



**T.C.
MUSTAFA KEMAL ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**KAFES KUŞLARINDA GENİŞLEMİŞ SPEKTRUMLU BETA LAKTAMAZ
SENTEZLEYEN *ESCHERICHIA COLI* VARLIĞININ
ARAŞTIRILMASI**

Ayşe DOLAR

BİYOLOJİ ANABİLİM DALI

YÜKSEK LİSANS TEZİ

**HATAY
ŞUBAT- 2015**



T.C.
MUSTAFA KEMAL ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**KAFES KUŞLARINDA GENİŞLEMİŞ SPEKTRUMLU BETA LAKTAMAZ
SENTEZLEYEN *ESCHERICHIA COLI* VARLIĞININ
ARAŞTIRILMASI**

Ayşe DOLAR

BİYOLOJİ ANABİLİM DALI

YÜKSEK LİSANS TEZİ

**HATAY
ŞUBAT- 2015**

T.C.
MUSTAFA KEMAL ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

KAFES KUŞLARINDA GENİŞLEMİŞ SPEKTRUMLU BETA LAKTAMAZ
SENTEZLEYEN *ESCHERICHIA COLI* VARLIĞININ
ARAŞTIRILMASI

AYŞE DOLAR

BİYOLOJİ ANABİLİM DALI

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Yrd. Doç. Dr. Ebru Şebnem YILMAZ danışmanlığında hazırlanan bu tez 18/02/2015 tarihinde aşağıdaki jüri üyeleri tarafından **OYBİRLİĞİ** ile kabul edilmiştir.

Yrd. Doç. Dr. Ebru Şebnem YILMAZ
Başkan

Prof. Dr. Özkan ASLANTAŞ

Üye

Yrd. Doç. Dr. Emine AKSAN
ALDANMAZ

Üye

Kod No:

Doç. Dr. OKAN ŞENER
Enstitü Müdürü

Bu çalışma MKÜ Bilimsel Araştırma Projeleri Komisyonu tarafından desteklenmiştir.
Proje No: 11122

Not: Bu tezde kullanılan özgün ve başka kaynaktan yapılan bildirişlerin, çizelge, şekil ve fotoğrafların kaynak gösterilmeden kullanımı, 5846 sayılı Fikir ve Sanat Eserleri Kanunundaki hükümlere tabidir.

18.02.2015

TEZ BİLDİRİMİ

Tez içindeki bütün bilgilerin etik davranış ve akademik kurallar çerçevesinde elde edilerek sunulduğunu, tez yazım kurallarına uygun olarak hazırlanan bu çalışmada bana ait olmayan her türlü ifade ve bilginin kaynağına eksiksiz atıf yapıldığını ve tez üzerinde Yükseköğretim Kurulu tarafından hiçbir değişiklik yapılamayacağı için tezin bilgisayar ekranında görüntülendiğinde asıl nüsha ile aynı olması sorumluluğunun tarafıma ait olduğunu beyan ederim.

Ayşe DOLAR

ÖZET

KAFES KUŞLARINDA GENİŞLEMİŞ SPEKTRUMLU BETA-LAKTAMAZ SENTEZLEYEN *Escherichia coli* VARLIĞININ ARAŞTIRILMASI

Genişlemiş spektrumlu beta-laktamaz (GSBL) sentezleyen *Escherichia coli* izolatlarının veya *Enterobacteriaceae* üyelerinin prevalansındaki artış, Türkiye dahil olmak üzere tüm dünyada yaygın olarak bulunmakta ve gittikçe büyüyen bir sorun olarak karşımıza çıkmaktadır. Bu tez çalışmasında, Hatay ilinde kafes kuşu yetiştiriciliği yapan petshop'lardan alınan farklı kuş türlerine ait gaita örneklerinde GSBL sentezleyen *E. coli* varlığının belirlenmesi amaçlandı. Gaita örnekleri 2 µg/ml sefotaksim içeren Eosine Methylene Blue (EMB) agara ekildi. Fenotipik doğrulama testleriyle konfirme edilen pozitif izolatların GSBL tipi Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PZR) ve DNA dizi analizi ile araştırıldı. GSBL üreten izolatların antimikrobiyal duyarlılıkları disk difüzyon yöntemiyle, filogenetik gruplanması ise PZR ile tespit edildi. GSBL sentezleyen *E. coli* gaita örneklerin % 2,7'sinden (4/150) izole edildi. GSBL sentezleyen % 2,7 *E. coli* suşlarında, GSBL genleri *bla*_{TEM-1b} (n=4), *bla*_{CTX-M-15} (n=2), *bla*_{CTX-M-1} (n=2) olarak tespit edildi. *bla*_{OXA} ve *bla*_{SHV} genleri ise tespit edilmedi. İzolatların tamamı gentamisin, imipenem, sefotetan, amikasin, sefoksitin ve tobramisine duyarlı bulunurken; ampisilin (%100), amoksisilin/klavulanik asit (%100), aztreonam (%100), nalidiksik asit (%100), cefalotin (%100), siprofloksasin (%100), tetrasiklin (%100), sefepime (%50), kloramfenikol (%50), streptomisin (%50), sülfametoksazol/trimetoprim (%50) ve kanamisine (%25) ise değişen oranlarda direnç belirlendi. Filogenetik analizler sonucu GSBL pozitif izolatların tamamının B1 grubuna ait olduğu bulundu.

Bu çalışma ile Türkiye'de ilk kez kafes kuşlarında fekal kaynaklı GSBL sentezleyen *E. coli* varlığı tespit edilmiştir. Ayrıca çalışma sonuçlarıyla, kafes kuşlarının potansiyel GSBL sentezleyen *E. coli* taşıyıcısı olduğu ve halk sağlığı açısından da potansiyel bir risk oluşturabileceği ortaya konmuştur.

2015, 46 sayfa

Anahtar Kelimeler: Genişlemiş spektrumlu beta-laktamaz, *Escherichia coli*, kafes kuşları, PZR

ABSTRACT

INVESTIGATION OF THE PRESENCE OF EXTENDED SPECTRUM BETA-LACTAMASE PRODUCING *Escherichia coli* IN CAGE BIRDS

The increase in the prevalence of *Escherichia coli* or other *Enterobacteriaceae* species which produce extended-spectrum beta-lactamases (ESBLs), have been extensively documented and have been an emerging public health problem all over the world, including Turkey. In this study, it was aimed to determine the presence of extended-spectrum beta-lactamase (ESBLs) producing *E. coli*, which is taken from numerous cage birds gaita samples from pet shops in the province of Hatay. Gaita samples were inoculated on to Eosine Methylene Blue (EMB) agar containing 2 µg/ml cefotaxime. The positive isolates were confirmed by phenotypic confirmatory test of ESBL types were investigated by Polymerase Chain Reaction (PCR) and DNA sequence analysis. Antimicrobial susceptibility of ESBL-producing isolates were determined by disk diffusion method, phylogenetic classification were determined by the PCR. ESBL-producing *E. coli* isolates achieved 2,7 % (4/150) from gaita samples. ESBL genes *bla*_{TEM-1b} (n=4), *bla*_{CTX-M-15} (n=2), *bla*_{CTX-M-1} (n=2) were determined. *bla*_{OXA} and *bla*_{SHV} genes were not detected. All ESBL positive isolates were sensitive to gentamicin, imipenem, cefotetan, amikacin, ceftazidime and tobramycin; ampicillin (100%), amoxicillin/clavulanic acid (100%), aztreonam (100%), nalidixic acid (100%), cephalotin (100%), ciprofloxacin (100%), tetracycline (100%), cefepime (50%), chloramphenicol (50%), streptomycin (50%), sulfamethoxazole/trimethoprim (50%) and kanamycin (25%) showed resistance in varying amounts. Phylogenetic analysis result of all ESBL positive isolates were detected to belong to the B1 group.

