamazın orijinal suşu olmasına rağmen MBL'ların Enterobacteriaceae ailesinin diğer üyeleri arasında yayılımına katkısı olduğu görülmektedir.

IMP tipi beta-laktamazlar: 1991'de Watanabe ve arkadaşları, Japonya'da 1988'de saklanan bir *P.aeruginosa* suşunda transfer edilebilir sınıf B enzimi bildirmişlerdir.⁶ Bu, büyük olasılıkla Japonya'da 1991'de bir *S.marcescens* izolatında sekanslanan ve isimlendirilen IMP-1'dir.⁴⁸ Daha sonra farklı coğrafik bölgelerden bugün IMP-18'lere kadar varan yeni IMP tipi enzimler tanımlanmıştır. Bu IMP tipi enzimlerin tümü monobaktamlar dışındaki beta-laktamlara karşı geniş etkinliğe sahiptir. IMP-1, ampisiline göre karbenisiline daha etkilidir. IMP-2 ve IMP-3 ise her iki ilaca da benzer etkinliğe sahiptir.^{41,49} Bu enzimler meropenem ve imipeneme eşit düzeyde yüksek direnç oluşturmaktadırlar. EDTA ile inhibe olup klavulonatla olmamaktadırlar. Monobaktamları hidroliz edememektedirler.^{9,50}

VIM tipi beta-laktamazlar: Kazanılmış sınıf B beta-laktamazların ikinci ailesi olan VIM tipleri ilk kez 1997'de İtalya'dan bir *P.aeruginosa* izolatında VIM-1 olarak tanımlanmış ve 1999'da bildirilmiştir.⁵¹ Bugün sayıları artarak bildirilen enzimler VIM-13'e kadar gelmiştir.

Sınıf C beta-laktamazlar: Kromozomal AmpC enzimlerinin aşırı üretiminin özellikle dış membran porin değişimleri ile birleştiğinde karbapenem direncine yol açması büyük olasılıkla en yaygın karbapenem direnç mekanizmasıdır. Bu durum *E.cloacae*, *E.aerogenes*, *K.pneumoniae*, *P.rettgeri*, *C.freundii*, *E.coli*, *P.aeruginosa* gibi birçok türde gösterilmiştir. İmipeneme yüksek düzey direnç gösteren dereprese bir

E.aerogenes mutantında hücre genomuna *ampD* geni sokulduğunda imipenem MIK değerlerinin normale dönmesi AmpC tipi enzimlerinin karbapenemlere dirençteki önemini vurgulamaktadır.

Sınıf D oksasilinazlar: En sık karşılaşılan temsilcileri OXA-1, -2, -10 (PSE-2)'dur. Tümünün karbapenemaz etkinliği yoktur. OXA-23, OXA-24, OXA-25, OXA-26, OXA-27 enzimleri karbapenemaz etkinliğine sahiptir. Bunlar karbapenemleri çok güçlü olmayan bir şekilde hidrolize ederler, 3. kuşak sefalosporinlere ve aztreonama etkileri yoktur. OXA-23 dışında klavulanik asitle inhibe olurlar. Karbapenemaz niteliği içeren bu enzimlerin tümü *A.boumannonii*'de bulunmuş, İskoçya, Singapur, İspanya ve Belçika'dan bildirilmiştir.⁹

6.3 Hedef PBP Değişimleri

N.gonorrhoeae, *N.meningitidis*, *H.influenzae* ve *S.pneumoniae*'de gözlenen penisilin direnci ve metisiline dirençli *S.aureus*'da gözlenen direnç PBP'lerdeki değişiklikler ile oluşmaktadır. Bu tür direnç gram negatif bakterilerde tek başına nadir görülür ancak diğer mekanizmalar ile birlikte.²⁷

7. BETA-LAKTAMAZ SAPTAMA YÖNTEMLERİ

Beta-laktamaz üretimini saptamak için rutinde kullanılan testler çizelge 7.1'de verilmiştir.

Çizelge 7.1 Beta-Laktamaz Testleri

Direkt Testler	İndirekt Testler
İyodometrik Yöntem	İBL Testi
Asidometrik Yöntem	GSBL Testi
Kromojenik Yöntem	MBL Testi

Çizelge 7.1'de verilen Direkt Test'lerden iyodometrik ve asidometrik yöntemlerde esas, testte kullanılan penisilinin Beta-laktam halkasının bakteri Beta-laktamazı ile parçalanması sonucu açığa çıkan penisiloik asidin bir indikatör aracılığıyla saptanmasıdır. Bu yöntemlerde yanlış pozitif ve negatif sonuçların çokluğu kullanımlarını kısıtlamaktadır. Kromojenik yöntem ise, daha duyarlı, daha özgül, daha hızlı ve daha kolaydır.

Çizelge 7.2 Direkt Beta-Laktamaz Testleri

İyodometrik Yöntem	
Substrat:	fosfat tamponlu penisilin
İndikatör:	nişasta+iyot kompleksi
Test Sonucu:	bakteri Beta-laktamazı penisilinin beta-laktam halkasını hidrolizleyince ortama geçen penisiloik asit iyotu indirger ve nişasta ile birleşmesini önler. Negatif sonuç=mor, pozitif sonuç=renk kaybı
Asidometrik Yöntem	
Substrat:	sitrat tamponlu penisilin
İndikatör:	fenol kırmızısı
Test Sonucu:	bakteri Beta-laktamazı penisilinin beta-laktam halkasını hidrolizleyince ortama geçen penisiloik asit pH'ı asite kaydırır. Negatif sonuç=kırmızı, pozitif sonuç=sarı
Kromojenik Yöntem	- Nitrosefin - PADAC - S ₁ (cefesone)

Bugün çoğu rutin laboratuvar, direkt beta-laktamaz testlerini yalnız *Haemophilus influenzae*, *Neisseria gonorrhoeae* ve *Moraxella catarrhalis* için kullanmaktadır. Gram negatif çomaklarda beta-laktamaz varlığının saptanmasına gerek yoktur, çünkü bu bakterilerde zaten beta-laktamaz üretilmektedir. Klinisyenin tedavi şemasına katkı açısından değeri olabilecek veriler ancak gram negatif çomaklarda var olduğunu bildiğimiz beta-laktamazlar yapısal mı, indüklenebilir mi, genişlemiş spektrumlu mu, MBL mi, değil mi gibi soruları yanıtlamakla elde edilebilir. Bu yanıtları bulmak için ise indirekt beta-laktamaz testleri yapılır.⁵²

7.1 İndirekt Beta-Laktamaz Testleri

7.1.1 İBL Saptanması

Bir Beta-laktam antibiyotikle karşılaştığında kromozomal yolla ürettiği Beta-laktamaz miktarını birdenbire çok yüksek düzeye çıkartabilen, antibiyotik etkisi üzerinden kalktığında ise beta-laktamaz üretimini minimale indiren bir grup gram negatif çomak için yapılır.

İBL testi disk dizilimindeki düzenlemeyle doğrudan antibiyograma entegre edilebilir. Antibiyogramda sefoksitin veya imipenem gibi güçlü bir beta-laktamaz indükleyicisinin yanına, merkezden merkeze 1.5-2 cm uzaklıkta aztreonam veya III. Kuşak sefalosporin (özellikle sefotaksim ya da sefuroksim gibi zayıf bir indükleyici) diski yerleştirildiğinde, zayıf olanın inhibisyon zonu güçlü indükleyici tarafından

kesintiye uğratılmışsa, İBL varlığı gösterilmiş olur. Pozitif testte zayıf indükleyici etrafındaki zonun güçlü indükleyici tarafındaki yarıçapının, karşı taraf yarıçapa göre en az 4 mm küçülmüş olması beklenir.⁵³

7.1.2 GSBL Saptanması

GSBL saptanmasında çizelge 7.3'de belirtildiği üzere CLSI'ya göre disk difüzyon ya da dilüsyon yöntemleriyle bir ön tarama olarak rutin antibiyogramlarda seftazidim, sefotaksim, seftriakson sefpodoksim ve/veya aztreonam direnci ve sefoksitin duyarlılığı aranmalıdır. Çünkü bu patern GSBL için bir gösterge niteliğindedir. 2. aşama olarak GSBL'lerin klavulanik asitle inhibe olma özelliğinden yararlanır. Bu özelliği GSBL saptanmasında kullanmak üzere farklı yöntemler denenebilir.⁵²

Çizelge 7.3 GSBL Testleri (E.coli ve Klebsiella spp. için)

Ön tarama olarak;

seftazidim ≤ 22 ,

sefotaksim ≤ 27 ,

seftriakson ≤ 25 ,

sefpodoksim ≤ 17 ,

aztreonam ≤ 27 direnci;

İBL'ı olanlar dışında sefoksitin ≥ 18 duyarlılığı gösterge olarak alınmalı

Klavulanik asitle inhibisyon özelliğine dayanan testlerden birisi yapılmalı

- çift disk sinerji testi
 - kombine disk yöntemi
 - klavulanik asit kombinasyonlu MİK deneyi
 - E test
 - Otomatize Vitek Sistemi
-

Üç boyutlu test

Klinik mikrobiyoloji testleri genellikle klavulanat olmak üzere bir beta laktamaz inhibitörünü ve seftazidim veya sefotaksim gibi bir oksimino-sefalosporin kombinasyonunu kullanır. Bu testlerde klavulanat GSBL'yi inhibe eder ve sefalosporin dirençliliğinin düzeyini azaltır. Bu testlerden bazıları Kirby-Bauer disk difüzyon test yöntemi esasına dayandırılmıştır. Tanımlanan ilk tayin testi çift disk sinerji

yöntemidir.⁵⁴ Bu testte mikroorganizma Müeller-Hinton agar plaklarına eküvyon ile yayılır. Amoksisilin-klavulanat içeren duyarlılık diski plağın merkezine konur. Oksiimino beta-laktam antibiyotiklerden birini içeren diskler amoksisilin-klavulanat içeren diskten 3'er cm uzağa yerleştirilir. Oksiimino beta-laktam diskinin çevresinde oluşan inhibisyon zonunda, amoksisilin-klavulanat diskindeki klavulanatın sinerjisi nedeniyle olan artış pozitif sonuç olarak kabul edilir.

Benzer bir test Jacoby ve Han tarafından tanımlanmıştır. Herhangi bir oksiimino beta-laktam antibiyotik içeren duyarlılık disklerine 20 µg sulbaktam eklenmiştir. Sulbaktam içeren disklerin inhibisyon zonunda tek başına ilaç içeren disklerle göre 5 mm'lik artış pozitif olarak kabul edilmiştir.

Günümüzde CLSI başlangıç taraması olarak 1 µg/ml konsantrasyonda 5 adet geniş spektrumlu beta laktam antibiyotiklerin birini içeren sıvı besiyerindeki üreme testini önermektedir. Pozitif sonuç GSBL varlığı için şüpheyi ortaya koyar.

Birkaç ticari firma klinik laboratuvarında mevcut olan minimum inhibitör konsantrasyonu (MİK) test yöntemleri ile birlikte kullanılabilir GSBL saptama testlerini geliştirmişlerdir. E-Test GSBL şeritleri (AB Biodisk, Sonla, İsveç) bir tarafında seftazidim ve diğer tarafında seftazidim+klavulanat içeren iki taraflı şeritlerdir. GSBL için pozitif test klavulanik asit varlığında seftazidim MİK değerinde 3 dilüsyondan fazla azalma ile ortaya konur.

Kombine Disk Yönteminde, sefotaksim ve seftazidim diskleri ile bu disklerle 10µg klavulanik asit eklenmesiyle oluşan diskler Müeller-Hinton agara ekilir. Bir gece inkübasyondan sonra diskler etrafındaki inhibisyon zon çapları karşılaştırılır. Kombinasyon diskleri etrafındaki zon, klavulanik asit içermeyen disk etrafındaki zona kıyasla ≥ 5 mm daha geniş ise izolat GSBL üretimi açısından pozitif kabul edilir.

Otomatize mikrobiyal duyarlılık test sistemi olan Vitek (Biomerieux) seftazidim veya sefotaksim tek başına ve klavulanik asit ile birlikte kombinasyonu yöntemine dayanarak GSBL testi üretmiştir. Klavulanat içeren kuyucuklar, tek başına ilaç içeren kuyucuklarla karşılaştırıldığında önceden tahmin edilen üremedeki azalma miktarı GSBL varlığını göstermektedir.

GSBL tayini için öne sürülen bir diğer yöntem Thomson ve Sanders tarafından tanımlanan üç boyutlu testtir. Bu testte Mueller-Hinton agar plağının yüzeyine mikroorganizmanın inokülasyonunu takiben bir yarık açılır. Bu yarığın içine mikroorganizmanın sıvı besiyerindeki süspansiyonundan konulur. Bunu takiben antibiyotik diskleri bu yarıktan 3 mm uzaklıklara yerleştirilir. Beklenen dairesel

inhibisyon zonlarında yapısal bozukluk veya devamlılığın olmaması pozitif test olarak kabul edilir.

Bütün bu testlerin her biri değerli olmakla birlikte beta laktamaz fenotipine dayalı hiçbir test gram negatif bakterilerin klinik izolatlarında GSBL tayini için %100 özgül ve duyarlı değildir. Bir enzim ailesine ait beta-laktamazların varlığını tayin etmek için kullanılan en kolay ve yaygın moleküler yöntem beta-laktamaz genine özgül oligonükleotid primerlerinin kullanıldığı 'polimeraz zincir reaksiyonu' (PCR) dur.^{5,55}

7.1.3 MBL Saptanması

CLSI tarafından MBL üreten mikroorganizmaların saptanması için bir yönerge bulunmamaktadır. Bu tür bakterileri saptamak için birkaç fenotipik yöntem vardır. Bu yöntemler EDTA, thiol temelli bileşiklerin MBL aktivitelerini inhibe etme yeteneğine dayanmaktadır.

Bu testlerden EDTA'lı imipenem veya seftazidimli çift disk sinerji testi, seftazidim veya imipenemli 2-mercapto-propionik asit, EDTA'lı seftazidim veya imipenem kombinasyonlu disk testi, MBL E testidir. PCR ile saptama yöntemi de kullanılmıştır.⁵⁶

Günümüzde MBL'lerin saptanması için tanımlanan fenotipik yöntemler çift disk sinerji ve Hodge testi zor ve yorumlanması subjektiftir. Bu yöntemler teknik açıdan zaman alıcıdır. 2-mercaptopropionik asit toksiktir ve çalışma için özel önlemler gerekir. Rutinde bu yöntemlerin kullanımı uygun değildir.⁴⁰

MBL üretimini saptamak için oldukça duyarlı basit bir fenotipik yöntem bildirilmiştir. Bu yöntem EDTA'lı imipenem kombine diskleri ile yapılmıştır. Duyarlılığı %100 olarak bulunmuştur.⁵

MBL inhibitörü olarak tanımlanan CuCl₂, FeCl₂, EDTA, Thiol Bileşikleri (mercaptoasetik asit, 2-mercaptopropionic acid, mercaptoethanol) IMP-1 inhibisyonu için kullanılıp, değerlendirilmiştir. Bu ajanların MBL'yi bloke ettiği raporlanmıştır.⁵⁷

7.1.3.1 Çift Disk Sinerji Yöntemi

Çift disk sinerji yönteminde; bakterilerin 0.5 McFarland'a göre bulanıklığı ayarlanarak, serum fizyolojikle 1/10 oranında sulandırılmaları yapılır ve IsoSensitest agar yüzeyine ekilir. Zaman geçirmeden imipenem diski ve 0.1 M (292µg) EDTA çözeltisinden 10µL emdirilmiş boş disk merkezden merkeze 20 mm uzaklık olacak şekilde yerleştirilir.

Plaklar bir gece 35 °C'de inkübasyona bırakıldıktan sonra inhibisyon zon çapları ölçülerek kaydedilir. İki disk arasındaki alanda inhibisyon zonunun varlığı MBL üretiminin pozitif olduğunu göstermektedir.^{5,57}

7.1.3.2 Modifiye Hodge Testi

Suşların McFarland 0.5 1/10 bulanıklığındaki süspansiyonu hazırlanarak Mueller-Hinton agar plağının yüzeyine disk difüzyon yönteminde olduğu gibi ekilir. Plağın merkezine imipenem diski (10 µg) yerleştirilir. Test suşları, bu diskin dört bir kenarından periferine doğru çizgi ekimi şeklinde öze ile ekilir. 35 °C'de 16-18 saatlik inkübasyondan sonra diskin etrafındaki inhibisyon zonunda çarpıklık veya yonca görünümü pozitif olarak kabul edilir.⁴⁰

7.1.3.3 Kombine Disk Yöntemi

Bakterilerin 0.5 McFarland'a göre bulanıklığı ayarlanarak, serum fizyolojikle 1/10 oranında sulandırılmaları yapıldıktan sonra eküvyonla IsoSensitest agar yüzeyine ekilir.

Ekim yapılmış Isosensitest agara zaman geçirmeden imipenem ve 10 µL 0.1 M'lık EDTA çözeltisi eklenmiş imipenem diskleri merkezlerinden itibaren 25 mm uzaklık olacak şekilde yerleştirilir. Plaklar bir gece 35 °C'de inkübasyona bırakıldıktan sonra inhibisyon zon çapları ölçülerek kaydedilir. Sonuçlar her suş için EDTA'lı imipenem ve imipenem diskleri çevresindeki inhibisyon zon çapları arasında 4 mm fark olup olmaması yönünden değerlendirilir.⁵

Antibiyoqram okuyarak ve fenotip değerlendirerek karbapenemazların varlığı konusunda tahmin yürütmek mümkün değildir denebilir. B sınıfı MBL'ların EDTA ile inhibisyon esasına dayalı Etest MBL stripleriyle pozitif bulunan suşlarda MBL PCR'ları paralel sonuç vermemektedir Bu durumda bu grup enzimlerin moleküler yöntem dışındaki tespit yöntemleri ile tanımlanması güç olabilmektedir.

8. GEREÇ VE YÖNTEM

8.1 Kullanılan Araç ve Gereçler

Etüv

Otoklav

Derin Dondurucu

Buzdolabı

Turbidimetre

Hassas Terazî

pH Metre

Mikropipet (Gilson)

Steril Petri kapları (60X15 mm ve 150X25 mm boyutlarında)

Steril eküvyon çubuklar

8.2 Kullanılan Besiyerleri

8.2.1 Kanlı Agar (Mast, UK)

Hazırlanışı: Balonjoje içine 37.5 g besiyerinden tartılarak konuldu. Üzerine 1L distile su eklendi. Çözünmesi sağlandıktan sonra otoklavda 121 °C'da 15 dk steril edildi. Besiyeri 50⁰C'ye soğutulduktan sonra %5 oranında defibrine kan eklendi ve 60X15 mm'lik plaklara döküldü.

8.2.2 EMB Besiyeri (Acumedia, USA)

Hazırlanışı: Balonjoje içine 37.5 g besiyerinden tartılarak konuldu. Üzerine 1L distile su eklendi. Çözünmesi sağlandıktan sonra otoklavda 121 °C'da 15 dk steril edildi. 60X15 mm'lik plaklara döküldü.

8.2.3 Mueller-Hinton Besiyeri (Acumedia, USA)

Hazırlanışı: Balonjoje içine 38 g besiyerinden tartılarak konuldu. Üzerine 1L distile su eklendi. Çözünmesi sağlandıktan sonra otoklavda 121 °C'da 15 dk steril edildi. 150X25 mm'lik plaklara besiyerinin kalınlığı 4 mm olacak şekilde döküldü.

8.2.4 Iso-Sensitest Agar (Oxoid, UK)

Hazırlanışı: Balonjoje içine 31.4 g besiyerinden tartılarak konuldu. Üzerine 1L distile su eklendi. Çözünmesi sağlandıktan sonra otoklavda 121 °C’da 15 dk steril edildi. 60X15 mm’lik plaklara döküldü.

8.3 Kullanılan Antibiyotik Diskleri (Oxoid, UK)

İmipenem (10 µg)
Meropenem (10 µg)
Ampisilin (10 µg)
Piperasilin (100 µg)
Tikarsilin (75 µg)
Amoksisilin/klavulanik asit (20/10 µg)
Piperasilin /Tazobaktam (100/10 µg)
Tikarsilin/Klavulanik asit (75/10 µg)
Sefazolin (30 µg)
Sefalotin (30 µg)
Sefepim (30 µg)
Sefoperazon (75 µg)
Sefoksitin (30 µg)
Sefamandol (30 µg)
Seftazidm (30 µg)
Sefotaksim (30 µg)
Ertapenem (10 µg)
Aztreonam (30 µg)
Gentamisin (10 µg)
Amikasin (30 µg)
Trimetoprim/Sulfametaksazol (1.25/23.75µg)
Tetrasiklin (30 µg)
Siprofloksasin (5 µg)
Kloramfenikol (30 µg)
Ofloksasin (5 µg)
Tobramisin (10 µg)

8.4 Kullanılan Çözeltiler

8.4.1 McFarland 0.5

%1.175 BaCl₂.2H₂O’dan 0.05 mL, 0.36 N H₂SO₄’dan 9.95 mL bir tüp içerisinde karıştırılarak McFarland 0.5 hazırlandı.⁵⁸

8.4.2 0.1M EDTA Çözeltisi

EDTA çözeltisi hazırlamak için 100 ml distile suda 2.92 gram Etilendiamintetraasetik asit (EDTA) (Sigma Chemicals, Germany) çözündürülerek NaOH ile pH 8.0'e ayarlandı.⁵

8.5 Kullanılan Bakteriler

Mart-Mayıs 2007 tarihleri arasında Cumhuriyet Üniversitesi Hastanesi'nin çeşitli kliniklerinde yatan hastaların Mikrobiyoloji Laboratuvarına gönderilen örneklerinden üretilen ve Phoenix (BD, İngiltere) otomatize sistemi ile tanımlamaları yapılan toplam 135 adet suş çalışmaya alındı. Suşların 111'i Enterobacteriaceae ailesinden ve 24'ü nonfermantatif gram negatif basıldı. İncelenen bakteri suşlarının kliniklere göre dağılımı çizelge 9.3'de belirtildi. Bakterilerin üretildiği örnek, örneklerin gönderildiği klinikler kaydedildi. Bakteriler deney aşamasına kadar gliserollü buyyon bulunan mikrosantrifüj tüplerine ve yağsız süte alınarak -20 °C'de bekletildi.

8.6 Bakterilerin Antibiyotik Duyarlılıklarının Saptanması

Enterobacteriaceae ailesine ait bakteri suşlarının çizelge 9.5'de, nonfermantatif gram negatif bakterilerin çizelge 9.6'da belirtilen antibiyotiklere karşı duyarlılıkları CLSI (The Clinical and Laboratory Standards Institute) kriterlerine göre Kirby-Bauer standart disk difüzyon yöntemiyle belirlendi.⁵⁹ Kontrol suşları olarak *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, *Escherichia coli* ATCC 25922 , *Escherichia coli* ATCC 35218 ve Ankara Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji Kliniğ'in'den sağlanan MBL enzimi taşıyan *P.aeruginosa* kullanıldı.

8.6.1 MBL Saptanması

Kombine disk yöntemiyle tüm suşlarda metallo-beta-laktamaz varlığı araştırıldı. Buna göre çalışmaya alınan bakterilerin kanlı agardaki bir gecelik inkübasyondan sonra üreyen kolonilerinden 0.5 McFarland'a göre sulandırılmaları yapıldı. Bu sulandırılmaların serum fizyolojikle 1/10 oranında sulandırılmaları yapıldıktan sonra eküvyonla IsoSensitest agar yüzeyine ekildi.

Ekim yapılmış Isosensitest agara zaman geçirmeden imipenem ve 10 µL 0.1 M'lık EDTA çözeltisi eklenmiş imipenem diskleri merkezlerinden itibaren 25 mm uzaklık olacak şekilde yerleştirildi. Plaklar bir gece 35 °C'de inkübasyona bırakıldıktan sonra inhibisyon zon çapları ölçülerek kaydedildi. Sonuçlar her suş için EDTA'lı

imipenem ve imipenem diskleri çevresindeki inhibisyon zon çapları arasında 4 mm fark olup olmaması yönünden değerlendirildi.⁵

8.6.2 İBL Saptanması

İzole edilen *P.aeruginosa* suşlarının indüklenebilir beta laktamaz aktivitesi, güçlü indükleyici olarak imipenem, zayıf indükleyici olarak sefoperazon diskleri kullanılarak disk indüksiyon testi ile araştırıldı. *P.aeruginosa* suşlarının 18-20 saatlik kültürlerinden 0.5 McFarland bulanıklığında süspansiyonları hazırlandı. Müeller-Hinton agar besiyerine ekimleri yapıldı. İmipenem ve sefoperazon diskleri, aralarında merkezden merkeze 15 mm olacak şekilde yerleştirildi. Sefoperazonun imipeneme bakan yüzünde inhibisyon zonları belirgin olarak daraldığında bakterinin indüklenebilir beta laktamaz ürettiği kabul edildi.^{53,60}

8.6.3 GSBL Saptanması

GSBL saptamasında antibiyogramı yapılan suşların CLSI'nın önermiş olduğu antibiyotiklere ait inhibisyon çapları (seftazidim ≤ 22 , sefotaksim ≤ 27 ve aztreonam ≤ 27) değerlendirildi. Şüpheli suşlarda çift disk sinerji yöntemiyle GSBL aktiviteleri araştırıldı. -20 °C'de gliserollü buyyon ve sütlü besiyerinde saklanan suşlar iki kez üst üste kanlı agarla pasajlanarak canlandırıldı. Bakterilerin bir gecelik inkübasyonu sonrasında hazırlanan taze kültürlerinden McFarland 0.5 bulanıklığında bakteri inokulumu hazırlandı ve Müeller-Hinton agar besiyerine ekildi. Besiyerinin ortasına amoksisilin/klavulanik asit (20/10µg) diski ve bunun çevresine disklerin merkezden merkeze uzaklıkları 25 mm olacak şekilde aztreonam (30µg), sefotaksim (30µg), seftazidim (30µg), piperasilin (100µg), sefepim (30µg) diskleri yerleştirildi. Plaklar 35⁰C'de 18 saat inkübasyona bırakıldı. Aztreonam, sefotaksim, seftazidim, piperasilin ve sefepim diskleri çevresindeki inhibisyon zonunun amoksisilin/klavulanik asit diskine doğru genişlemesi veya indikatör antibiyotik diskleri ile klavulanik asit içeren disk arasında inhibisyon zonu oluşması GSBL aktivitesi pozitif olarak değerlendirildi. Sinerjinin belirlenmesinde yanlış değerlendirmelere neden olabileceğinden, inhibisyon zon çaplarının dar olduğu durumlarda diskler arası mesafe 20 mm'ye indirilerek, geniş olduğu durumlarda ise 30 mm'ye çıkartılarak test tekrarlandı.^{61,62}

8.7 İstatiksel Yöntem

Çalışmamızın verileri SPSS (ver:14.0) programına yüklenerek, verilerin değerlendirilmesinde İki Yüzde Arasındaki Farkın Önemlilik Testi, 2X2 Düzeninde Ki-Kare Testi ve Çok Gözlü Düzenlerde Ki-Kare Testi ve Tek Değişkenli Düzenlerde Ki-Kare Testi uygulandı ve yanılma düzeyi 0.05 olarak alındı.

9. BULGULAR

Çalışmaya alınan 135 suşun 65'i (%48.1) *E.coli*, 24'ü (%17.8) *Klebsiella spp.*, 20'si (%14.8) *Pseudomonas aeruginosa*, 12'si (%8.9) *Enterobacter spp.*, 8'i (%5.9) *Serratia marcescens*, 4'ü (%3) *Acinetobacter baumannii* ve 2'si (1.5) *Morganella morganii*'ydi (Çizelge 9.1).

Çizelge 9.1 Çalışmaya alınan bakteriler

Suşlar	(s)	(%)
<i>E.coli</i>	65	48.1
<i>Klebsiella spp.</i>	24	17.8
<i>P.aeruginosa</i>	20	14.8
<i>Enterobacter spp.</i>	12	8.9
<i>S.marcescens</i>	8	5.9
<i>A.baumannii</i>	4	3
<i>M.morganii</i>	2	1.5
Toplam	135	100

Sayı:s

Bakterilerin Üretildiği Örnekler

Çalışmaya alınan 135 suşun 56'sı idrar, 25'i yara, 17'si balgam, 14'ü kan, 6'sı servikal sürüntü, 5'i vaginal sürüntü ve 12'si diğer (3'ü periton sıvısı, 3'ü bronş lavajı, 2'si batın mayi, 1'i BOS, 1'i parasentez mayi, 1'i abse materyali ve 1'i operasyon materyali) örneklerden izole edildi.

Örneklerin Gönderildiği Klinikler

Çeşitli kliniklerde yatan hastalardan üretilen bakterilerin üretildikleri örnekler çizelge 9.2'de gösterildi. Çeşitli örneklerin üretilen bakterilere oranları istatistiksel olarak karşılaştırıldığında farkın önemli olduğu bulundu ($p<0.05$). Çalışmada en fazla idrar ve yara örneklerinden, en az vajinal örneklerden üretilen bakteriler bulunuyordu. İdrar örneğinden izole edilen bakterilerin %70'i *E.coli*'ydi, yara örneklerinden izole edilen bakterilerin %36'sı *P.aeruginosa*'ydı.

Çizelge 9.2 Çeşitli klinik örneklerden üretilen bakteriler

Bakteriler	İdrar	Yara	Balgam	Kan	Servikal	Vajinal	Diğer	Toplam
<i>E.coli</i>	39	5	5	4	4	2	6	65
<i>P.aeruginosa</i>	4	9	3	1			3	20
<i>A.baumannii</i>		2		1			1	4
<i>S.marcescens</i>		5	1	1			1	8
<i>M.morganni</i>		1		1				2
<i>Klebsiella spp.</i>	10	1	5	2	2	3	1	24
<i>Enterobacter spp.</i>	3	2	3	4				12
*Toplam	56	25	17	14	6	5	12	135

* $\chi^2=95.79$; $p=0.000$; $p<0.05$ önemli

Çizelgede 9.3'de çeşitli kliniklerden üretilen bakterilerin dağılımı verildi. Bu çizelgede Ki-Kare testi yerine getirilemediğinden klinikler cerrahi ve dahili olarak ayrıldı ve çizelge 9.4'de verildi.

Çizelge 9.3 Örneklerin alındığı kliniklere göre üretilen bakteriler

Klinikler	<i>E.coli</i>	K	E	S	M	P	A	Toplam
Dahiliye	9	4	1			1		15
NRŞ	2	2	1			2	2	9
Göğüs	5	1	1	1		4		12
Pediyatri	4	3				3		10
KDS	8	5	1					14
Plastik Crh.	3		1			3	1	8
Nöroloji	1	2				1		4
FTR	3							3
Endokrin	1							1
Ortopedi	1	1		6	1	1	1	11
Kardiyoloji	1	2	1					4
YDS		2						2
YBS	2	1	3			1		7
Genel Crh.	4	1	1			4		10
Üroloji	13		1					14
İntaniye	7			1	1			9
Dermatoloji	1							1
Beyin ve Sinir Crh.			1					1
Toplam	65	24	12	8	2	20	4	135

K: *Klebsiella*, E: *Enterobacter*, S: *S.marcescens*, M: *M.morganni*, P: *P.aeruginosa*, A: *A.Baumannii*

Çizelge 9.4 Cerrahi ve dahili kliniklerden alınan örneklerden üretilen bakterilerin dağılımı

Üretilen Bakteriler	Cerrahi		Dahili	
	Sayı	%	Sayı	%
<i>E.coli</i>	31	47.7	34	48.6
<i>Klebsiella spp.</i>	9	13.8	15	21.4
<i>Enterobacter spp.</i>	4	6.2	8	11.4
<i>S.marcescens</i>	6	9.2	2	2.9
<i>M.morganii</i>	11	1.5	1	1.4
<i>P.aeruginosa</i>	10	15.4	10	14.3
<i>A.Baumanni</i>	4	6.2	-	-
Toplam	65	100	70	100

$\chi^2=8.79$; $p=0.185$; $p>0.05$ olduğundan kliniklere göre suşların dağılımındaki fark önemsiz bulundu.