With this study, the presence of the fecal origin ESBL producing *E. coli* was determined in cage birds for the first time in Turkey. In addition, the study results showed that cage birds have potential ESBL *E. coli* carrier and potential risk for public health.

2015, 46 pages

Keywords: Extended-spectrum beta-lactamase, *Escherichia coli*, cage birds, PCR

TEŞEKKÜR

Yüksek Lisans öğrenimim süresince bana her türlü desteği veren, bilgi ve deneyimlerinden yararlandığım değerli danışman hocam Sayın Yrd. Doç. Dr. Ebru Şebnem YILMAZ'a, tezimin hazırlanmasında benden yine bilgi ve desteğini esirgemeyen, tüm laboratuvar imkanlarını sunan değerli hocam Prof. Dr. Özkan ASLANTAŞ'a tüm değerler ve paylaşımlar için, maddi destek sağlayan MKÜ Bilimsel Araştırma Projeleri Komisyonu'na (Proje No: 11122) teşekkürlerimi sunarım.

Her zaman sabrederek yardımlarını esirgemeyen aileme ve evliliğim boyunca bana daima destek olan eşim Ali Ecevit DOLAR'a, ayrıca 3,5 yaşındaki oğlum Ahmet Kerem DOLAR'a ve henüz doğmasına haftalar kalan oğlum Mustafa Kemal DOLAR'a, zaman zaman onları ihmal etmeme rağmen, onlardan aldığım güç ve sevgiyle tezimin çalışmaları süresince gösterdikleri sabırlarından dolayı teşekkür ediyorum.

İÇİNDEKİLER

ÖZET	I
ABSTRACT.....	II
TEŞEKKÜR.....	III
İÇİNDEKİLER	IV
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	VI
ÇİZELGELER DİZİNİ	VII
SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ	VIII
1. GİRİŞ.....	1
1.1. <i>E. coli</i> 'nin Genel Özellikleri	2
1.2. Antibiyotikler	3
1.2.1. Antibiyotiklerin Etki mekanizmaları	3
1.3. Beta-Laktam Antibiyotikler	5
1.3.1. Beta-Laktamazların Yapısı ve Genel Sınıflandırılması.....	5
1.3.1.1. Penisilinler	6
1.3.1.2. Sefalosporinler	6
1.3.1.3. Monobaktamlar	7
1.3.1.4. Karbapenemler	8
1.3.1.5. Beta Laktamaz İnhibitörleri	9
1.3.2. Bakterilerde Beta Laktamazlara Karşı Direnç Gelişimi	11
1.3.3. Beta-Laktamazların İsimlendirilmesi	11
1.3.4. Beta-Laktamazların Sınıflandırılması.....	12
1.3.5. Geniş Spektrumlu Beta Laktamazlar (GSBL).....	15
1.3.5.1. GSBL Türleri	15
1.3.5.1.1. TEM Grubu Enzimler	15
1.3.5.1.2. SHV Grubu Enzimler.....	15
1.3.5.1.3. CTX-M Grubu Enzimler.....	16
1.3.5.1.4. OXA Grubu Enzimler	17
1.3.5.1.5. İnhibitör Dirençli Beta Laktamazlar	17
1.3.5.1.6. Diğer GSBL Enzimleri	18
1.4. GSBL Araştırma Yöntemleri.....	18
1.4.1. GSBL Tarama Testleri.....	19
1.4.2. GSBL Saptama ve Doğrulama Testleri	19
1.4.2.1. Kombine Disk testi	20
1.4.2.2. Çift Disk Sinerji Testi	20
1.4.2.3. E Testi	20
1.4.2.4. Mikrodilüsyon Yöntemi.....	21
1.4.2.5. Üç Boyutlu Test	21
1.4.2.6. Otomatize Sistemler.....	21
1.4.2.7. Moleküler Yöntemler.....	21
1.4.2.7.1 Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PZR).....	22
2. ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR.....	23
3. MATERYAL ve YÖNTEM.....	26
3.1. Materyal.....	26
3.1.1. Svab Örnekleri	26
3.1.2. Kullanılan Besiyerleri, Antibiyotik ve Antibiyotik Diskleri	26

3.1.3. PZR’da Kullanılan Kimyasallar.....	27
3.1.4. PZR’da Kullanılan Alet ve Ekipmanlar.....	27
3.2.Yöntem	27
3.2.1. Genişlemiş Spektrumlu Beta-Laktamaz (GSBL) Sentezleyen <i>Escherichia coli</i> İzolasyonu ve İdentifikasyonu.....	27
3.2.2. GSBL Üretiminin Fenotipik Belirlenmesi.....	28
3.2.2.1. Çift Disk Sinerji Testi (ÇDST)	28
3.2.2.2. Kombine Disk Yöntemi (KDY).....	28
3.2.2.3. İzolatların Antimikrobiyal Duyarlılıklarının Belirlenmesi	28
3.2.3. Moleküler Analiz	29
3.2.3.1. DNA İzolasyonu	29
3.2.3.2. İzolatlarının Moleküler Doğrulanması.....	29
3.2.3.3. GSBL Sentezinden Sorumlu Genlerin Belirlenmesi.....	29
3.2.3.4. DNA Dizi Analizi	30
3.2.3.5. Filogenetik Analiz.....	30
4. ARAŞTIRMA BULGULARI ve TARTIŞMA	32
4.1. GSBL Sentezleyen <i>E.coli</i> İzolasyonu	32
4.2. Fenotipik Doğrulama Testleriyle GSBL Üretiminin Tespiti.....	32
4.2.1. Çift Disk Sinerji Testi (ÇDST).....	32
4.2.2. Kombine Disk Yöntemi (KDY).....	33
4.3. İzolatların Antimikrobiyal Duyarlılıklarının Belirlenmesi.....	34
4.4. GSBL Enzim Tiplerinin Belirlenmesi ve DNA Analizi.....	34
4.5. Tripleks PZR <i>E.coli</i> Suşlarının Filogenetik Gruplarının Belirlenmesi	35
4.6. Tartışma.....	36
5. SONUÇ ve ÖNERİLER.....	39
KAYNAKLAR	40
ÖZGEÇMİŞ	46