Gönderilen örneklerin kliniklere göre dağılımı değerlendirildiğinde en fazla sayıda örneğin dahiliye kliniğinden gönderildiği (%11.1) ve dahiliye kliniğinden gönderilen toplam 15 örneğin 9'unda (%60) *E.coli* üretildiği bulundu. Bakteri üretilen 135 örneğin 14'ü (%10.4) KDS ve Üroloji kliniğinden gelen örneklere aitti. KDS'inden gelen örneklerden üretilen 14 bakterinin 8'i (%57.1) *E.coli*, 5'i (%35.7) *Klebsiella spp.*'e aitti. 135 bakteriden 13'ü (%92.9) en fazla olmak üzere üroloji kliniğinden gönderilen *E.coli*'ye aitti. Ortopedi kliniğinden gönderilen bakterilerin 11'i (%75) *S.marcescens*'e ait bulundu.

Bakterilerin Antibiyotiklere Duyarlılıklarının Saptanması

Enterobacteriaceae ailesinden *Enterobacter spp.*, *Klebsiella spp.*, *Serratia marcescens*, *Morganella morganii* ve *E.coli*'nin antibiyogram sonuçları çizelge 9.5'de, *Pseudomonas aeruginosa* ve *Acinetobacter baumannii*'nin antibiyogram sonuçları çizelge 9.6'da verildi.

Buna göre toplam 65 adet *E.coli*'nin %63.1'i ampisilin ve tikarsiline, %52.3'ü piperasiline, %47.7'si tetrasikline, %44.6'sı amoksisilin/klavulanik asite, trimetoprim-sulfametoksazole, %41.5'i tikarsilin/klavulanik asite, sefalotine ve siprofloksasine dirençli bulundu. İmipenem ve meropeneme %100, ertapeneme %96.9, amikasin ve

sefoksitine %95.4, piperasilin/tazobaktama %87.7 ve kloramfenikole %80 oranında duyarlı bulundu.

Toplam 24 adet *Klebsiella spp.*'nin %83.3'ü ampisiline, %62.5'i tikarsiline, %50'si tikarsilin/klavulanik asite, %41.7'si piperasilin ve sefalotine, %33.3'ü sefazolin, sefamandol, sefaperazona dirençli bulundu. İmipenem ve meropenem %100, ertapenem, sefoksitin, siprofloksasin, ofloksasin ve kloramfenikole %95.8, tetrasikline %91.7, gentamisine %87.5 ve seftazidim ve trimetoprim-sulfametoksazole %83.3 oranında duyarlı bulundu.

Toplam 12 adet *Enterobacter spp.*'nin %100'ü ampisiline, %91.7'si amoksisilin/klavulanik asit, sefalotin, sefoksitine, %83.3'ü sefazoline dirençli bulundu. İmipenem, meropenem ve tetrasikline %100, ertapenem ve ofloksasine %91.7, sefepim, gentamisin, amikasin, tobramisin, siprofloksasin, trimetoprim-sulfametoksazol ve kloramfenikole %83.3, piperasilin, tikarsilin, piperasilin/tazobaktam, tikarsilin/klavulanik asit, sefamandol, sefaperazon, sefotaksim, seftazidim, aztreonama %75 oranında duyarlı bulundu.

Toplam 8 adet *Serratia marcescens*'in %87.5'i ampisilin, amoksisilin/klavulanik asit, sefamandole, %75'i tikarsiline, %37.5'i piperasilin, aztreonam ve trimetoprim-sulfametoksazole dirençli bulundu. Karbapenemler, piperasilin/tazobaktam, sefazolin, sefalotin, gentamisin, tobramisin ve siprofloksasine %100, sefepim, amikasin, ofloksasin ve kloramfenikole %87.5, seftazidim ve tetrasikline %75, sefaperazon, sefoksitin, aztreonam ve trimetoprim-sulfametoksazole %62.5, tikarsilin/klavulanik asit ve sefotaksime %50 oranında duyarlı bulundu.

Toplam 2 adet *Morganella morganni*'nin %100'ü ampisilin, amoksisilin/klavulanik asit, sefazolin, sefalotin, sefamandole, %50'si aztreonama dirençli bulundu. Karbapenemler, aminoglikozidler, tikarsilin, piperasilin/tazobaktam, tikarsilin/klavulanik asit, sefepim, sefoksitin, sefotaksim, seftazidim, tetrasiklin, ofloksasin, trimetoprim-sulfametoksazol ve kloramfenikole %100, piperasilin, sefaperazon, aztreonam ve siprofloksasine %50 oranında duyarlı bulundu.

Çizelge 9.5 Enterobacteriaceae ailesine ait suşların antibiyogram sonuçları

ANTİBİYOTİK	<i>E.coli</i> (n:65)			<i>Klebsiella spp.</i> (n:24)			<i>Enterobacter spp.</i> (n:12)			<i>S.marcescens</i> (n:8)			<i>M. morganii</i> (n:2)			Toplam		
	R	I	S	R	I	S	R	I	S	R	I	S	R	I	S	R	I	S
Ampisilin	41		24	20	2	2	12			7		1	2			82	2	27
Piperasilin	34	4	27	10		14	3		9	3	2	3		1	1	50	7	54
Tikarsilin	41		24	15	4	5	3		9	6		2			2	65	4	42
Amoksisilin/Klavulanik asit	29	2	34	7		17	11	1		7		1	2			56	3	52
Piperasilin/Tazobaktam	6	2	57	4	2	18	1	2	9			8			2	11	6	94
Tikarsilin/Klavulanik asit	27	7	31	12	3	9	2	1	9	2	2	4			2	43	13	55
Sefazolin	22		43	8	2	14	10					8	2			42	2	67
Sefalotin	27	3	35	10		14	11		1			8	2			50	3	58
Sefamandol	22	1	42	8	1	15	3		9	7		1	2			42	2	67
Sefepim	15	3	47	4	1	19	2		10	1		7			2	22	4	85
Sefaperazon	23	2	40	8	2	14	3		9	2	1	5		1	1	36	6	69
Sefoksitin	1	2	62		1	23	11		1	1	2	5			2	13	5	93
Sefotaxim	23		42	5		19	3		9	1	3	4			2	32	3	76
Seftazidim	17	2	46	4		20	3		9	2		6			2	26	2	83
Ertapenem	1	1	63	1		23		1	11			8			2	2	2	107
İmipenem			65			24			12			8			2	-	-	111
Meropenem			65			24			12			8			2	-	-	111
Aztreonam	20		45	6		18	3		9	3		5	1		1	33	-	78
Gentamisin	17		48	3		21	2		10			8			2	22	-	89
Amikasin	1	2	62			24	1	1	10		1	7			2	2	4	105
Tobramisin	19		46	5		19	2		10			8			2	26	-	85
Tetrasiklin	31		34	1	1	22			12	1	1	6			2	33	2	76
Siprofloksasin	27		38	1		23	2		10			8		1	1	30	1	80
Ofloxacin	24	3	38	1		23		1	11	1		7			2	26	4	81
Trimetoprim-sulfametoksazol	29		36	3	1	20	2		10	3		5			2	37	1	73
Kloramfenikol	13		52	1		23	2		10	1		7			2	17	-	94

R:Dirençli,I:OrtaDuyarlı,S:Duyarlı

Çizelge 9.6 *Pseudomonas aeruginosa* ve *Acinetobacter baumannii* suşlarının antibiyogram sonuçları

ANTİBİYOTİK	<i>P.aeruginosa</i> (n:20)			<i>A.baumannii</i> (n:4)			Toplam		
	R	I	S	R	I	S	R	I	S
Piperasilin	5	1	14	4	-	-	9	1	14
Tikarsilin	10	-	10	4	-	-	14	-	10
Piperasilin/Tazobaktam	-	1	19	-	3	1	-	4	20
Tikarsilin/K.A.	9	2	9	3	1	-	12	3	9
Sefepim	2	1	17	-	3	1	2	4	18
Sefaperazon	6	-	14	-	-	-	6	-	14
Sefotaksim	8	3	9	4	-	-	12	3	9
Seftazidim	5	-	15	2	-	2	7	-	17
İmipenem	-	-	20	-	-	4	-	-	24
Meropenem	-	1	19	1	-	3	1	1	22
Aztreonam	8	1	11	-	-	-	8	1	11
Gentamisin	1	-	19	3	1	-	4	1	19
Amikasin	-	-	20	2	-	2	2	-	22
Tobramisin	1	-	19	-	-	4	1	-	23
Tetrasiklin	-	-	-	2	-	2	2	-	2
Siprofloksasin	2	-	18	2	-	2	4	-	20
Ofloxacin	2	-	18	-	-	-	2	-	18
Trimetoprim-sulfametoksazol	-	-	-	4	-	-	-	-	4

R: Dirençli, I: Orta duyarlı, S: Duyarlı

Toplam 20 adet *Pseudomonas aeruginosa*'nın % 50'si tikarsiline, %45'i tikarsilin/klavulanik asite, %40'ı sefotaksim, aztreonama, %30'u sefaperazona, %25'i piperasilin, seftazidime dirençli bulundu. İmipenem ve amikasin %100, piperasilin/tazobaktam, meropenem, gentamisin, tobramisine %95, siprofloksasin ve ofloksasine %90, sefepime %85, seftazidime %75 oranında duyarlı bulundu.

Toplam 4 adet *Acinetobacter baumannii*'nin %100'ü piperasilin, tikarsilin, sefotaksim, trimetoprim-sulfametoksazole, %75'i tikarsilin/klavulanik asit, gentamisine, %50'si seftazidim, amikasin, tetrasiklin ve siprofloksasine dirençli bulundu. İmipenem, tobramisine %100, meropeneme %75 oranında duyarlı bulundu.

Metallo Beta-Laktamaz Varlığının Araştırılması

Çalışmaya alınan 135 bakterinin hiçbirinde MBL varlığı saptanmadı. Kontrol suşu olarak kullanılan ve Ankara Üniversitesi'nden sağlanan MBL üreten *P.aeruginosa* suşunun kullandığımız yöntemle MBL ürettiği saptandı.

Çizelge 9.7 Çalışmaya alınan suşların GSBL ve İBL üretme durumları

Bakteri	GSBL +		İBL +		GSBL+ ve İBL+	
	(s)	(%)	(s)	(%)	(s)	(%)
<i>E.coli</i> (s:65, %48.1)	18	27.7				
<i>Klebsiella spp.</i> (s:24, %17.8)	6	25				
<i>P.aeruginosa</i> (s:20, %14.8)	2	10	10	50	1	5
<i>Enterobacter spp.</i> (s:12, %8.9)	3	25	6	50	1	8.3
<i>S.marcescens</i> (s:8, %5.9)	4	50				
<i>A.baumannii</i> (s:4, %3)						
<i>M.morganni</i> (s:2, %1.5)			1	50		
Toplam	33	24.4	17	12.6	2	1.5
Sonuç	$\chi^2=7.40$; p=0.285 p>0.05; önemsiz					

GSBL ve İBL'nin Saptanması

Toplam 135 suşun 33'ünün (%24.4) GSBL, 17'sinin (%12.6) İBL ve 2'sinin (%1.5) hem GSBL hem İBL ürettiği bulundu. 65 adet *E.coli*'nin 18'inin (%27.7), 24 adet *Klebsiella spp.*'in 6'sının (%25), 20 adet *P.aeruginosa*'nın 2'sinin (%10), 12 adet *Enterobacter spp.*'nin 3'ünün (%25), 8 adet *S.marcescens*'in 4'ünün (%50) GSBL ürettiği bulundu.

GSBL üreten suşların oranları istatistiksel olarak karşılaştırıldığında cinsler arasında farkın önemli olmadığı bulundu (p>0.05).

İBL üreten ve hem GSBL hem İBL üreten suşların oranları arasında Ki-Kare testi ile varsayımlar yerine getirilemediğinden yüzdelerle yorum yapıldı. Buna göre 20 adet *P.aeruginosa*'nın 10'unun (%50), 12 adet *Enterobacter spp.*'nin 6'sının (%50), 2 adet *M.morganni*'nin 1'inin (%50) İBL ürettiği bulundu.

GSBL üreten 2 (%10) *P.aeruginosa* suşunun 1'inde (%5) ve GSBL üreten 3 (%25) *Enterobacter spp.*'nin 1'inde (%8.3) İBL üretimi saptandı.

Çizelge 9.8 Çeşitli kliniklerden gelen örneklerden GSBL ve İBL üreten bakteriler

Klinikler	GSBL +		İBL +	
	(s)	(%)	(s)	(%)
NRŞ	2	6.1	2	11.8
Dahiliye	2	6.1	2	11.8
Göğüs	1	3	2	11.8
Pediyatri	2	6.1	1	5.9
KDS	4	12.1	-	
Plastik Cerrahi	-		1	5.9
Nöroloji	-		1	5.9
FTR	1	3	-	
Beyin ve Sinir Crh.	1	3	1	5.9
Ortopedi	4	12.1	1	5.9
Kardiyoloji	2	6.1	1	5.9
YDS	1	3	-	
YBS	-		2	11.8
Genel Cerrahi	2	6.1	2	11.8
Üroloji	8	24.2	-	
İntaniye	3	9.1	1	5.9
Toplam	33		17	

Çizelge 9.8’de çeşitli kliniklerden gelen örneklerde GSBL ve İBL üreten suşların oranları istatistiksel olarak karşılaştırılmadığından klinikler cerrahi ve dahili olarak gruplandırıldı ve çizelge 9.9’da verildi.

Çizelge 9.9 Cerrahi ve dahili birimlere göre GSBL ve İBL üreten bakterilerin dağılımı

Klinikler	GSBL+		İBL+		Toplam	
	(s)	(%)	(s)	(%)	(s)	(%)
Cerrahi	21	75	7	25	28	100
Dahili	12	54.5	10	45.5	22	100
Toplam	33		17		50	

Cerrahi ve dahili birimlere ait kliniklerdeki GSBL ve İBL üreten suşların oranı istatistiksel olarak karşılaştırıldığında aradaki fark önemsiz bulundu ($\chi^2=2.29$; $p=0.130$; $p>0.05$).

Çizelge 9.9’da cerrahi kliniklerdeki (%75) GSBL üretiminin dahili kliniklerden (%54.5) fazla olduğu, buna karşın İBL üretiminin dahili kliniklerde (%45.5), cerrahi kliniklerden (%25) daha fazla olduğu görüldü.

Çizelge 9.10 GSBL+ ve GSBL- *E.coli* suşlarının çeşitli antibiyotiklere direnç ve duyarlılık durumları.

Antibiyotik	GSBL + (s:18, %28)		GSBL- (s:47, %72)	
	Dirençli s (%)	Duyarlı s (%)	Dirençli s (%)	Duyarlı s (%)
Beta Laktam+Beta laktam İnhibitörü				
Amoksisilin/Klavulanik asit	15 (83.3)	3 (16.7)	14 (29.8)	31 (66)
Piperasilin/Tazobaktam	1 (5.6)	16 (88.9)	5 (10.6)	41 (87.2)
Tikarsilin/Klavulanik asit	12 (66.7)	3 (16.7)	15 (31.9)	28 (59.6)
Karbapenemler				
Ertapenem	1 (5.6)	16 (88.9)	-	47 (100)
İmipenem	-	18 (100)	-	47 (100)
Meropenem	-	18 (100)	-	47 (100)
Sefamisin				
Sefoksitin	-	16 (88.9)	1 (2.1)	46 (97.9)
Aminoglikozidler				
Gentamisin	12 (66.7)	6 (33.3)	5 (10.6)	42 (89.4)
Amikasin	1 (5.6)	17 (94.4)	-	45 (95.7)
Tobramisin	15 (83.3)	3 (16.7)	4 (8.5)	43 (91.5)
Tetrasiklinler				
Tetrasiklin	17 (94.4)	1 (5.6)	14 (29.8)	33 (70.2)
Florokinolonlar				
Siprofloksasin	16 (88.9)	2 (11.1)	11 (23.4)	36 (76.6)
Ofloxacin	16 (88.9)	2 (11.1)	8 (17.0)	36 (76.6)
Folat Yolu İnhibitörleri				
Trimetoprim-sulfametoksazol	13 (72.2)	5 (27.8)	16 (34)	31 (66)
Fenikoller				
Kloramfenikol	4 (22.2)	14 (77.8)	9 (19.1)	38 (80.9)

GSBL üreten ve üretmeyen *E.coli* suşlarının antibiyotiklere direnç durumları çizelge 9.8'de verildi. Buna göre herbir antibiyotik grubundaki antibiyotiklerin kendi aralarında *E.coli* suşlarına etkileri istatistiksel olarak karşılaştırıldığında farkın önemli olduğu bulundu ($t=5.72$; $p=0.000$; $p<0.05$). GSBL+ suşların piperasilin/tazobaktama (% 88.9), amoksisilin/klavulanik asit ve tikarsilin/klavulanik asitten (%16.7) daha duyarlı olduğu saptandı. GSBL+ suşlarına aminoglikozid grubundaki antibiyotiklerin etkileri karşılaştırıldığında gentamisin ile amikasin ve tobramisin ile amikasin arasındaki farkın önemli ($p<0.05$) gentamisin ile tobramisin arasındaki farkın önemsiz olduğu bulundu ($p>0.05$). Bu suşlara en etkili aminoglikozid grubundaki antibiyotiğin amikasin (%94.4) olduğu saptandı. Diğer antibiyotik gruplarındaki (karbapenemler, florokinolonlar) antibiyotiklere direnç oranları arasındaki farkın önemsiz olduğu bulundu.

GSBL- suşların tüm antibiyotik gruplarındaki antibiyotiklere direnç oranları arasındaki farkın önemsiz olduğu bulundu. Çizelgede 9.8'de görüldüğü gibi karbapenemler dışında GSBL+ suşlara en etkili antibiyotiklerin sırasıyla amikasin (%94.4), piperasilin/tazobaktam ve sefoksitin (%88.9), kloramfenikol (%77.8) olduğu görüldü. GSBL- suşların ise karbapenemlere dirençli olmadığı, sefoksitine (%97.9) oldukça etkili olduğu bulundu. GSBL- suşlara en etkili antibiyotiklerin sırasıyla amikasin (%95.7), tobramisin (%91.5), gentamisin (%89.4), piperasilin/tazobaktam (%87.2) ve kloramfenikol (%80.9) olduğu bulundu.

Çizelge 9.11 GSBL+ ve GSBL- *Klebsiella* spp. suşlarının çeşitli antibiyotiklere direnç ve duyarlılık durumları.

Antibiyotik	GSBL + (s:6, %25)		GSBL- (s:18, %75)	
	Dirençli s (%)	Duyarlı s (%)	Dirençli s (%)	Duyarlı s (%)
Beta Laktam+Beta laktam İnhibitörü				
Amoksisilin/Klavulanik asit	5 (83.3)	1 (16.7)	2 (11.1)	16 (88.9)
Piperasilin/Tazobaktam	1 (16.7)	4 (66.7)	4 (22.2)	14 (77.8)
Tikarsilin/Klavulanik asit	2 (33.3)	1 (16.7)	10 (55.6)	8 (44.4)
Karbapenemler				
Ertapenem	-	6 (100)	1 (5.6)	17 (94.4)
İmipenem	-	6 (100)	-	18 (100)
Meropenem	-	6 (100)	-	18 (100)
Sefamisin				
Sefoksitin	-	6 (100)	-	17 (94.4)
Aminoglikozidler				
Gentamisin	3 (50)	3 (50)	-	18 (100)
Amikasin	-	6 (100)	-	18 (100)
Tobramisin	3 (50)	3 (50)	2 (11.1)	16 (88.9)
Tetrasiklinler				
Tetrasiklin	-	6 (100)	1 (5.6)	16 (88.9)
Florokinolonlar				
Siprofloksasin	-	6 (100)	1 (5.6)	17 (94.4)
Ofloxacin	-	6 (100)	1 (5.6)	17 (94.4)
Folat Yolu İnhibitörleri				
Trimetoprim-sulfametoksazol	1 (16.7)	4 (66.7)	2 (11.1)	16 (88.9)
Fenikoller				
Kloramfenikol	1 (16.7)	5 (83.3)	-	18 (100)

GSBL üreten ve üretmeyen *Klebsiella spp.* suşlarının antibiyotiklere direnç durumları çizelge 9.9'da verildi. Buna göre herbir antibiyotik grubundaki antibiyotiklerin kendi aralarında *Klebsiella spp.* suşlarına etkileri istatistiksel olarak karşılaştırıldığında farkın önemli olduğu bulundu ($t=3.01$; $p=0.001$; $p<0.05$). Piperasilin/tazobaktama (% 66.7) GSBL+ suşların amoksisilin/klavulanik asit ve tikarsilin/klavulanik asitten (%16.7) daha duyarlı oldukları saptandı.

GSBL- suşların ise; amoksisilin/klavulanik asite (%88.9) piperasilin/tazobaktam (% 77.8) ve tikarsilin/klavulanik asitten (%44.4) daha duyarlı olduğu saptandı.

GSBL+ ve GSBL- suşların diğer antibiyotik gruplarındaki (karbapenemler, aminoglikozidler, florokinolonlar) antibiyotiklere direnç oranları arasındaki farkın önemsiz olduğu bulundu ($p>0.05$).

GSBL+ suşlara karbapenemler dışında en etkili antibiyotiklerin sırasıyla sefoksitin amikasin, tetrasiklin ve florokinolonlar (%100) olduğu görüldü.

GSBL- suşlarda ise ertapenem (%94.4) hariç karbapenemlere %100 duyarlılık bulundu. Bunun yanı sıra GSBL- suşlara en etkili antibiyotiklerin sırasıyla kloramfenikol, gentamisin ve amikasin (%100), sefoksitin ve florokinolonların (%94.4) olduğu bulundu.

Çizelge 9.12 GSBL+ ve GSBL- *Enterobacter* spp. suşlarının çeşitli antibiyotiklere direnç ve duyarlılık durumları.

Antibiyotik	GSBL + (s:3, %25)		GSBL- (s:9, %75)	
	Dirençli s (%)	Duyarlı s (%)	Dirençli s (%)	Duyarlı s (%)
Beta Laktam+Beta laktam İnhibitörü				
Amoksisilin/Klavulanik asit	3 (100)	-	8 (88.9)	-
Piperasilin/Tazobaktam	1 (33.3)	-	-	9 (100)
Tikarsilin/Klavulanik asit	2 (66.7)	-	-	9 (100)
Karbapenemler				
Ertapenem	-	2 (66.7)	-	9 (100)
İmipenem	-	3 (100)	-	9 (100)
Meropenem	-	3 (100)	-	9 (100)
Sefamisin				
Sefoksitin	3 (100)	-	8 (88.9)	1 (11.1)
Aminoglikozidler				
Gentamisin	2 (66.7)	1 (33.3)	-	9 (100)
Amikasin	1 (33.3)	1 (33.3)	-	9 (100)
Tobramisin	2 (66.7)	1 (33.3)	-	9 (100)
Tetrasiklinler				
Tetrasiklin	-	3 (100)	-	9 (100)
Florokinolonlar				
Siprofloksasin	2 (66.7)	1 (33.3)	-	9 (100)
Ofloxacin	-	2 (66.7)	-	9 (100)
Folat Yolu İnhibitörleri				
Trimetoprim-sulfametoksazol	2 (66.7)	1 (33.3)	-	9 (100)
Fenikoller				
Kloramfenikol	2 (66.7)	1 (33.3)	-	9 (100)

GSBL üreten ve üretmeyen *Enterobacter* spp. suşlarının antibiyotiklere direnç durumları çizelge 9.12’de verildi. Buna göre GSBL- suşların beta laktam+beta laktam inhibitör grubundaki antibiyotiklere etkileri istatistiksel olarak karşılaştırıldığında farkın önemli olduğu bulundu ($t=2.84$; $p=0.006$; $p<0.05$).

GSBL- suşlar amoksisilin/klavulanik asit ve sefoksitine %88.9 oranında dirençli, bunun dışındaki antibiyotik gruplarına %100 duyarlı bulundu.

GSBL+ suşlarda antibiyotik grupları arasındaki fark önemsiz bulundu ($p>0.05$). GSBL+ *Enterobacter* spp. ertapeneme %66.7, diğer karbapenemlere %100 oranında duyarlı bulundu. Karbapenemlerden sonra en etkili antibiyotik grubu tetrasiklini. GSBL+ suşların tümü sefoksitine %100 dirençliydi.

Çizelge 9.13 GSBL+ ve GSBL- *S.marcescens* suşlarının çeşitli antibiyotiklere direnç ve duyarlılık durumları.

Antibiyotik	GSBL + (s:4,)		GSBL- (s:4)	
	Dirençli s (%)	Duyarlı s (%)	Dirençli s (%)	Duyarlı s (%)
Beta Laktam+Beta laktam İnhibitörü				
Amoksisilin/Klavulanik asit	4 (100)	-	3 (75)	1 (25)
Piperasilin/Tazobaktam	-	4 (100)	-	4 (100)
Tikarsilin/Klavulanik asit	1 (25)	2 (50)	1 (25)	2 (50)
Karbapenemeler				
Ertapenem	-	4 (100)	-	4 (100)
İmipenem	-	4 (100)	-	4 (100)
Meropenem	-	4 (100)	-	4 (100)
Sefamisin				
Sefoksitin	1 (25)	3 (75)	-	2 (50)
Aminoglikozidler				
Gentamisin	-	4 (100)	-	4 (100)
Amikasin	-	3 (75)	-	4 (100)
Tobramisin	-	4 (100)	-	4 (100)
Tetrasiklinler				
Tetrasiklin	1 (25)	3 (75)	-	3 (75)
Florokinolonlar				
Siprofloksasin	-	4 (100)	-	4 (100)
Ofloxacin	1 (25)	3 (75)	-	4 (100)
Folat Yolu İnhibitörleri				
Trimetoprim-sulfametoksazol	2 (50)	2 (50)	1 (25)	3 (75)
Fenikoller				
Kloramfenikol	1 (25)	3 (75)	-	4 (100)

S.marcescens GSBL+ ve GSBL- suşlarının antibiyotik durumu incelendiğinde farklılık önemsiz bulundu ($p>0.05$).

GSBL üreten *S.marcescens*'de karbapenem %100 duyarlılığının yanı sıra aminoglikozidlerden gentamisin ve tobramisine, florokinolonlardan siprofloksasine ve beta laktam+beta laktam inhibitör grubundan piperasilin/tazobaktama direnç görülmedi. Suşların %75'inin amikasin, tetrasiklin, ofloksasin, kloramfenikol ve sefoksitine duyarlı olduğu bulundu. Beta laktam+beta laktam inhibitör grubundan amoksisilin/klavulanik asite %100 dirençli bulundu.

GSBL- suşların ise karbapenemlere %100 oranında duyarlı olduğu bulundu. Bunun yanı sıra aminoglikozidlere, florokinolonlara ve fenikollere de %100 duyarlı bulundu. Bu suşların %50'si sefoksitine dirençliydi.

Çizelge 9.14 GSBL+ ve GSBL- ile İBL+ ve İBL- *P.aeruginosa* suşlarının çeşitli antibiyotiklere direnç ve duyarlılık durumları.

Antibiyotik	GSBL + (s:2)		GSBL- (s:18)		İBL + (s:10)		İBL – (s:10)	
	R s, %	S s, %	R s, %	S s, %	R s, %	S s, %	R s, %	S s, %
BetaLaktam + BL İnhibitörü								
Piperasilin/ Tazobaktam	-	1, 50	-	18, 100	-	10, 100	-	10, 100
Tikarsilin/ Klavulanik asit	1, 50	1, 50	9, 50	9, 50	3, 30	5, 50	6, 60	4, 40
Karbapenemeler								
İmipenem	-	2, 100	-	18, 100	-	10, 100	-	10, 100
Meropenem	-	2, 100	-	17, 94.4	-	9, 90	-	10, 100
Monobaktamlar								
Aztreonam	2, 100	0	6, 33.3	11, 61.1	6, 60	3, 30	2, 20	8, 80
Aminoglikozidler								
Gentamisin	-	2, 100	1, 5.6	17, 94.4	-	10, 100	1, 10	9, 90
Amikasin	-	2, 100	-	18, 100	-	10, 100	-	10, 100
Tobramisin	-	2, 100	1, 5.6	17, 94.4	-	10, 100	1, 10	9, 90
Florokinolonlar								
Siprofloksasin	-	2, 100	2, 11.1	16, 88.9	-	10, 100	2, 20	8, 80
Ofloxacin	-	2, 100	2, 11.1	16, 88.9	-	10, 100	2, 20	8, 80

GSBL ve İBL üreten ve üretmeyen *P.aeruginosa* suşlarının antibiyotiklere direnç durumları çizelge 9.12’de verildi. Antibiyotik gruplarının *P.aeruginosa* suşlarına etkileri açısından kendi içlerinde karşılaştırıldı. GSBL üreten ve üretmeyen suşların antibiyotiklere direnç durumları arasındaki farklılık önemli bulundu ($t=7.77$; $p=0.000$; $p<0.05$). İBL üreten ve üretmeyen suşların antibiyotiklere direnç durumları arasındaki farklılık önemsiz bulundu ($p>0.05$).

GSBL+ *P.aeruginosa* suşlarının tamamı karbapenemlere duyarlı bulundu. Karbapenemlerden sonra en etkili antibiyotikler sırasıyla aminoglikozidler ve florokinolonlardı (%100). Suşların tamamı aztreonama, %50’si tikarsilin/klavulanik asite dirençli bulundu.

GSBL – suşların tamamı imipenem, piperasilin/tazobaktam ve amikasine %100 duyarlıyken, meropenem, gentamisin ve tobramisine %94.4, florokinolonlara %88.9, aztreonama %61.1 ve tikarsilin/klavulanik asite %50 oranında duyarlı bulundu.

İBL+ *P.aeruginosa* suşlarının tamamı imipenem, piperasilin/tazobaktam, aminoglikozidler ve florokinolonlara %100 duyarlıydı. Suşların %90’ı meropeneme, %50’si tikarsilin/klavulanik asite %30’u aztreonama duyarlı bulundu.

İBL- *P.aeruginosa* suşlarının tümü karbapenemler, piperasilin/tazobaktam ve amikasine, %90'ı gentamisin ve tobramisine, %80'i florokinolonlar ve aztreonama, %40'ı tikarsilin/klavulanik asite duyarlı bulundu.