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 1.2.1	Bakterilerde farklı etki mekanizmasına sahip antibiyotikler	4
Şekil 1.3.1	Beta-laktam halkası	5
Şekil 1.3.1.1	Penisilinlerin genel yapısı.....	6
Şekil 1.3.1.2.	Sefalosporinlerin genel yapısı.....	7
Şekil 1.3.1.3.	Monobaktamların genel yapısı	7
Şekil 1.3.1.4.	Karbapenemlerin genel yapısı	9
Şekil 1.3.1.5.	Beta laktamaz inhibitörlerin yapısı	10
Şekil 4.1.	<i>E. coli</i> spesifik 16S rRNA primerleri kullanılarak yapılan PZR bulguları	32
Şekil 4.2	ÇDST ile belirlenen GSBL pozitifliği	33
Şekil 4.2.1	ÇDST ile belirlenen GSBL pozitifliği	33
Şekil 4.2.2	KDY ile belirlenen GSBL pozitifliği.....	34
Şekil 4.4	<i>bla</i> _{CTX} pozitif izolatlar	35
Şekil 4.5	<i>bla</i> _{TEM} pozitif izolatlar	35
Şekil 4.6	GSBL pozitif <i>E. coli</i> suşlarında tripleks PZR belirlenen filogenetik gruplar	36

ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge 1.3.3.	Beta-laktamazların isimlendirilmesi	12
Çizelge 1.3.4.	Beta-laktamazların sınıflandırılması	13
Çizelge 3.2.3.3.	GSBL genlerinin belirlenmesinde ve sekans analizinde kullanılan primerler	30
Çizelge 3.2.3.5.	Filogenetik grupların belirlenmesinde kullanılan primerler	31
Çizelge 4.1.	Kafes kuş türlerinin dağılımı.....	32
Çizelge 4.2.	GSBL pozitif izolatların filogenetik grup, GSBL genleri ve antimikrobiyal direnç fenotipine göre dağılımı.....	32



SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ

KISALTMALAR

bç	: Baz Çifti
CLSI	: Clinical Laboratory Standarts Institute
ÇDST	: Çift Disk Sinerji
EMB	: Eosin Methylene Blue
GSBL	: Genişlemiş Spektrumlu Beta Laktamaz
IRT	: İnhibitör Dirençli Beta Laktamazlar
KDY	: Kombine Disk Yöntemi
MIK	: Minimum İnhibitör Konsantrasyonu
MHA	: Mueller Hinton Agar
mPZR	: Multipleks PZR
PBP	: Penisilin Bağlayıcı Protein
PZR	: Polimeraz Zincir Reaksiyonu
SSCP	: Single Strand Conformation Polymorphism
RFLP	: Restriction Fragment Length Polymorphism
TSB	: Tryptic Soy Broth

1. GİRİŞ

İnsanoğlu ilkçağlardan bu yana hayvanlar ile iç içe yaşamış, zamanla onları evcilleştirmiş, bazılarının ürünlerinden faydalanmış, gerektiğinde dost canlısı olarak beslemiştir. Dünyada ve ülkemizde evcil hayvan besleme hobisi önemli derecede artış göstermektedir. Bu evcil hayvan grubunun üyelerini kuşlar, sürüngenler, balıklar, küçük memeliler ve kemirgenler (rat, hamster ve yaban gelinciği) oluşturmaktadır (Ebani ve ark., 2005).

Türkiye'de kafes kuşları yetiştiriciliği Türk halkının atalarından miras kalan güzel bir alışkanlıktır. Eski Osmanlı konaklarında ve cumbalı evlerde, farklı tür kuşlardan yayılan hoş nağmeler sokaklara taşığı, hemen her evin pencere kenarında içine boş bir yumurta kabuğu yerleştirilmiş birkaç sardunya, fesleğen ve ıtır saksısının yanısıra saka, florya, iskete gibi kuşların yetiştirildiği kafeslerin duvarlarda asılı durduğu belirtilmiştir (Petek, 2004). Tüm dünyada olduğu gibi ülkemizde de çeşitli, özellikle muhtelif renklerde muhabbet kuşları, Afrika gri papağanları, sultan papağanları, cennet papağanları, Cockatoo'lar, Kanarya ve Hint bülbülleri başta olmak üzere pek çok egzotik kuş türü günlük yaşamımızın bir parçası haline gelmiştir. *Enterobacteriaceae* üyeleri genelde pet kuşlarında hastalık yapıcı mikroorganizmalar bakımından ortak etken olmakla birlikte, çok sayıda bakteri primer ve/veya sekonder olarak enfeksiyona neden olabilmektedir. Kafes kuşlarındaki enfeksiyonlarda yaygın olarak *Escherichia coli*, *Klebsiella* spp., *Pseudomonas aeruginosa* gibi gram negatif bakteriler ile *Bordetella* spp., *Salmonella* spp., *Proteus* spp., *Yersinia* spp., *Pasteurella* spp. ve *Staphylococcus* spp. türleri izole edilmiştir (Baydan ve ark., 1996; Öner ve Şahin, 2009).

E. coli insan ve hayvanların gastrointestinal sisteminin doğal mikroflorasının bir sakini'dir. Son yıllarda bu bakteriden kaynaklanan enfeksiyonların sayısındaki ve çeşitli antimikrobiyallere direncin gelişiminde görülen artış, insan ve veteriner hekimliğinde ciddi bir problem haline gelmiştir. Diğer *Enterobacteriaceae* üyeleri gibi *E. coli* izolatları da antibiyotik direnç genlerini taşıyabildikleri gibi, bu genleri gastrointestinal kanalda bulunan diğer kommensal ve patojen bakterilere horizontal olarak transfer edebilme yeteneğine de sahiptirler. Bu yolla antimikrobiyal ajanlara karşı çoklu direnç

kazanan bakteriler, kafes kuşlarının fekal bulaşma yoluyla çevreye yayılması antimikrobiyal direncin artışına da neden olabilmektedir.

İnsan ve veteriner hekimliğinde olduğu gibi antibiyotiklerin yaygın kullanımı *Enterobacteriaceae* üyeleri arasında direnç probleminin ortaya çıkmasına neden olmuştur. Antibiyotikler kafes kuşlarının tedavisinde ve koruyucu olarak yaygın olarak kullanılmaktadır. *Enterobacteriaceae* familyası üyelerinde özellikle geniş spektrumlu sefalosporinlere direncin dünya genelinde ortaya çıkışı önemli endişe kaynağı oluşturmuştur. Geniş spektrumlu sefalosporinlere dirence genişlemiş spektrumlu beta-laktamaz (GSBL) sentezi aracılık etmektedir. Son yıllarda genişlemiş spektrumlu beta-laktamaz (GSBL) sentezleyen *E.coli* suşlarının çeşitli sağlıklı yabancıl hayvan türlerinde de bulunduğu rapor edilmiştir (Brinas ve ark. 2005; Carattoli ve ark. 2008). Özellikle evcil hayvan besleyen kişilerinde bu canlılarla sıklıkla temas halinde bulunduğu göz önüne alınırsa, evcil hayvanların GSBL üreten çeşitli bakterilerin yayılımına sebep olabilecek potansiyel rezervuar olabilecekleri düşünülmektedir.