10. TARTIŞMA

Metallo-beta-laktamazlar, plazmidik özellikteki karbapenemazlar olarak son yıllarda gündemin birinci maddesi haline gelmişlerdir. Özellikle *Pseudomonas* türlerinde görülen aztreonama duyarlılık, seftazidim ve diğer beta laktamlara dirençlilik, klavulanatla inhibisyon olmaması gibi özellikleriyle IMP ve VIM tipi enzimler öne çıkmaktadır.

Yaşamı tehdit eden ciddi enfeksiyonlarda ve çoklu ilaç direnci gösteren gram negatif bakterilerin yol açtığı enfeksiyonlarda karbapenem grubu antibiyotikler son seçenek durumunda olduğu için karbapenem direncinin ayrı bir önemi vardır. Direnç oranları ve dirençten sorumlu olabilecek olası enzimler her ülke ve merkeze göre değişiklikler göstermekle birlikte her merkez için değişmeyen bir gerçek, oranların yıllar içinde artmakta olduğudur. Japonya'da karbapenem direnci 1998'de % 19.3'den 2002'de % 38'e çıkmıştır.⁶³

Çeşitli çalışmalarda *P.aeruginosa* kökenlerinde imipeneme ve meropeneme % 0'dan % 37'ye kadar değişen oranlarda direnç gözlenmiştir. Enterobacteriaceae'ların klinik kökenleri arasında ise imipenem direnci nadirdir ve bu son yapılan çalışmalarda tüm enterik çomakların % 95'inin imipeneme duyarlı olduğu bulunmuştur.⁶⁴⁻⁶⁸ Karbapenem antibiyotiklere karşı farklı mekanizmalarla direnç geliştirebilmektedir: bakteri dış membran proteinlerinde değişiklik sonucu geçirgenliğin azalması, karbapenemin dışarı pompalanması, AmpC tipi betalaktamazların aşırı üretimi, karbapenemaz üretimi. *P.aeruginosa* tedavi sırasında imipeneme direnç geliştirebilir. Bu direnç seleksiyonu, diğer beta-laktam antibiyotiklerin seleksiyonundan farklı olarak, *P.aeruginosa*'nın imipeneme seçici membran geçirgenliğinde değişiklik meydana gelmesiyle oluşur. Enterobacteriaceae kökenlerinde imipenem direnci kromozomal beta-laktamazların yüksek düzeyde üretilmesi ve geçirgenliğinde azalmaya bağlı olarak ortaya çıkar.⁶⁹ Ancak *Serratia* spp.'lerde tek başına MBL enzimi imipenem direncine yol açabilir.⁷⁰

Genel olarak imipenem ve meropenem duyarlılığının birbirine paralel olduğu kabul edilmekte ve CLSI tarafından da her iki karbapenemin antibiyogram değerlendirilmesinde birbirini temsil edebileceği önerilmektedir. Bal ve arkadaşları (1995, s.67) yaptıkları çalışmada gram negatif bakterilerde meropenem ve imipenem duyarlılıklarını eşit oranlarda bulmuşlardır.⁷¹ Ancak, farklı porin veya pompa-efluks sistemleri nedeniyle imipenem ve meropenem birbirinden bağımsız duyarlılıklara sahip olabilirler.

Bizim çalışmamızda da tüm suşlarda imipeneme duyarlılık %100 bulunmuşken, meropeneme duyarlılık %98.5 olarak bulunmuştur.

Plazmidik MBL'lar son birkaç yılda dünya genelinde hızlanan yayılmaları ile gündemde yer tutmaktadır.⁹ Özellikle, nonfermantatif gram negatif basillerde IMP veya VIM tipi MBL'ların yayılması iki nedenle epidemiyolojik risk oluşturur. Birincisi, MBL'lar sadece karbapenemlere değil tüm beta-laktamlara direnç oluşturabilir ve beraberinde taşınabilen diğer direnç genleriyle aminoglikozidlere ve florokinolonlara karşı da çoklu direnç gösterebilirler. İkincisi, IMP veya VIM tipi enzimleri kodlayan genler sıklıkla hareketli elemanlar üzerinde taşındıklarından farklı suşlar arasında horizontal olarak yayılabilirler.⁷²

Tedavilerinde karbapenem antibiyotiklerin tercih edildiği enfeksiyonlarda etkeni izole etmek kadar etkenin karbapenemaz ve MBL üretimini basit ve güvenilir bir laboratuvar metoduyla tespit etmek de önem kazanmaktadır. Ne var ki, GSBL saptanma yöntemleri gibi MBL üretimini tespit etmek için CLSI tarafından önerilen bir yöntem henüz bulunmamaktadır. Ancak, çift disk sinerji testi, imipenem-EDTA kombine disk testi, MBL Etest, Modifiye Hodge testi gibi çeşitli yöntemleri kullanan çalışmalar yapılmakta ve sonuçlar PCR sonuçları ile karşılaştırılmaktadır. Bu çalışmaların bazıları olumlu sonuçlar verirken bazılarında yalancı pozitifliğin yüksek olduğu görülmektedir. Tabii ki, farklı ülkelerde farklı MBL prevalanslarının bu sonuçlar üzerindeki etkisi büyüktür.

Arakawa ve arkadaşları (2000, s.40) 1999 yılında Japonya'da yaptıkları bir çalışmada IMP1 tipi MBL üreten gram negatif bakterilere biri seftazidim diğeri ise bir MBL inhibitörü içeren iki disk kullanarak çift disk sinerji testi uygulamışlardır. MPA ve EDTA gibi thiol bileşikleri içeren diskler kullanılmış ve seftazidim diski ile aralarında merkezden merkeze 1 -2.5 cm mesafe bırakılarak antibiyogram plağına yerleştirilmiştir. IMP-1 üreten suşlarda seftazidim diski ile thiol bileşiği içeren diskin arasındaki inhibisyon zonu daha genişlemişken serin beta-laktamaz üreten suşlarda ise inhibisyon zonlarının şeklinde belirgin bir değişme görülmemiştir. Bu testin özgüllük ve duyarlılığı PCR analizleri ile kıyaslanabilir nitelikte bulunmuştur.⁵⁶ Lee ve arkadaşlarının (2003, s.4623) Kore'de yaptıkları bir çalışmada, IMP-1 ve VIM-2 ürettiği bilinen *Pseudomonas* ve *Acinetobacter* suşlarında çift-disk sinerji testleri için imipenem-EDTA, seftazidim-MPA, seftazidim-sodyum merkaptoasetik asit (SMA) kullanılmıştır. MBL saptanmasında *Pseudomonas* suşları için EDTA diskleri daha iyi, *Acinetobacter* suşları için MPA ve SMA diskleri daha iyi bulunmuştur.⁷³

EDTA+SMA diskleri, hem *Pseudomonas* hem de *Acinetobacter* suşları için EDTA, MPA ve SMA disklerine göre daha iyi etkinlik göstermiştir.⁷³ Oh ve arkadaşları (2003, s.411) iki çeşit substrat-inhibitör kombinasyonlarını (seftazidim-MPA ve imipenem-EDTA) karşılaştırmış ve imipenem-EDTA kullanan disk difüzyon testinin, VIM-2 üreticilerini saptamada yüksek düzeyde duyarlı ve özgül olduğunu bulmuştur.⁷⁴

Jesudason ve arkadaşları (2005, s.780) karbapenemaz ve MBL üretimini tespit etmede EDTA çift disk sinerji testini, Modifiye Hodge testine göre daha duyarlı bulmuştur.⁷⁵ Lee ve arkadaşları da (2001, s.88-91) MBL üreten *Pseudomonas* ve *Acinetobacter* suşlarında Modifiye Hodge testinin duyarlılığını % 100, özgüllüğünü % 88, EDTA-disk sinerji testinin duyarlılığı ve özgüllüğünü % 100 olarak saptamışlardır.⁴⁰

Yan ve arkadaşları (2004, s.5-11) Tayvan'da 3 fenotipik yöntemi karşılaştırdıkları çalışmalarında MPA çift disk sinerji metodunun kombine disk ve E teste göre en duyarlı yöntem olduğunu saptamışlardır. Kombine disk yöntemi ise EDTA içeren ve içermeyen beta-laktam disklerinin verdiği zonların karşılaştırılmasına dayanmaktadır. En iyi sonuçlar, *Pseudomonas spp.* ve *Acinetobacter baumannii* için imipenem ile elde edilmiştir. Kombine disk metodu % 86.7 duyarlı bulunmuştur. E test metodu imipenem-EDTA stripleri kullanılarak uygulanmış ve bu test yalnızca imipenem dirençli MBL-pozitif suşları % 36.7 duyarlılık ile saptamıştır.⁷⁶

Yong ve arkadaşları (2002, s.3798) çoğunluğu VIM-2 üreten MBL-pozitif *Pseudomonas* ve *Acinetobacter* izolatlarında imipenem-EDTA disk metodunu test etmişler, 750 ve 1000 µg EDTA içeren farklı iki kombine disk hazırlamışlardır. 750 µg EDTA içeren diskin kullanıldığı yöntem tüm MBL üreten *Pseudomonas*ları ayırt edebilmiş ve *Acinetobacter spp.* için duyarlılığı ve özgüllüğü, sırasıyla, % 95.7 ve % 91 olarak bulunmuştur. *Pseudomonas spp.*'de tüm MBL-pozitif izolatlar, EDTA eklendiğinde ≥ 7 mm. inhibisyon zonunda artış göstererek MBL-negatif izolatlardan iyi bir şekilde ayrılmıştır. Tek başına kombine diskin inhibisyon zonlarının büyüklüğünün de yararlı olduğu gösterilmiş, MBL-pozitif izolatlarda imipenem-EDTA disklerinin inhibisyon zonları ≥ 17 mm iken MBL-negatif izolatlarda ≤ 14 mm tespit edilmiştir. Bu çalışmada imipenem-EDTA disk metodunun basit ve oldukça duyarlı olduğu, özgüllüğünün *Pseudomonas spp.* için mükemmel, *Acinetobacter spp.* için iyi olduğu görülmektedir.⁵⁷

Pitout ve arkadaşları (2005, s.3129) MBL üreten *P.aeruginosa* suşlarını tespit etmek için bir EDTA disk tarama testi geliştirmişlerdir. İmipenem ve meropenem disklerinin tek başına ve 930 µg EDTA ile kombinasyonunda, inhibisyon zon çapları

belirlenmiş ve bu testin MBL E test ile kıyaslanabilir olduğu görülmüştür. PCR ile *blaVIM* ve *blaIMP* genlerine sahip izolatlarda meropenem-EDTA disk tarama testi % 100 duyarlılık, % 97 özgüllük gösterirken imipenem-EDTA disk testi % 96 duyarlılık, % 91 özgüllük göstermiştir. 930 µg EDTA varlığında ≥ 7 mm zon çapında artış MBL varlığı için pozitif test olarak kabul edilmiştir. Bu çalışma, meropenemi substrat olarak kullanan yayınlanmış ilk fenotipik tanı yöntemini kullanmıştır. Meropenemin EDTA ile kombine edilmesinde imipenemden daha iyi bir substrat olduğunu göstermektedir.⁷⁷

Bu fenotipik yöntemlerin sonuçlarını değerlendirirken, o merkezlerdeki MBL tiplerini ve prevalanslarını da dikkate almak gerekir. IMP tipi MBL'lar 1997'ye kadar Japonya ile sınırlı kaldıktan sonra Avrupa ülkelerinde de saptanmaya başlamıştır. VIM tipi MBL'lar Avrupa orijinli olmakla birlikte bugüne kadar 20 ülkeden bildirilmiştir. SPM enzimi Brezilya'da, GIM ise Almanya'da sınırlı kalmıştır. Japonya'da 1998-2002 yılları arasında bütün bölgelerde artan karbapenem direnci ve her merkezde en az 1 MBL olgusu gözlenmiştir.⁷⁸ Oh ve arkadaşları (2003, s.411) Kore'de imipenem ve/veya seftazidime azalmış duyarlılık gösteren 130 *P.aeruginosa* ve *A.baumannii* suşunun 33 (% 25.4)'ünde VIM-2, ikisinde IMP-1 yapımı tespit etmişlerdir. VIM-2'nin Kore hastanelerinde yüksek prevalansa sahip bir MBL olduğu saptanmıştır.⁷⁴ Lee ve arkadaşları (2002, s.1053) *P.aeruginosa* izolatlarının % 11'inin imipenem dirençli olduğunu ve dirençli izolatlar arasında % 8.7'sinin MBL ürettiğini göstermişlerdir.⁷⁹ Kore'de 28 hastaneyi kapsayan çok merkezli bir çalışmada ise imipeneme duyarlı olmayan 387 *Pseudomonas* spp.'nin % 11.4'ünde ve 267 *Acinetobacter* spp.'nin % 14.2'sinde MBL üretimi ortaya konmuştur. Bu suşların esas olarak YBÜ izolatu olmaları ve *blaIMP-1* ve *blaVIM-2* genlerine sahip olmaları dikkati çekmektedir. Çalışmaya katılan hastanelerin % 61'inde MBL-üreten suşlar tanımlanmıştır.⁸⁰ Singapur'da izole edilen 4 karbapenem dirençli *Pseudomonas* spp.'nin biri Japonya'da tanımlanan ile idantik *blaIMP-1*, ikisi yeni bir VIM geni varyantı olarak saptanan *blaVIM-6* içermiştir.⁸¹

Polonya'da 151 imipenem dirençli *P.aeruginosa* suşunun 11'inde VIM-4 tipi MBL saptanmış, 4 farklı patern ve 3 subtipinin bulunduğu gösterilerek sık görülmeyen VIM-4 MBL'in *P.aeruginosa* suşlarında endemik hale geldiği ortaya konmuştur.⁸² Luzzaro F ve arkadaşları (2004, s.131) İtalya'da karbapenem ve/veya seftazidim dirençli 82 *P.aeruginosa* suşunda Etest MBL stripleri ile % 9.8, buyyon dilüsyon testi ile % 13.4 olarak MBL üretimini rapor etmişlerdir.²

Türkiye’de yapılan çalışmalar ise sınırlı sayıdadır. Genotipik çalışma ile bir *K.pneumoniae* ve bir *P.aeruginosa* suşunda VIM-5 bulunmuştur.^{83,84} Türkiye’de MBL prevalansını yansıtan uluslararası yayınlanmış iki çalışma bulunmaktadır. Ne yazık ki, bunlar sadece fenotipik yöntemleri kullanmışlardır.