Bu tez çalışmasında, Hatay ilinde bulunan pet shop'lardaki kafes kuşu yetiştiriciliği yapılan farklı kafes kuşlarında GSBL sentezleyen *E. coli* varlığının belirlenmesi, GSBL sentezleyen *E. coli* izolatlarının antimikrobiyal duyarlılıklarının disk diffüzyon yöntemi ile araştırılması, GSBL sentezinden sorumlu genlerin polimeraz zincir reaksiyonu (PZR) ile tespit edilmesi ve sekans analizi ile alt tipinin saptanması ve filogenetik gruplarının belirlenmesi amaçlanmıştır.

1.1. *E. coli*'nin Genel Özellikleri

E. coli hayvan ve insan bağırsak normal florasının doğal bir üyesi olup; *Enterobacteriaceae* familyasında yer almaktadır. İlk olarak 1885 yılında yeni doğanların dışkılarından izole edilmiş ve Theodor Escherich tarafından tanımlanmıştır. Fakültatif anaerob olup 2-6 µm boyunda, 1-1,5 µm eninde gram negatif kokobasildir (Fındık, 2008). İnsan ve hayvanlarda çeşitli doku ve organlara yerleşerek hastalık oluşturabildiklerinden mikrobiyoloji laboratuvarlarında sıklıkla izole edilirler.

E.coli, *Enterobacteriaceae* üyeleri gibi katalaz pozitif, oksidaz negatif, glikozu fermente edebilmekte, nitratları nitritlere indirgeyerek genel üretim besiyerlerinde rahatlıkla üreyebilmektedirler. Optimal üreme sıcaklıkları 37°C olup kullandıkları karbon kaynakları oldukça çeşitlidir ve gaz oluşumu gözlenir. D-Glikozu fermente

ederek asit oluştururlar, Metil-red testi pozitif ancak asetil-metil karbinol oluşturamazlar (Voges-proskauer testi negatif). Sitrati karbon kaynağı olarak kullanamazlar. Triptofanaz enzimleri ile triptofandan indol oluştururlar. Kısacası IMVIC testleri (++, -) (Bilgehan, 1992).

E. coli laktozu parçalama özelliklerine bağlı olarak selektif besiyerlerinde diğer laktoz negatif *Enterobacteriaceae* üyelerinden ayrılmaktadır. Laktozu kullanamayan bazı türler dışında *E. coli* McConkey agarda pembe-kırmızı, EMB (Eosine Metilen Blue) agarda ise metalik parlaklık veren koloniler oluşturduğu belirtilmiştir (Bilgehan, 1992). *E. coli* sıcakkanlı hayvanların ve insanların bağırsak florasında kommensal olarak yaşamasına karşın, çeşitli virülens faktörlerine sahip patojen izolatlar insan ve hayvanlarda çeşitli hastalıklara yol açmaktadır.

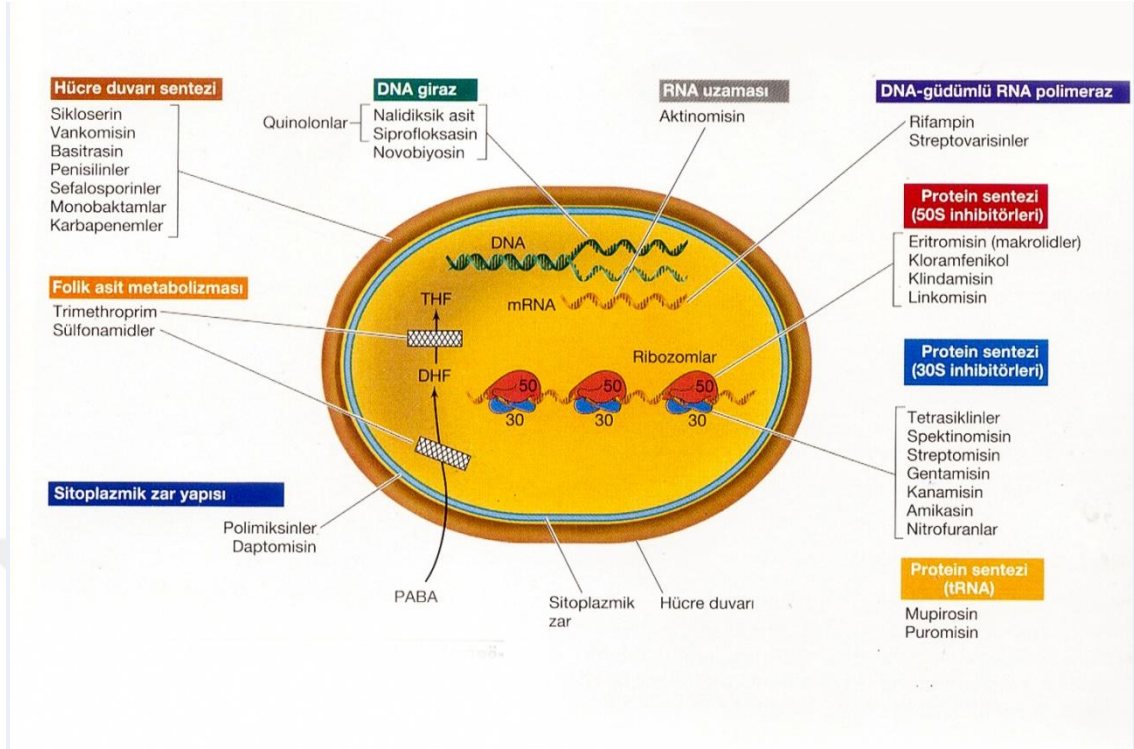
1.2. Antibiyotikler

Antibiyotikler mikroorganizmaların üremesini ortadan kaldıran (bakterisidal) veya durduran (bakteriyostatik) doğal veya sentetik olarak üretilen antimikrobiyal maddelerdir. Selektif toksisite etkisi gösteren antimikrobiyal ajan, konağa zarar vermeden sadece enfeksiyon yapan mikroorganizma üzerine etki gösterir. Ökaryotik mikroorganizmalar (fungus ve protozoon gibi) yapı ve fonksiyon bakımından konağa daha çok benzerlik gösterdiklerinden bu mikroorganizmalara karşı seçici toksisite gösteren ajan sayısı daha azdır (Madigan ve Martinko, 2010).

Antibiyotiklerin etki spektrumları da birbirinden farklıdır. Geniş spektrumlu olanlar hem Gram negatif hem de Gram pozitif birçok mikroorganizmayı etkileyebilir. Dar spektrumlu olanlar ise yalnızca Gram negatif ya da Gram pozitif bir grup mikroorganizmaya karşı etkilidir.

1.2.1. Antibiyotiklerin Etki mekanizmaları

Antibiyotikler, mikroorganizmaya karşı çeşitli yollarla etkili olurlar: Hücre duvarı, sitoplazmik membranı, protein ve nükleik asitlerin biyosentez süreçleri gibi. Şekil 1.2.1' de antibiyotiklerin bakteriler üzerindeki etki mekanizmaları gösterilmiştir. Ayrıca bazı kemoterapotik ajanlar (örneğin Sülfonamidler) bakteri metabolizmasında ihtiyaç duyulan önemli üreme faktörlerini taklit ederek çalıştıkları için üreme faktör analogları olarak tanımlanırlar.



Şekil 1.2.1. Bakterilerde farklı etki mekanizmasına sahip antibiyotikler (Madigan ve Martinko, 2010).

Bakterilerde meydana gelen direnç mekanizmaları şu şekilde özetlenebilir:

- ❖ Antibiyotiği inhibe eden veya yıkımlayan enzim senteziyle (Penisilnaz, beta-laktamazlar vb.),
- ❖ Antibiyotiğin blokladığı metabolik yola alternatif bir yol geliştirerek,
- ❖ Antibiyotiğin etkisini önleyecek bazı grupları antibiyotiğe ekleyerek,
- ❖ Antibiyotiğe karşı hücre geçirgenliğini azaltarak,
- ❖ L form hücreler oluşturarak: bu hücrelerde hücre duvarı olmadığından dolayı (*Mycoplasma*) penisilin gibi hücre duvarı sentezini etkileyen antibiyotiklere karşı dirençlidirler.
- ❖ Organizma hücre içine giren antibiyotiği dışarı atma kabiliyetine sahiptir. Bu olaya efflux mekanizması denir.

Antibiyotik direnci genetik olarak kromozomal ya da plasmidler tarafından kontrol edilir. Ayrıca doğal ortamlarda mikroorganizmalar arasındaki genetik madde aktarımı (plasmidler, transpozonlar aracılığı ile) nedeniyle mikroorganizma hiç antibiyotikle karşılaşmamış olsa da direnç gelişimi görülebilir ve çoklu antibiyotik

direnci bu yolla ortaya çıkabilmektedir. Çoklu antibiyotik direncinde mikroorganizmaların farklı birçok antibiyotiğe karşı direnç kazanması söz konusudur.

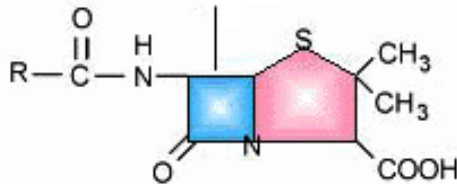
Bir antimikrobiyal ajana karşı duyarlılığını kaybeden mikroorganizma türü bu ajana yakın kimyasal grupta olan veya farklı yapıda diğer bir ilaca da direnç kazanabilirler. Bu olaya çapraz direnç denir.

1.3. Beta-laktam Antibiyotikler

Beta-laktam antibiyotikler, etkinliğinden sorumlu merkez kısmında beta-laktam halkası içeren antibiyotiklere **beta-laktamlar** veya **beta-laktam antibiyotikler** denir. İlk antibiyotik olan penisilinin keşfinden günümüze kadar geçen sürede birçok hastalığın tedavisinde beta-laktam antibiyotikler sıklıkla kullanılmaktadır. Hemen hemen hepsi bakteri hücre duvarı sentezini inhibe ederek bakterisidal etki gösterirler (Madigan ve Martinko, 2010).

1.3.1. Beta-laktamazların Yapısı ve Genel Sınıflandırılması

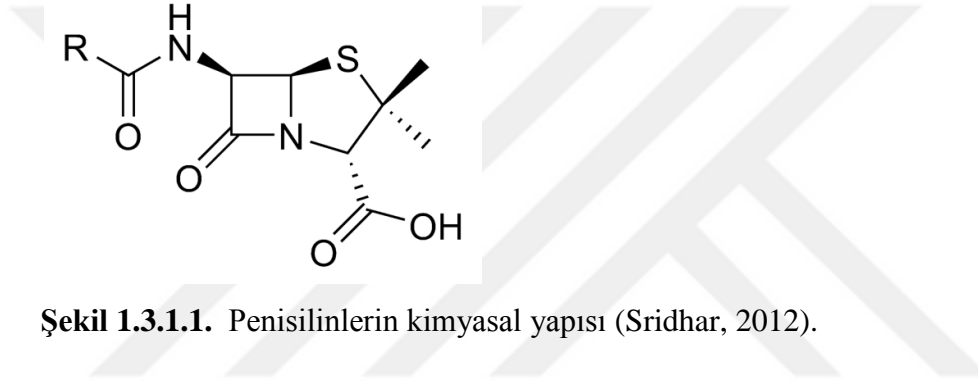
Bir beta-laktam üç karbon atomu ve bir azot atomundan oluşan dört üyeli bir siklik amid halkadır (Şekil 1.3.1). Bu ana çekirdek yapısı beta-laktam antibiyotiklerin sınıflandırılmasında önem taşır (Penisilinler, Sefalosporinler, Karbapenemler, Monobaktamlar ve beta-laktamaz İnhibitörleri) (Dalhoff ve ark., 2006; Günaydın, 2013). Beta-laktam antibiyotikleri, beta-laktam halkasının, doymuş 5-üyeli halkalarla birleşmesine, doymamış 5-üyeli halkalarla birleşmesine, doymamış 6-üyeli halkalarla birleşmesine ya da hiç bir halka ile birleşmemesine dayalı olarak 4 temel grupta sınıflandırılmaktadır. Sadece monobaktamlar beta-laktam halkasından oluşmuş monosiklik türdeki antibiyotiklerdir (Günaydın, 2013).



Şekil 1.3.1. Beta Laktam halkası (Murray ve ark., 2009)

1.3.1.1. Penisilinler

Penisilinler 1929 yılında Alexander Fleming tarafından *Penicillium notatum*' un kültür plağı üzerinde Staphylococcus'un büyümesini inhibe eden ilk beta laktam olarak keşfedilmiştir. Penisilinlerin temel yapısı 6 aminopenisilik asit (6-APA) çekirdeğinden oluşur. 6-APA beta-laktam halkasıyla buna bağlı bir tiazolidin halkasından ibarettir (Şekil 1.3.1.1). 6-APA çekirdeğine değişik yan zincirlerin eklenmesiyle farklılık gösteren birçok penisilin türevi elde edilmiştir. Penisilinlerin antibakteriyel etkileri için 6-APA çekirdeği yapısının bozulmaması gerekir (Sridhar, 2012).