Altoparlak ve arkadaşları (2005, s.707) Erzurum’da karbapenemlere dirençli 40 *P.aeruginosa* ve *A.baumannii* suşunun imipenem-EDTA kombine disk yöntemi ile 22 (%55)’sinde pozitiflik bulmuşlardır. İmipenem-EDTA disk testini değerlendirirken Yong ve arkadaşlarının çalışmasını referans alarak kombine diskin etrafındaki zon çapının ≥ 17 mm. olmasını pozitif, ≤ 14 mm. olmasını negatif kabul etmişlerdir.⁸⁵

Toraman ve arkadaşları (2004, s.257) Elazığ’da karbapenemlere dirençli 52 *P.aeruginosa* izolatının 15 (%29)’inde, 24 *A.baumannii* suşunun 5 (%21)’inde MBL Etest ile MBL üretimini tespit etmişlerdir.⁸⁶

Enterobacter cloacae’da VIM-5 MBL geni 2002 yılında bulunmuştur. Aynı gen 2003 yılında *Klebsiella pneumoniae*’da, 2004 yılında da *Pseudomonas aeruginosa*’da saptanmıştır. 2005 yılında yapılan bir çalışmada Dicle Üniversitesi Hastanesinde *Enterobacter cloacae*’da EDV/1 tanımlanmıştır.⁸⁷

Atatürk Üniversite’sinde yapılan bir çalışmada 2003 ve 2004 yılları arasında *Pseudomonas* ve *Acinetobacter*’de araştırılan MBL aktivitesinde kombine disk yöntemi kullanılmıştır. 37 adet *Pseudomonas*’ın 21 adedi, 3 adet *Acinetobacter*’in ise 1 adedinde MBL pozitiflik bulunmuştur.⁸⁵

Hacettepe Üniversitesi Hastanelerinde ayrıştırılan *Pseudomonas*’larda MBL’in tayininde beş fenotipik test uygulanmış ve PCR analizi ile desteklenmiştir. Fenotipik testlerin MBL tayininde yeterli olmadığı görülmekle birlikte, PCR sonucu ile en uyumlu testin kombine disk sinerji testi olduğu araştırmalarda gösterilmiştir.⁸⁸

Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesinde yapılan bir çalışmada; 40 adet *Pseudomonas aeruginosa* suşunun MBL aktivitesinin belirlenmesi için Modifiye Hodge Testi ve Çift Disk Sinerji Testi uygulanmış ve her iki testte de 2 örnek MBL açısından pozitif bulunmuştur.⁸⁹

Klebsiella pneumoniae’da ilk defa 2005 yılında IMP-EDTA kombine disk testi ve 2-MPA çift disk sinerji testi sonrası MBL pozitif bulunan izolatta PCR analizi ile VIM-1 MBL geni tesbit edilmiştir. Aynı zamanda bu bakterinin CTX-M-15 GSBL geni taşıdığı bulunmuştur.⁹⁰

İstanbul Üniversitesi’nde 2006 yılında yapılan bir tez çalışmasında kombine disk metodu, çift disk sinerji testi, modifiye Hodge testi ve E-test yöntemleri kullanılarak

Pseudomonas ve *Acinetobacter*'de MBL aktivitesi aranmıştır. Bu testlerden kombine disk metodu daha duyarlı olarak değerlendirilmiştir.⁹¹

2008 yılında yapılan bir çalışmada Fırat Üniversitesi Hastanesine gelen bir hastadan izole edilen *Pseudomonas putida* 'dan VIM-5 MBL geni tesbit edilmiştir.⁹²

Tüm bu çalışma verilerinden görüldüğü gibi yöntemler arasındaki ufak detaylar sonuçları oldukça etkileyebilmektedir. Genel olarak; seftazidime göre imipenemin daha iyi bir substrat olduğu, MBL inhibitörleri içinde EDTA'nın daha başarılı sonuçlar verdiği söylenebilir. MPA'in uçucu ve toksik olması da kullanımından kaçınmayı gerektirebilir. Bu fenotipik yöntemler arasında da çift-disk sinerji testi daha iyi görünmekle birlikte diskler arasındaki mesafenin doğru ayarlanması gerekmektedir. Bu yüzden çalışmamızda, çift-disk sinerji testi yerine kombine disk yöntemi kullanılmıştır. İnhibitör olarak da hazırlanması kolay olan EDTA tercih edilmiştir. Diskteki EDTA miktarının belirlenmesi için Clare Franklin, Lisa Liolios ve Anton Y. Peleg'in çalışmaları referans alınarak 292 µg EDTA kullanılmıştır.⁵ Kombine disk metodu kullanılarak yapılan bu çalışmada iki IMP (10µg) diskinden birine 0.1 M hazırlanan EDTA çözeltisinden 10 µl emdirilmiştir. Diskler arası mesafe merkezden merkeze 25 mm olacak şekilde yerleştirilmiştir.IMP+EDTA diskinin zon çapının IMP diskinin zon çapından 4 mm fazla olması MBL+ olarak değerlendirilmiştir. Bu çalışmanın referans alınmasının en önemli özelliğinden biri de gizlenmiş MBL geni taşıyabileceğinden karbapeneme duyarlı ve orta duyarlı suşların bu yöntemle saptanabileceğinin bildirilmiş olmasıdır. Çalışmamızda karbapenemlere duyarlı ve orta duyarlı tüm suşlarda MBL varlığı saptanmamıştır. Böylece gizli MBL üretmedikleri de ortaya çıkmıştır.

Beta laktam antibiyotikleri hidroliz ederek inaktif hale getiren beta laktamaz enzim üretimi, başta Enterobacteriaceae üyeleri olmak üzere birçok bakteri türünün en önemli direnç mekanizmalarından biridir. GSBL üreten kökenlerde enfeksiyon riski, uzun süre hastanede yatış, yoğun bakım ünitesinde bulunma, idrar, venöz katater vb. uygulamalar gibi çeşitli girişimler ve geniş spektrumlu beta laktam antibiyotik kullanımı gibi bazı faktörlerle artmaktadır. Hastane enfeksiyonu etkeni olarak görülme sıklığı giderek artmakta ve genellikle çoklu ilaç direncine sahip olduklarından tedavide güçlüklerle yol açmaktadırlar. GSBL sıklığı antibiyotik kullanım alışkanlığına bağlı olarak ülkeden ülkeye ve aynı ülkede farklı şehirlerdeki hastanelerde bile değişebilmektedir.

Yurdumuzda GSBL ve İBL sıklığını araştıran çalışmalar yapılmıştır. Alıcı ve arkadaşları yaptıkları bir çalışmada (2006 s.358) *Enterobacteriaceae* ailesine ait 120 adet suşda %6.3 oranında GSBL saptamışlardır.⁹³ Bülüç ve arkadaşları (2003, s.31) 482 adet suşun %28 oranında GSBL varlığını göstermişlerdir.⁹⁴ Akata ve arkadaşları (2003, s.257) *Enterobacteriaceae* ailesine ait 194 suşda GSBL pozitifliğin %11.8 oranında ve en sık GSBL üreten suşun *K.pneumoniae* olduğunu rapor etmişlerdir.⁹⁵ Güler ve arkadaşları (2008, s.74) çalışmaya aldıkları gram negatif bakterilerden *Pseudomonas* spp., *Acinetobacter* spp, *Enterobacter* spp ve *E.coli*'de İBL pozitifliği sırasıyla %18.4, %15.1, %5.2 ve %0 oranında, GSBL pozitifliği sırasıyla %2.7, %4.8, %10.2 ve %10.5 oranlarında bulmuşlardır.⁹⁶

Genel olarak Türkiye'de hastane enfeksiyonu etkeni *E.coli* ve *Klebsiella*'larda GSBL pozitiflik oranı %30 dolayındadır fakat bu oran bazı hastane yoğun bakım ünitelerinde %50-60'lara ya da daha yukarıya çıkmaktadır. Çalışmamızda antibiyogram sonuçlarına göre CLSI'nın önerdiği ön tarama testinde GSBL şüphesi bulunan suşlarda GSBL ve İBL varlığı araştırılmıştır. Toplam 135 suşun %24.4'ünün GSBL ürettiği ve %12.6'sının İBL ürettiği bulunmuştur. Bunlardan *E.coli*'nin %28, *Klebsilla* spp. ve *Enterobacter* spp.'in %25, *Serratia marcescens*'in %50 oranında GSBL ürettiği bulunmuştur. Gülay Z.'nin yaptığı bir çalışmada (2005, s.74) *E.coli* suşlarında GSBL pozitiflik oranı %31, *K.pneumoniae*'de %48 ve *K.oxytoca*'da %26 oranında bulunmuştur.⁹⁷ Ekşi ve arkadaşlarının (2007, s.450) yaptıkları çalışmalarda *E.coli* suşlarında GSBL pozitifliği %32.1, *Klebsiella* spp. suşlarında ise %45 olarak bulmuşlardır.⁶⁰

Beta laktamaz inhibitörü olan tazobaktam, sulbaktam ve klavulanik asitin her üçü de stafilokokların beta laktamazına karşı etkili olmakla birlikte gram negatiflerin kromozomal enzimlerine etkinlikleri değişkendir. Bazı geniş spektrumlu enzimler her üçüne de dirençlidir. Tünger ve arkadaşları (2001, s.353) *E.coli* suşunun amoksisilin/klavulanik asite %86.7 oranında duyarlı bulmuşlardır.⁹⁸ Gönüllü ve arkadaşları (2008, s.65) *E.coli*'de amoksisilin/klavulanik asite duyarlılığı %74, piperasilin/tazobaktama %94 olarak bulmuşlardır.⁹⁹ Kayman ve arkadaşları (2007, s.205) *E.coli* ve *Klebsiella* spp'de amoksisilin/klavulanik asite direncini sırasıyla %66, %88 ve piperasilin/tazobaktam direncini sırasıyla %26 ve %6 olarak bulmuşlardır.¹⁰⁰ Çalışmamızda GSBL üreten *E.coli*, *Klebsiella* spp., *Enterobacter* spp. ve *S.marcescens*'in amoksisilin/klavulanik asite dirençleri sırasıyla %83.3, 83.3, 100 ve

100, piperasilin/tazobaktama dirençleri %5.6,16.7, 33.3 ve 0, tikarsilin/klavulanik asite dirençleri %66.7, 33.3, 66.7 ve 25 olarak bulunmuştur.

GSBL'ler 3. kuşak sefalosporinlerin çoğunu inaktive etmekle birlikte karbapenemlere duyarlıdır. Plazmidle taşınan GSBL'lerin çoğu imipenem ve sefoksitini hidrolize edemez. Ülkemizde yapılan bir çalışmada GSBL+ suşların sefoksitine duyarlılığı %67 olarak bulunmuştur. Gönüllü ve arkadaşları (2008, s.65) *E.coli* suşlarında sefoksitine duyarlılığı %83, imipeneme ise %100 olarak bulmuşlardır.⁹⁹ Tünger ve arkadaşları (2001, s.353) ise *E.coli* suşlarında imipeneme duyarlılık oranını %100 bulmuşlardır.⁹⁸ Güler ve arkadaşları (2008, s.75) GSBL üreten *Pseudomonas spp.*, *Acinetobacter spp.*, *Enterobacter spp.* ve *E.coli* suşlarının sırasıyla imipeneme %89, %88, %94, %99, meropeneme %78, %75, %89, %97 oranında duyarlı olduğunu bulmuşlardır.⁹⁶ Çalışmamızda GSBL üreten suşların sefoksitine duyarlılıkları % 75.8 olarak saptanmıştır. GSBL üreten *E.coli* suşlarında ertapeneme %5.6 oranında direnç gözlenirken, diğer karbapenemlere %100 oranında duyarlılık saptanmıştır.

4. kuşak sefalosporin olarak sınıflandırılan ve geniş spektrumlu olan sefepim, penisilin bağlayan proteinlere yüksek afinitesinden dolayı gram negatif bakterilerin dış membranındaki porin kanallarından hızla bakteriye penetre olabilmektedir. Gönüllü ve arkadaşları (2008, s.65) *E.coli* suşlarının %86'sının sefepime duyarlı olduğunu saptamışlardır.⁹⁹ Tünger ve arkadaşları (2001, s.353) *E.coli* suşlarında sefepime duyarlılığı %96.4 oranında bulmuşlardır.⁹⁸ Çalışmamızda GSBL pozitif suşlarda sefepime duyarlılık %39.4 olarak belirlenmiştir.

Grup 1 beta-laktamazlar indüklenebilir özelliktedir. Yani normalde bakteri tarafından az miktarda sentezlenen enzim ortamda bulunan bir indükleyicinin etkisi ile yüksek miktarda sentezlenmeye başlar. Normalde indüksiyon etkisi geçici olup indükleyicinin etkisi kalkınca tekrar bazal düzeye döner. Ancak bu tip beta laktamazları üreten türlerde esas sorun indüksiyona gerek olmaksızın yüksek oranda dereprese mutantların bulunmasıdır. Bu dereprese mutantlar beta-laktamazlara dirençli olarak saptanırlar. Nonfermantatif bakteriler içinde en sık rastlanılan hastane enfeksiyonu etkeni *P.aeruginosa*'dır ve birçok beta-laktam antibiyotiğe dirençlidir. *P.aeruginosa* yüksek mortalite ile seyreden enfeksiyonlara sebep olmaktadır ve mortalite ile ilişkili bağımsız bir risk faktörüdür. Beta laktamazlara bağlı direnç oranları, antibiyotik kullanım özelliklerine bağlı olarak ülkelere ve çeşitli hastanelere göre farklılık göstermektedir.¹⁰¹ Çalışmaya aldığımız 20 adet *P.aeruginosa* suşunun 10'unda (%50) İBL üretimi bulundu. Ülkemizde yapılan çeşitli çalışmalarda Ekşi ve arkadaşları

(2007, s.142-146) 51 *P.aeruginosa*'nın 27'sinde (%52.9),⁶⁰ Fincancı ve arkadaşları (2000, s.499-505) 73 *P.aeruginosa*'nın % 59'unda,¹⁰² Şener ve arkadaşları (2001, s.15-18) 58 *P.aeruginosa*'nın %55.1'inde,¹⁰³ Akata ve arkadaşları (1997, s.255-259) 51 *P.aeruginosa*'nın %41'inde İBL aktivitesi saptamışlardır.⁹⁵

Çalışmamızda bulduğumuz *P.aeruginosa*'daki İBL oranları yurdumuzda bulunan oranlara oldukça yakındır. Çalışmamızda İBL pozitif bulunan suşlar aminoglikozidler, florokinolonlar, piperasilin/tazobaktam ve imipeneme %100 oranında duyarlı, meropeneme %90 oranında duyarlı bulunmuştur. Bu antibiyotik gruplarına duyarlılık açısından İBL+ suşlar ile İBL- suşlar arasında fark olmadığı gözlenmiştir.

Acinetobacter türleri özellikle vücudun nemli bölgeleri başta olmak üzere normal deri florasında yer alabilmektedirler. Normal bireylerin yaklaşık %25'inin derilerinde Acinetobacter türlerini taşıdıkları gösterilmiştir. Hastanede izlenen hastalarda taşıyıcılık oranı daha yüksektir. Bunun nedeni çapraz kontaminasyon ve hastane ortamının kaynak oluşturmasıdır. Acinetobacter türleri çeşitli sınıf antibiyotiklere çok hızlı bir şekilde direnç geliştirmektedir. Bugün Acinetobacter izolatları sıklıkla kullanılan aminopenisilinler, üreidopenisilinler, dar ve geniş spektrumlu sefalosporinler, sefamisinler aminoglikozitler gibi antibiyotiklerin büyük kısmına yüksek oranda direnç göstermektedir. Seftazidim, sefotaksim gibi geniş spektrumlu sefalosporinler, imipenem, tobramisin, amikasin ve florokinolonlara karşı duyarlılık halen değişik oranlarda devam etmektedir. Acinetobacter suşlarında beta laktam antibiyotiklere direnç en sık kromozom ve plazmidler tarafından kodlanan beta laktamazların varlığına bağlıdır. Bunun yanı sıra dış membran geçirgenliğinin azalması PBP'lerin afinitesinde azalma da beta laktam antibiyotik direncine yol açmaktadır.¹⁰⁴ Çalışmamızda Acinetobacter suşlarının tümünün piperasilin, tikarsilin, sefotaksim ve trimetoprim-sulfametaksazol'e dirençli olduğu saptanmıştır. Bu suşlar imipenem ve tobramisine duyarlı iken, %75'i meropeneme duyarlı bulunmuştur. Metan ve arkadaşları (2006, s.26) GSBL pozitif *A.baumannii* suşlarında imipenem ve meropenem duyarlılığını %49.1 bulmuşlardır.¹⁰⁵ Yurtsever ve arkadaşları (2008, s.148) *A.baumannii*'nin antibiyotik duyarlılıklarını incelediklerinde en etkili antibiyotiğin %87 etkinlik oranında sefoperazon/sulbaktam olduğu ve bunu %65 oranında imipenemin izlediğini bulmuşlardır.¹⁰⁶ Ayyıldız ve arkadaşları (2002, s.2) *Acinetobacter* spp.'de imipeneme duyarlılığı %97 bulmuşlardır.¹⁰⁷

Sonuç olarak gram negatif enterik ve nonfermantatif bakteriler hastane enfeksiyonlarında ve bunların tedavisinde sorun olan bakterilerdir. Ülkemizde olduğu gibi hastanemizde de antibiyotiklere dirençli GSBL ve İBL üreten suşlar sıklıkla izole edilmektedir. Buna karşın MBL ve gizli MBL üreten suşların saptanmaması sevindiricidir. Çalışmamızda karbapenemlere duyarlı ve orta duyarlı olan suşların hiçbirinde MBL üretimi saptanmamıştır fakat GSBL ve İBL üreten suşlar bulunmuştur. Bu çalışma; İBL ve GSBL'lara bağlı direncin izlenmesi ve yaygınlığının bilinmesi açısından, hastanenin antibiyotik kullanım politikası için yol gösterici olacaktır.