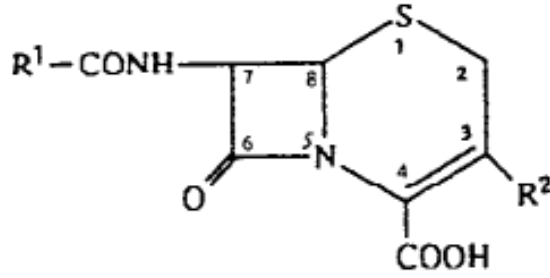
Şekil 1.3.1.1. Penisilinlerin kimyasal yapısı (Sridhar, 2012).

Penisilinler, bakteri hücre duvar sentezini inhibe ederek bakterisidal etki gösterirler. Bakterilerin hücre duvarı sentezinde peptidoglikanlar, transpeptidasyon yolu ile birbirlerine bağlanırlar. Penisilinler, bakteri hücre duvarının iç yüzeyinde bulunan ve transpeptidasyon basamağında enzim olarak rol oynayan penisilin bağlayıcı proteinlere (PBP) (Transpeptidaz, karboksipeptidaz) bağlanarak hücre duvarının sentezinin bozulmasına neden olur. Aynı zamanda penisilinler hücre duvarının yapısal bütünlüğünü bozan bakteriyel otolizini de aktive ederler. Farklı bakteri türlerindeki PBP'lerin görevi, penisilinlerin bakteri türlerindeki PBP'lere karşı farklı affinite de bulduklarından antibakteriyel etki mekanizmaları da değişiklik gösterebilir (Khardori, 2006).

1.3.1.2. Sefalosporinler

Sefalosporinler, 1945 yılında *Cephalosporium acremonium* mantarından Giuseppe Brotzu tarafından elde edilmiştir. Sefalosporinlerin ana çekirdeğini 7-amimosefalosporonikasit (7-ASA) oluşturur. Bu ana çekirdeğe yan zincirlerin

eklenmesiyle yarı sentetik bileşiklerin üretilmesi mümkün olabilmektedir. Antimikrobiyal aktivite özelliklerine göre 1. kuşak, 2. kuşak, 3. kuşak ve 4. kuşak olarak sınıflandırılmışlardır. Sefalosporinler bir beta-laktam halkası ile dihidrotiazin halkasının birleşmesinden oluşmuş çekirdek yapıyı içerir (Şekil 1.3.1.2) (Khardori, 2006).

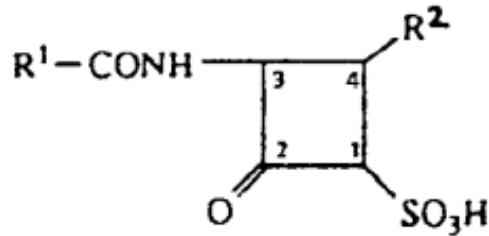


Şekil 1.3.1.2. Sefalosporinlerin genel yapısı (Essack, 2001)

Sefalosporinlerin etki mekanizması penisilinlere benzemekle birlikte, PBP olarak bilinen enzimlere etki ederek bakterisidal etki gösterirler.

1.3.1.3. Monobaktamlar

1980'lerde toprakta yaşayan farklı Gram negatif bakterilerden elde edilmiştir. Yapısında beta-laktam ana halkası dışında başka bir yan zincir taşımamaktadır (Şekil 1.3.1.3) (Khardori, 2006).



Şekil 1.3.1.3. Monobaktamların genel yapısı (Essack, 2001)

Klinikte en çok kullanılan dar spektrumlu monobaktam aztreonamdır. Moleküler yapısının çekirdeğini 3 aminomonobaktamik asid (3-AMA) oluşturur, gram negatiflere

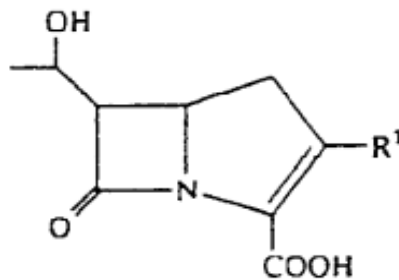
karşı güçlü etki gösterir. Diğer beta-laktam antibiyotiklere benzer şekilde bakteri hücre duvarı sentezini bozarak etki ederler, selektif olarak gram negatif aerobik bakterilerin PBP-3'e afiniteleri çok yüksektir ve gram negatif bakterilere karşı etki göstermesi bu özelliğinden kaynaklanmaktadır. Gram pozitif bakterilerin PBP affinitesi son derece düşük olduğundan, aztreonam bu bakterilere karşı etkisizdir (Demir, 2006; Günaydın, 2013).

1.3.1.4. Karbapenemler

Karbapenemler, ilk kez 1970 yılında keşfedilmiş ve toprak mikroorganizmaları tarafından üretilmiştir. Beta-laktamların en geniş spektrumlu grubudur. Diğer beta-laktamlardan ayıran özellik kimyasal yapısındaki beta-laktam halkasının tiazolidinik asidin 4. konumunda sülfon yerine karbon içermeleridir (Şekil 1.3.1.4). Bu grubun bilinen ilk üyesi olan imipenem 1978 yılında *Streptomyces cattleya*'den izole edilen tienamycin'den sentetik olarak elde edilmiştir. Bu grubun ikinci antibiyotiği meropenemdir (Khardori, 2006).

İmipenem'in antimikrobiyal spektrumu diğer gruplara göre değişik olmakla birlikte geniş spektrumlu olarak kullanılır. Çok geniş etki spektrumu, klinik etkinliğinin yüksek olması, toksisitelerinin oldukça düşük olması nedeniyle karbapenemler ağır infeksiyonların başlangıç tedavisinde ilk tercih edilecek antibiyotikler içinde yer almaktadır (Bonfiglio ve ark., 2002).

Etkisini PBP'ye bağlanarak en çok da PBP-2'ye bağlanarak gösterir. Metisiline dirençli Stafilokokların (MRS) imipenem direnci diğer beta-laktam antibiyotiklere karşı direncin sebebi olan PBP-2'deki değişiklikten olduğu düşünülmektedir (Khardori, 2006).

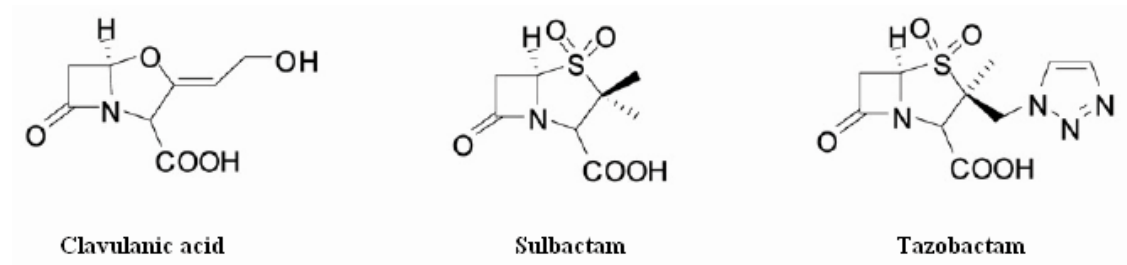


Şekil 1.3.1.4. Karbapenemlerin genel yapısı (Essack, 2001).

1.3.1.5. Beta-Laktamaz İnhibitörleri

Beta-laktamaz inhibitörleri yapılarında beta-laktam halkası taşıyan ancak tek başına kullanıldıklarında zayıf antimikrobiyal etki gösteren kimyasal maddelerdir (Khardori, 2006). Beta-laktamazların hidrolitik aktivitesine karşı direnç, inaktif bölgeye ilacın bağlayıcılığını önleyerek ya da enzimin aktif bölgesinde su molekülünü değiştirmesiyle elde edilebilir. Bağlanma bölgesine erişim 6-aminopenisillanik asit veya 7-aminosefalosporanik asit'e hacimli bir açıl grubun bağlanmasıyla önlenebilir. Penisilin ve sefalosporinin karbon 6 veya 7 üzerine hidrojen atomunun yer değiştirilmesi, sırasıyla, bir alfa-metoksi grubu ile hidroliz için gerekli olan su molekülünü değiştirir. Beta-laktamazların inhibitörleri dönüşümlü ve geri dönüşümsüz olarak sınıflandırılabilir. Beta-laktamaz inhibitörlerinin çoğu beta-laktam halkası içerir. İnhibitörler enzimin aktif bölgesine veya yakın bölgelerine bağlandığında, aynı zamanda substratlar gibi hidrolize olabilirler. Geri dönüşümlü inhibitörler yüksek afiniteyle enzime bağlanarak, zayıf substratlar olarak hareket ettikleri için tam olarak hidrolize edilemezler (Sridhar, 2012).

Günümüzde klinik kullanımda olan en yaygın beta-laktam inhibitörleri klavulanik asit, sulbaktam ve tazobaktamdır (Şekil 1.3.1.5). Her üç beta-laktamaz inhibitörü bileşikleridir penisilin ile yapısal benzerliği paylaşırlar. Bu inhibitörlerin tek başlarına etkileri zayıf olduğu için bir beta-laktam ile belirli oranlarda kombinasyon oluşturularak etki gösterirler. Bu kombinasyonlara Amoksisilin+klavulanik asit, Ampisilin+sulbaktam, Piperasilin+tazobaktam örnek verilebilir (Günaydın, 2013; Sili ve Mert, 2010).



Şekil 1.3.1.5. Beta-laktamaz inhibitörlerin yapısı (Sridhar, 2012).

a) Klavulanik asit: İlk olarak toprak bakterisi *Streptomyces clavuligerus*'ten 1970 yılında izole edilmiştir. Ayrıca klinik uygulamada kullanılan ilk beta-laktamaz inhibitörüdür. Tek başına, zayıf antibakteriyel aktiviteye sahiptir. Beta-laktam antibiyotik ile karşılaştırıldığında, klavulanat uzun süre enzimin aktif bölgesini kaplar ve verimli bir şekilde hidroliz olması için başarısız olur. Amoksisilin-klavulanat klinik uygulamada kullanım için onaylanmış ilk beta-laktam-beta-laktamaz inhibitör kombinasyonu olmuştur ve parenteral kullanımı *E. coli* bakteriyemi üretiminde GSBL tedavisinde esas olmuştur.

Klavulanat, örneğin *Enterobacter* spp. ve *Morganella morganii* gibi izolatlarda kromozomal aracılı AmpC beta-laktamazların güçlü bir indükleyicisidir. Sefepime ve cefpirome gibi sefalosporinler AmpC enzimlerine karşı daha kararlı olduğu için dördüncü kuşak sefalosporinlerle klavulanat kombinasyonun kullanılması önerilmektedir (Sridhar, 2012).

b) Sulbaktam: Sulbaktam, ilaç endüstrisi tarafından sentetik bileşik olarak 1978 yılında geliştirilen bir penisilinat sülfondur. Beta-laktamaz enzimlerini inhibe ederler. Sulbaktam ağızdan iyi absorbe edilmez ve parenteral olarak uygulanması öngörülür. Ampisilin-sulbaktam, beta-laktamaz sentezleyen *Staphylococcus aureus*, *Haemophilus influenzae*, *Moraxella catarrhalis*, *Escherichia coli*, *Proteus* spp., *Klebsiella* spp. ve anaeroblara karşı etkilidir. Cefapercone-sulbaktam diğer bir kombinasyondur. Sulbaktam içeren kombinasyonların kullanılmasının özel avantajlarından biri, sulbaktamın bazı *Acinetobacter baumannii*'ye karşı doğal aktiviteye sahip olmasıdır. Klavulanat ile karşılaştırıldığında, sulbaktam *Enterobacteriaceae*'de AmpC kromozomal beta-laktamazın güçlü bir uyarıcı değildir (Sridhar, 2012).

c) Tazobaktam: Tazobaktam, ilaç endüstrisi tarafından sentetik bileşik olarak 1980 yılında geliştirilen ve yapısal olarak sulbaktama benzer bir penisilinat sülfondur. Piperasilin-tazobaktam, 1993 yılında Amerika Birleşik Devletleri'nde tedavi için kullanılmıştır. PBP-1 ve PBP-2'ye bağlanarak beta-laktamazları inhibe eder. Tek başına antibakteriyel etkisi zayıftır (Sridhar, 2012).

1.3.2. Bakterilerde Beta-Laktamazlara Karşı Direnç Gelişimi

Gram negatiflerde beta-laktamlara karşı direnç mekanizması 3 şekilde ortaya çıkmaktadır: i) PBP'lerde değişim, ii) beta-laktamazların üretimi, iii)antibiyotiğin Penisilin Bağlayan Protein'lere erişiminin engellenmesidir. Gram pozitiflerin aksine PBP'ler gram negatif bakterilerde periplazmik boşlukta yerleşmiştir. Beta-laktam antibiyotiklerin hedef bölgeye ulaşması için bakteri hücre duvarını geçmesi gerekmektedir. Bakterilerdeki porin kaybı ya da efflux pompalarıyla beta-laktam antibiyotikler bakterilerde direnç gelişimine neden olmaktadır. Bu mekanizmayla direnç kazanımı gram negatif bakterilere özeldir. Gram pozitif bakterilerde ise beta-laktamlara direnç, hedef PBP moleküllerinin değişmesi temel mekanizma olmakla birlikte, Gram negatif bakterilerde daha az görülür. En yaygın görülen direnç mekanizması ise beta-laktamazların üretilmesidir (Tang ve ark., 2014).