11. SONUÇLAR

1. Toplam 135 gram negatif bakteride MBL enzimi saptanmadı.
2. Çalışmamızda, 135 suşun % 24.4'ünün GSBL, %12.6'sının İBL ürettiği saptandı.
3. İncelenen 65 *E.coli*'nin %28'inin, 24 *Klebsilla* spp. suşlarının %25'inin, 12 *Enterobacter* spp. suşlarının %25'inin, 8 *Serratia marcescens*'in %50'sinin GSBL ürettiği bulundu. Çalışmaya alınan 20 *P.aeruginosa*'nın, 12 *Enterobacter* spp. suşlarının ve 2 *M.morganii*'nin %50'sinin İBL ürettiği bulundu.
4. Çalışmamızda kullanılan tüm suşlar imipeneme %100 duyarlı bulunmakla birlikte, meropeneme %98.5 ve ertapeneme %97 oranında duyarlı bulundu.
5. GSBL üreten Enterobacteriaceae ailesi üyelerine en etkili antibiyotiklerin sırasıyla amikasin (%87.1), sefoksitin (%80.6) ve kloramfenikol (%74.2) olduğu bulundu.
6. Nonfermantatif gram negatif basillere en etkili antibiyotiklerin sırasıyla tobramisin (%95.8), amikasin (91.7) ve piperasilin/tazobaktam ile siprofloksasin (%83.3) olduğu bulundu.

KAYNAKLAR

- [1] Vahaboğlu, H. (2001). Gram Negatif Mikroorganizmaların Beta- Laktamaz Direnci, Kocaeli Üniversitesi Tıp Fakültesi, Klinik Mikrobiyoloji ve İnfeksiyon Hastalıkları AD., Kocaeli.
- [2] Livermore D. M. ve Woodford N. (2000). Carbapenemases: A Problem In Waiting?, Curr. Opin. Microbiol., 3:489-495.
- [3] Johann D. D. Pitout, Gregson B., Poirel L., McClure j.A., Phillip Le ve Church L. (2005). Detection of *Pseudomonas aeruginosa* Producing Metallo-Beta-Lactamases in a Large Centralized Laboratory, Journal of Clinical Microbiology, July, p. 3129-3135.
- [4] Ambler RP. (1980). The Structure of Beta-Lactamases, Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci ;289(1036):321-331.
- [5] Franklin C., Liolios L. ve Peleg Y. (2006). Phenotypic Detection of Carbapenem-Susceptible Metallo-Beta-Lactamase-Producing Gram-Negative Bacilli in Clinical Laboratory, Journal of Clinical Microbiology, Sept., p. 3139-3144.
- [6] Watanabe, M., Iyobe S., Inoue M. ve Mitsuhashi S. (1991). Transferable Imipenem Resistance in *Pseudomonas aeruginosa*, Antimicrob. Agents Chemother., 35:147-151.
- [7] Walsh T. R., Toleman M. A., Poirel L. ve Nordmann P. (2005). Metallo-Beta-Lactamases: The Quiet Before The Storm?, Clin. Microbiol. Rev., 18:306-325.
- [8] Cornaglia, G., Mazzariol A., Lauretti L., Rossolini G. M. ve Fontana R. (2000). Hospital Outbreak of Carbapenem-Resistant *Pseudomonas aeruginosa* Producing VIM-1, a Novel Transferable Metallo-Beta-Lactamase, Clin. Infect. Dis., 31:1119-1125.
- [9] Nordmann P. ve Poirel L. (2002). Emerging Carbapenemases in Gram Negative Aerobes, Clin. Microbiol. Infect., 8:321-331.
- [10] Erkoç F., Türkmenoğlu F. (2007). Enterobacteriaceae Genel Özellikleri, Gazi Eğitim Fakültesi, Ankara.
- [11] Gıda Maddelerinde *Salmonella* ile *E.coli* Aranma ve Sayılma Yöntemlerinin Karşılaştırılması, Ankara Üniversitesi Araştırma Fonu Proje No 92111201
- [12] Bilgehan H. (2004). Klinik Mikrobiyolojik Tanı, Fakülteler Kitabevi, İzmir, 428-429s.
- [13] Bilgehan H. (2000). Klinik Mikrobiyoloji Özel Bakteriyoloji ve Bakteri Enfeksiyonları, Fakülteler Kitabevi, İzmir, 1-3s.
- [14] Essack SY. (2001). The Development of Beta-Lactam Antibiotics in Response to the Evolution of Beta-Lactamases, Pharmaceutical Research, 18:1391-9.
- [15] Gür D. (1997). Hastane İnfeksiyonlarında Önem Kazanan Gram Negatif Bakterilerde Antibiyotiklere Direnç Mekanizmaları, Hastane İnfeksiyonları Dergisi, 1:38-45.
- [16] Opal SM., Mederios AA. (2005). Molecular Mechanisms of Antibiotic Resistance in Bacteria, In: Mandell GL., Bennett JE., Dolin R.(eds), Principles and Practice of Infectious Disease, Sixth edition, Pennsylvania: Elsevier Churchill Livingstone Inc, 253-70.
- [17] Esen Ş. (2001). Penisilinler, İnfeksiyon Dergisi, 175-177.
- [18] Chambers HF. (2005). Penicillins, In: Mandell GL., Bennett JE., Dolin R.(eds), Principles and Practice of Infectious Diseases, Sixth edition, Pennsylvania: Elsevier Churchill Livingstone Inc, 281-93.
- [19] Esen Ş. (2001). Sefalosporinler, İnfeksiyon Dergisi, 179-182.
- [20] Esen Ş. (2001). Monobaktamlar, İnfeksiyon Dergisi, 183.

- [21] Sünbül M. (2001). Karbapenemler, *İnfeksiyon Dergisi*, 185-187.
- [22] Bonfiglio G., Russo G., Nicoletti G. (2002). Recent Developments in Carbapenems, *Expert Opin Investig Drugs*, 11(4):529-44.
- [23] Basoli A., Az M., Mazzocchi P., Speranza V., ve study group. (1997). Imipenem/Silastatin (1.5g daily) Versus Meropenem (3.0g daily) in Patient with Intraabdominal Infections: Results of Prospective, Randomized, Multicentre Trial, *Scand J Infect Dis.*, 29:503-8.
- [24] Malouin F., Bryan LE. (1989). Modification of Penicillin-Binding Proteins as Mechanism of Beta-lactam Resistance, *Antimicrob Agents Chemother.*, 30:1-5.
- [25] Gür D. (2004). Gram Negatif Bakterilerde Antibakteriyel Direnç Mekanizmaları, In: Ulusoy S., Leblebicioğlu H., Arman D. (editörler), *Önemli ve Sorunlu Gram Negatif Bakteri İnfeksiyonları*, Ankara, 69-83.
- [26] Yorgancıgil B. (1999). Beta-Laktam Antibiyotiklere Karşı Oluşan Direnç Mekanizmaları, *Turgut Özal Tıp Merkezi Dergisi*, 6(2).
- [27] Jehl F., Chomarat M., Weber M., Gerard A. (2003). Antibiyotik Duyarlılık Testinden Reçeteye, *Biomerieux Yayınları*.
- [28] Bradford PA. (2001). Extended-Spectrum Beta-Lactamases in the 21 st Century: Characterization, Epidemiology and Detection of This Important Resistance Threat, *Clin Microbial Rev.*, 14:933-51.
- [29] Pool K. (2004). Resistance to Beta-Lactam Antibiotics, *Cell mol life sci.*, 61:2200-23.
- [30] Gür D. (1997). β -Laktamazlar, *Flora Dergisi*, 2(Ek3):1-18.
- [31] Bush K., Jacoby GA., Medeiros AA. (1995). A Functional Classification Scheme for Beta-Lactamases and its Correlation with Molecular Structure, *Antimicrob Agents Chemother.*, 39:1211-33.
- [32] Gür D. (2002). β - Laktamazlar, *Hacettepe Tıp Dergisi*, 33(2):102-109.
- [33] Livermore DM. (1995). Beta-Lactamases in Laboratory and Clinical Resistance, *Clin Microbial Rev.*, 8:557-84.
- [34] Yuluğ N. (1997). Beta-Laktamazlar ve Klinik Açısından Önemi, *ANKEM Dergisi*, 11:205-5.
- [35] Livermore DM. (1998). Beta-Lactamase Mediated Resistance and Opportunities for its Control, *J. Antimicrob Chemother.*, 41(suppl D):24-41.
- [36] Danel F., Hall LMC., Gür D., Akalın HE., Livermore DM. (1995). Transferable Production of PER-1 Beta-Lactamase in *Pseudomonas aeruginosa*, *J Antimicrob Chemother.*, 35:281-94.
- [37] Vahapoğlu H., Hall LM., Mülazımoğlu L., et al. (1995). Resistance to Extended Spectrum Cephalosporins, Caused By PER-1 Beta-Lactamase in *Salmonella typhimurium* from Istanbul, Turkey, *J Med Microbiol.*, 43:294-9.
- [38] Hall LMC., Livermore DM., Gür D., Akova M., Akalın HE. (1993). OXA-11, An Extended Spectrum Variant of OXA-10(PSE-) Beta-Lactamase from *Pseudomonas aeruginosa*, *Antimicrob Agents Chemother.*, 37:1637-44.
- [39] Bush, K. (1996). Metallo- β -Lactamases: A Class Apart, *Clin. Infect. Dis.*, 27:S48-S53.
- [40] Lee, K., Shin HB., Kim YA., Young D., Yum JM. (2001). Modified Hodge and EDTA-Disk Synergy Tests to Screen Metallo-Beta-Lactamase Producing Strains of *Pseudomonas* and *Acinetobacter species*, *Clin Microbial Infect.*, 7:88-91.
- [41] Rasmussen BA., Bush K. (1997). Carbapenem-Hydrolyzing Beta-Lactamases, *Antimicrob Agents Chemother.*, 41:223-32.
- [42] Amyes SGB. (1997). Carbapenemases. *ANKEM Dergisi*, 11(2):221-5.

- [43] Hancock REW. (1989). Resistance Mechanisms in *Pseudomonas aeruginosa* and Other Nonfermentative Gram-Negative Bacteria, Clin Infect Disease, 27(Suppl 1):93-9.
- [44] Lee EH., Nicolas MH., Kitzis MD., et al. (1991). Association of Two Resistance Mechanisms in a Clinical Isolate of *Enterobacter cloacae* with High-Level Resistance to Imipenem, Antimicrob Agents Chemother., 35:1093-8.
- [45] Bradford PA., Urban C., Mariano N., et al. (1997). Imipenem Resistance in *Klebsiella pneumonia* is Associated with The Combination of ACT-1, A Plasmid-Mediated AmpC Beta-Lactamase, and Loss of An Outer Membrane Protein, Antimicrob Agents Chemother., 41:563-9.
- [46] Koh T.H., Babini G.S., Woodford N., Sng L.H., Hall L.M., Livermore D.M. (1999). Carbapenem-Hydrolyzing IMP -1 β - Lactamase in *Klebsiella pneumoniae* in Singapore, Lancet, 353:2162.
- [47] Özgümüş O., Ceylan R., Tosun I., Sandalli C., Aydın K., Köksal I. (2007). Molecular Epidemiology of Clinical *Pseudomonas aeruginosa* Isolates Carrying IMP-1 Metallo-Beta-Lactamase Gene in a University Hospital in Turkey, Microb Drug Resist., 13(3):191-8.
- [48] Osano E., Arakawa Y., Wacharotayankun R., et al. (1994). Molecular Characterization of An Enterobacterial Metallo-Beta-Lactamase Found in A Clinical Isolate of *Serratia marcescens* that Shows Imipenem Resistance, Antimicrob Agents Chemother., 38:71-8.
- [49] Riccio ML., Franceschini N., Boschi L., et al. (2000). Characterization of the Metallo-Betalactamase Determinant of *Acinetobacter baumannii* AC-54/97 Reveals The Existence of BlaIMP Allelic Variants Carried By Gene Cassettes of Different Phylogeny, Antimicrob Agents Chemother., 44:1229-35.
- [50] Özsoy MF., Öncül O., Yıldırım A., Pahsa A. (2001). Genişletilmiş-Spektrumlu Beta Laktamazlar: Klinik Önemi ve Getirdiği Sorunlar, Flora, 6(Ek1):3-23.
- [51] Lauretti L., Riccio ML., Mazzariol A., et al. (1999). Cloning and Characterization of BlaVIM, A New Integron-Borne Metallo-Beta-Lactamase Gene From A *Pseudomonas aeruginosa* Clinical Isolate, Antimicrob Agents Chemother., 43:1584-90.
- [52] Antibiyotik Duyarlılık Testlerinin Standardizasyonu Toplantısı (1997). Türk Mikrobiyoloji Cemiyeti Yayını, No:33, İstanbul.
- [53] Şanlıdağ T., Öztop Y., Saygı G. (1998). *P.aeruginosa* Suşlarında İndüklenebilir Beta Laktamaz Belirlenmesinde İki Farklı Yöntemin Etkinliğinin Karşılaştırılması, Türk Mikrobiyal Cem Derg., 28:34-36.
- [54] Dolapçı İ. (2005). Genişlemiş Spektrumlu Beta Laktamazlar: Klinik Mikrobiyoloji Laboratuvarı, Tedavi ve Enfeksiyon Kontrolündeki Rollerini, Mikrobiyoloji Bülteni, 39:229-240.
- [55] Shibata N., Doi Y., et all. (2003). PCR Typing of Genetic Determinants for Metallo- β -Lactamases and Integrases Caried by Gram-Negative Bacteria Isolated in Japan, with Focus on the Class 3 Integron, Journal of Clinical Microbiology, December, p.5407-5413.
- [56] Arakawa Y., Shibata N., Shibayama K., Kurokawa H., Yagi T., Fujiwara H., Goto M. (2000). Convenient Test for Screening Metallo- β -Lactamase-Producing Gram-Negative Bacteria by Using Thiol Compounds, Journal of Clinical Microbiology, January, p. 40-43.
- [57] Yong D., Lee K., Yum JM., Shin HB., Rossoloni GM., Chong Y. (2002). Imipenem –EDTA Disk Method for Differentiation of Metallo-Beta- Lactamase

- Producing Clinical Isolates of *Pseudomonas spp.* and *Acinetobacter spp.*, J Clin Microbiol., 40:3798-3801.
- [58] Attendrick D., Krenz M., Balows A., Ed. (1991). Reagents and Strains, Washington: ACM, Manuel of Clinical Microbiology Fifth Ed., 148p.
- [59] Clinical and Laboratory Standards Institute/NCCLS. (2007). Performance Standards for Antimicrobial Disk Susceptibility Testing, 15th Informational Supplement, CLSI/NCCLS M100-S15, Clinical and Laboratory Standards Institute, Wayne, Pa.
- [60] Ekşi F., Bayram A., Balcı İ., Özer G. (2007). *Pseudomonas aeruginosa* Suşlarında İndüklenebilir Beta-Laktamaz Aktivitesinin ve Antibiyotiklere Direncin Araştırılması, Türk Mikrobiyoloji Cemiyeti Dergisi, 37(3), 142-146.
- [61] Ünalı Ö., Engin D., Çırak M. (2007). Genişlemiş Spektrumlu Beta-Laktamaz Üretiminde Saptanmasında Agar Tarama Plakları ve Çift Disk Sinerji Yönteminin Karşılaştırılması, Mikrobiyoloji Bülteni, 41:369-376.
- [62] Ekşi F., Özer G, Balcı İ. (2007). Kısa Bildiri: *Escherichia coli* ve *Klebsiella spp.* Klinik İzolatlarında Genişlemiş Spektrumlu Beta-Laktamaz Sıklığının ve Antibiyotik Direncinin Araştırılması, Mikrobiyoloji Bülteni, 41:447-452.
- [63] Fritshe TR., Sader HS., Toleman MA., Walsh TR., Jones RN. (2005). Emerging Metallo-Beta-Lactamase-Mediated Resistances: A Summary Report from The Worldwide Sentry Antimicrobial Surveillance Program, Clin Infect Dis., 41:S276-8.
- [64] Şanlıdağ T., Çakır N., Özçelik S., Çeliksöz A., Saygı G. (1996). Hastane Kaynaklı İnfeksiyonlardan Soyutlanan *Pseudomonas aeruginosa* Suşlarına Antipseudomonal Antibiyotiklerin İn Vitro Etkinliği, 11. Antibiyotik ve Kemoterapi (ANKEM) Kongresi, Ankem Dergisi, 10(2):101.
- [65] Koşan E., Kocabeyoğlu Ö., Özcan Ş., ve ark. (1996). Meropenem İle İmipenemin İn Vitro Olarak Gram-Negatif Bakteriler Üzerine Etkinliğinin Karşılaştırma Olarak Araştırılması, 11. Antibiyotik ve Kemoterapi (ANKEM) Kongresi, ANKEM Dergisi, 10(2):102.
- [66] Öztürk R., Köksal F., Eroğlu C., et al. (1996). The Resistance Pattern of *Acinetobacter* species, 10th Mediterranean Congress of Chemotherapy, Antalya.
- [67] Nas Y., Sünbül M., Saniç A., Günaydın M., Leblebicioğlu H. (1996). *Enterobacteriaceae* ve *Pseudomonas aeruginosa* Suşlarında Antibiyotik Direncinin E Test İle Belirlenmesi, 11. Antibiyotik ve Kemoterapi (ANKEM) Kongresi, ANKEM Dergisi, 10(2):100.
- [68] Gençer S., Ak Ö., Benzonana N., Batırel A., Özer S. (2002). Susceptibility Patterns and Cross Resistances of Antibiotics Against *Pseudomonas aeruginosa* in A Teaching Hospital of Turkey, Ann Clin Microbiol Antimicrob., 1:2.
- [69] Champs C., Henguell C., Guelon D., et al. (1993). Clinical and Bacteriological Study of Nosocomial Infections Due to *Enterobacter aerogenes* Resistant to Imipenem, J Clin Microbiol., 31(1):123-7.
- [70] Erdeniz H., Derbentli Ş. (1995). Klinik Örneklerden İzole Edilen Gram-Negatif Çomak Şeklindeki Bakterilerde Antibiyotik Direnci, ANKEM Dergisi, 90-94.
- [71] Bal Ç., Bauernfeind A., Aydın AE., Amıç Ö. (1995). Çoğul Dirençli *Klebsiella pneumonia* Suşlarında Plazmidik Sefamisinaz CMY 2, İnfeks Dergisi, 9(1-2):67-9.
- [72] Luzzaro F., Endimiani A., Docquier JD., et al. (2004). Prevalance and Characterization of Metallo-Beta-Lactamases in Clinical Isolates of *Pseudomonas aeruginosa*, Diag Microbiol Infect Dis., 48(2):131-5.
- [73] Lee K., Lim Y.S., Young D., Yum JH., Chong Y. (2003). Evaluation of Hodge Test and The Imipenem-EDTA Double-Disk Sinergy Test for Differentiating

- Metallo-B-Lactamase-Producing Strains of *Pseudomonas* and *Acinetobacter* species, J. Clin. Microbiol, 41:4623-4629.
- [74] Oh E.J., Lee S., et al. (2003). Prevalence of Metallo-B-Lactamase Among *Pseudomonas aeruginosa* and *Acinetobacter baumannii* in Korean University Hospital and Comparison of Screening Methods for Detecting Metallo-B-Lactamase, Journal of Microbiological Methods, 54; 411-418.
- [75] Jesudason MV., Kandathil AJ., Balaji V. (2005). Comparison of Two Methods to Detect Carbapenemase and Metallo-Beta-Lactamase-Production in Clinical Isolates, Indian J Med Res., 121:780-3.
- [76] Yan J.J., Wu J.J., Tsai S.H., Chuang C.L. (2004). Comparison of The Double-Disk, Combined Disk, and E Test Methods for Detecting Metallo-Beta-Lactamases in Gram-Negative Bacilli, Diagn. Microbiol. Infect. Dis., 49:5-11.
- [77] Pitout JD., Gregson DB., Pirel L., McClure JA., Le P., Church DL.(2005). Detection of *Pseudomonas aeruginosa* Producing Metallo-Beta-Lactamases in Large Centralized Laboratory, J Clin Microbiol, p.3129-3135.
- [78] Jones RN., Deshpande LM., Bell JM., et al. (2004). Evaluation of The Contemporary Occurrence rates of Metallo-B-Lactamase in Multidrug-Resistant Gram-Negative Bacilli in Japan: Report from the SENTRY Antimicrobial Surveillance Program (1998-2002), Diag Microbiol Infect, 49:289-94.
- [79] Lee K., Lim JB., Yum JH., et al. (2002). *blaVIM-2* Cassette-Containing Novel Integrons in Metallo-Beta-Lactamase-Producing *Pseudomonas aeruginosa* and *Pseudomonas putida* Isolates Disseminated in a Korean Hospital, Antimicrob Agents Chemother., 46:1053-8.
- [80] Lee K., Lee WG., Uh Y., et al. (2003). VIM and IMP Type Metallo-Beta-Lactamase Producing *Pseudomonas spp.* and *Acinetobacter spp.* in Korean Hospitals, Emerg Infect Dis., 9:868-71.
- [81] Koh TH., Wang GC., Sng LH. (2004). IMP-1 and Novel Metallo-Beta-Lactamase, VIM-6, in Fluorescent *Pseudomonas* Isolated in Singapore, Antimicrob Agents Chemother., 48(6):2334-6.
- [82] Walsh TR., Balmström A., Owarnström A., Gales A. (2002). Evaluation of a New Etest for Detecting Metallo-Beta-Lactamases in Routine Clinical Testing, J Clin Microbiol., 40:2755-9.
- [83] Bahar G., Mazzoriol A. Koncan R., Mert A., Fontana R., Rossolini GM., Cornaglia G. (2004). Detection of VIM-5 Metallo-Beta-Lactamase in a *Pseudomonas aeruginosa* Clinical Isolate from Turkey, J. Antimicrob. Chemother., 54:282-283.
- [84] Midilli K., Aygün G., Kuskucu M., et al. (2003). A Novel Metallo- β -Lactamase (VIM-5) from a Clinical Isolate of *Klebsiella pneumoniae*, 275, In H. Eraksoy (ed.), Proceeding of The KLIMIK Congress, Tavaslı Matbaası, İstanbul, Turkey.
- [85] Altöparlak U., Aktaş F., Çelebi D., Özkurt Z., Akçay M.N. (2005). Prevalence of Metallo-Beta-Lactamase Among *Pseudomonas aeruginosa* and *Acinetobacter baumannii* Isolated from Burn Wounds and in Vitro Activities of Antibiotic Combinations Against These Isolates, Elsevier, Burns, 31;707-710.
- [86] Toraman ZA., Yakupogulları Y., Kizirgil A. (2004). Detection of Metallo-Beta-Lactamase Production and Antibiotic Resistance with E Test Method in *Pseudomonas*, *Acinetobacter* and *Klebsiella* Strains in Turkey, J Infect Chemother., 10:257-61.
- [87] Gaçar G., Midilli K., Kolaylı F., Ergen K., Gündeş S., Hoşoğlu S., Karadenizli A., Vahaboğlu H. (2005). Genetic and Enzymatic Properties of Metallo- β - Lactamase VIM-5 from a Clinical Isolate of *Enterobacter cloacae*, Antimicrobial Agents and Chemotherapy, October, p. 4400-4403.

- [88] Çakar A. (2005). Hacettepe Üniversitesi Hastaneleri' nde Ayrıştırılan *Pseudomonas aeruginosa* İzolatlarında Metallo-Beta-Laktamaz Enziminin Fenotipik ve Genotipik Yöntemlerle Ayrıştırılması, Doktora Tezi, Hacettepe Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Mikrobiyoloji Programı, Ankara.
- [89] Fidan I., Çetin Gürel F., Yüksel S., Sultan N. (2005). *Pseudomonas aeruginosa* Suşlarında Antibiyotik Direnci ve Metallo-Beta-Laktamaz Sıklığı, ANKEM Dergisi, 19(2):68-70.
- [90] Yıldırım I., Ceylan M., Gür D., Mugnaioli G.M., Rossoloni. First Detection of VIM-1 Type Metallo- β – Lactamase in a Multidrug-Resistant *Klebsiella pneumoniae* Clinical Isolate from Turkey also Producing The CTX-M-15 Extended-Spectrum β – Lactamase, Ankara, TR; Siena, IT.
- [91] Aşık L. (2006). *Pseudomonas* ve *Acinetobacter* Klinik İzolatlarında Metallo-Beta-Laktamaz Üretimini Araştırılması, Yüksek Lisans Tezi, İstanbul Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji ABD, İstanbul.
- [92] Yakupoğulları Y., Kızırgil A., Doğukan M. (2008). VIM-5 Metallo-B–Lactamase-Producing *Pseudomonas putida* from Turkey, International Journal of Antimicrobial Agents.
- [93] Alıcı Ö., Açıkgöz Z.C., Göçer S., Gamberzade Ş., Karahocagil M.K. (2006). Kısa Bildiri: Gram Negatif Çomaklarda Geniş Spektrumlu Beta-Laktamaz Sıklığı:2001-2004 Yılı Verileri, Mikrobiyoloji Bülteni, 40:355-361.
- [94] Bülüş M., Gürol Y., Bal Ç. (2003). Genişlemiş Spektrumlu Beta Laktamaz Oranları 2000-2002, Türk Mikrobiyoloji Cemiyeti Dergisi, 33:31-34.
- [95] Akata F., Tatman-Otkun M., Özkan E., Tansel O., Oktun M., Tuğrul M. (2003). Prevalence of Extended Spektrum Beta-Lactamases Produced By Nosocomial Isolates of *Enterobacteriaceae* in Trakya University Hospital,Turkey, New Microbiol., 26:257-62.
- [96] Güler Ö., Aktaş O., Uslu H. (2008). Klinik Örneklerden İzole Edilen Bakterilerde Beta-Laktamaz Varlığının ve Çeşitli Antibiyotik Gruplarına Karşı Duyarlılıklarının Araştırılması, ANKEM Dergisi, Cilt 22 (2):72-80.
- [97] Gülay Z., Yüce A., Yuluğ N. (2005). *Klebsiella pneumoniae* ve *E.coli* Suşlarında Değişik Beta Laktamaz İnhibitörleri Kullanılarak Genişlemiş Spektrumlu Beta Laktamaz Üretimini Saptanması, ANKEM Dergisi, 12:469.
- [98] Tünger Ö., Sürücüoğlu S., Özbakkaloğlu B., Gazi H. (2001). Toplum Kökenli ve Nozokomiyal İdrar Yolu Enfeksiyonlarından İzole Edilen *Escherichia coli* Suşlarında Genişlemiş Spektrumlu Beta-Laktamaz Varlığının Araştırılması ve Çeşitli Antibiyotiklere Duyarlılıkları, Mikrobiyoloji Bülteni, 35:351-357.
- [99] Gönüllü N., Canberk M.B., Filiz Ö. (2008). Çeşitli Klinik Örneklerden Üretilen *Escherichia coli* Kökenlerinde Antibiyotik Duyarlılıkları ve Beta-Laktam Direnç Fenotipleri, ANKEM Dergisi, Cilt 22 (2):64-68.
- [100] Kayman T., Ayangil D. (2007). Kayseri Eğitim ve Araştırma Hastanesinde İzole Edilen *Enterobacteriaceae* İzolatlarının Antibiyotik Duyarlılıkları, ANKEM Dergisi, Cilt 21 (4):203-207.
- [101] Gayyurhan E., Zer Y., Mehli M., Akgün S. (2008). Yoğun Bakım Ünitesi Hastalarından İzole Edilen *Pseudomonas aeruginosa* Suşlarının Antibiyotik Duyarlılıkları ve Metallo-Beta Laktamaz Oranlarının Belirlenmesi, İnfeksiyon Dergisi, 22(1):49-52.
- [102] Fincancı T., Hoşgör M., Efkân S. (2000). Klinik Örneklerden İzole Edilen *Pseudomonas* Suşlarının Antibiyotiklere Duyarlılıkları, Türk Mikrobiyoloji Cemiyeti Dergisi, 36(3):499-505.

- [103] Şener K., Haşçelik G., Akova M. (2001). *Pseudomonas aeruginosa* ve *Acinetobacter baumannii* Suşlarında Genişlemiş Spektrumlu Beta-Laktamaz Varlığının Saptanmasında Farklı Fenotipik Yöntemlerin Karşılaştırılması, Mikrobiyoloji Bülteni, 39:15-18.
- [104] David M., Livermore and Neil Woodford. (2006). The β - Lactamase Threat in *Enterobacteriaceae*, *Pseudomonas* and *Acinetobacter*, Trends in Microbiology, Vol.14 No:9.
- [105] Metan G., Zarakoğlu P., Haşçelik G., Akova M. (2006). Fenotipik Olarak Genişlemiş Spektrumlu Beta-Laktamaz Ürettiği Belirlenen *Pseudomonas aeruginosa* ve *Acinetobacter baumannii* İzolatlarının Çeşitli Antimikrobilyallere Duyarlılık Durumu, Mikrobiyoloji Bülteni, 40:23-28.
- [106] Yurtsever S., Altın N., El S. ve arkadaşları. (2008). Hastane İnfeksiyonu Etkeni Olarak Çeşitli Klinik Örneklerden İzole Edilen *Acinetobacter baumannii* İzolatlarının Antibiyotik Duyarlılıkları, ANKEM Dergisi, Cilt 22 (3):148-152.
- [107] Ayyıldız A., Kocazeybek B., Arıtürk S. (2002). Değişik Klinik Örneklerden İzole Edilen *Acinetobacter* ve *Pseudomonas* Suşlarının Antibiyotik Duyarlılıkları, ANKEM Dergisi, Cilt 16 (No 1):1-3.

ÖZGEÇMİŞ

<u>Kişisel bilgiler</u>	
Adı Soyadı	Pınar Kaymak
Doğum Yeri ve Tarihi	Sivas, 02/01/1978
Medeni Hali	Evli
Yabancı Dil	İngilizce
İletişim Adresi	İhramcızade Cad. Işık Apt. A Blok No:8-Sivas
E-posta Adresi	pbirtez@hotmail.com

<u>Eğitim ve Akademik Durumu</u>	
Lise	Sivas Lisesi, 1995
Lisans	Hacettepe Üniversitesi, 2001
Yüksek Lisans	Cumhuriyet Üniversitesi, 2009

<u>İş Tecrübesi</u>	
Gazi Ün. Hastanesi	Biyolog, 2004-2005
Anadolu Tıp Tek.	Kalite Güvence Müdürü, 2005-