1.3.3. Beta-Laktamazların İsimlendirilmesi

Beta-laktamazların isimlendirilmesindeki farklı yaklaşımlar, bu enzimleri olduğundan daha kompleks bir hale getirmiştir. Bazı enzimler tercih ettikleri substratlara göre (CARB, FUR, IMP, OXA), bazıları biyokimyasal özelliklerine göre (SHV, NBC), bazıları genlerine (Amp, CepA), bazıları izole edildikleri bakterilere (AER, PSE), suşlara (P99), hasta isimlerine (TEM, ROB), hastaneye (MIR, RHH), eyaletlere (OHIO), bazıları da bulunan kişiye göre (HMS) isim almıştır. Buna karşın, bunlardan bazıları geçerliliklerini yitirmiştir. Örneğin SHV *sulfhydryl variable*' dan kısaltılmış, buna karşın artık SHV-1 enziminin aktif bölgesinin “sulfhydryl” değil, “serin” hidroksil olduğu anlaşılmıştır. Benzer şekilde, ilk kez *Pseudomonas spp.*'den izole edilmiş olan PSE enziminin artık Enterobakterilerde de bulunabildiği bilinmektedir. Son yıllarda büyük bir hızla artmakta olan TEM enziminden türeyen enzimlere ise seftazidimaz (CAZ), sefotaksimaz (CTX) veya inhibitör rezistan (IRT) gibi tanımlayıcı isimler verilmiş ve bu da bir karmaşaya yol açmıştır (Çizelge 1.3.3.). Bu konuda önerilen ise, TEM'den köken alan tüm enzimlerin TEM 26, TEM 43 gibi numara ile belirtilmesidir (Özsoy ve ark. 2001; Elmacıoğlu, 2013).

Çizelge 1.3.3. Beta-laktamazların isimlendirilmesi (Kamburoğlu, 2011)

β -laktamaz ismi	Yıl	Varyant sayısı	İsmin orjini
SHV tip	1983	>100	Sulphhydryl variable
TEM tip	1985	>160	Temoneira (Hastanın önağı)
CTX-M tip	1989	>65	Cefotaximase-Munich
SFO-1	1988	1	Serratia fonticola
TLA-1	1991	1	Tlahuicas (Hindistan kabilesi)
PER	1991	3	Pseudomonas extended resistance
VEB	1996	5	Vietnam ESBLs
BES-1	1996	1	Brazilian ESBLs
GES	1998	9	Guyana ESBLs
BEL-1	2005	1	Belgium ESBLs
OXA	1991	En az 9	Oksasilin>penisilin hidrolizi

1.3.4. Beta-Laktamazların Sınıflandırılması

Beta-laktamazların sınıflandırılmaları konusunda kesin bir fikir birliği oluşmamıştır. Beta-laktamazlar moleköl yapılarına, substrat ya da inhibitör profillerine göre belirlenen işlevsel özelliklerine göre sınıflandırılabilirler. Günümüzde iki farklı şemaya göre gruplandırılmışlardır: Ambler Moleköl sınıflandırması ve Bush, Jacoby & Medeiros fenotipik sınıflandırma sistemi (Bush ve ark., 1995). Ambler sınıflamasına göre beta-laktamazlar moleköl aminoasit dizisi göz önüne alınarak 4 sınıfta (A-D) yer alır. A grubu beta-laktamazlar aktif merkezinde bir serin aminoasiti bulunan ve temel substratları penisilinler olan gruptur ve bu enzimleri kodlayan genlerin pek çoğu plazmidlerce taşınır. B grubu beta-laktamazlar aktif bölgelerinde Zn^{+2} 'ye bağımlı bir tiyol grubu bulunan metaloenzimlerdir (Metallo-beta-laktamazlar). Bu gruptaki enzimlerin çoğu karbapenem etkisi gösterir. C grubundaki beta-laktamazlar aktif

merkezlerinde serin aminoasiti taşıyan, kromozomal AmpC geni tarafından kodlanan ve bu nedenle AmpC enzimler olarak da bilinen ve *Salmonella* türleri dışında tüm gram negatiflerde bulunan beta-laktamazlardır. D grubu beta laktamazlar ise C grubu beta laktamazlar gibi serin aminoasiti taşıyan ve oksasilini hızlı hidrolize edebilme yeteneklerinden dolayı "oksasilinazlar" olarak bilinirler. Ambler sınıflandırmasına göre, bu enzimlerin kendi aralarında benzer yapısal homolojileri oldukça azdır (Bradford, 2001).

1995 yılında daha önce Karen Bush tarafından önerilen tipik fenotipik sınıflandırma, Bush, Jacoby ve Medeiros tarafından güncelleştirilmiştir. Buna göre beta-laktamazlar yapısal özelliklerinin yanında substrat profilleri, inhibitörlere duyarlılık gibi işlevsel özellikleri sınıflamada kullanılmıştır (Bush ve ark., 1995). Bush Jacoby ve Medeiros sınıflandırması Çizelge 1.3.4'de gösterilmiştir.

Çizelge 1.3.4. Beta-laktamazların sınıflandırılması (Bush ve Jacoby, 2010)

Bush - Jacoby	Bush-Jacoby-Medeiros group (1995)	Moleküler sınıf (alt sınıf)	Substrat	KA veya TZB tarafından inhibisyon	EDTA tarafından inhibisyon	Örnek enzimler
1	1	C	Sefalosporinler	Hayır	Hayır	<i>E. coli</i> AmpC, P99, ACT-1, CMY-2, FOX-1, MIR-1
1c	Yok	C	Sefalosporinler	Hayır	Hayır	GC1, CMY-37
2a	2a	A	Penisilinler	Evet	Hayır	PC1
2b	2b	A	Penisilinler, dar spektrumlu sefalosporinler	Evet	Hayır	TEM-1, TEM-2, SHV-1
2be	2bc	A	Geniş spektrumlu sefalosporinler, monobaktamlar	Evet	Hayır	TEM-3, SHV-2, CTX-M-15, PER-1, VEB-1
2br	2br	A	Penisilinler	Hayır	Hayır	TEM-30, SHV-10
2ber	NI	A	Geniş spektrumlu sefalosporinler, monobaktamlar	Hayır	Hayır	TEM-50
2c	2c	A	Karbenisilin	Evet	Hayır	PSE-1, CARB-3
2ce	NI	A	Karbenisilin, sefepim	Evet	Hayır	RTG-4
2d	2d	D	Kloksasilin	Değişken	Hayır	OXA-1, OXA-10
2de	Yok	D	Geniş spektrumlu sefalosporinler	Değişken	Hayır	OXA-11, OXA-15
2df	Yok	D	Karbapenemler	Değişken	Hayır	OXA-23, OXA-48
2e	2e	A	Geniş spektrumlu sefalosporinler	Evet	Hayır	CepA
2f	2f	A	Karbapenemler	Değişken	Hayır	KPC-2, IMI-1, SME-1
3a	3	B(B1)	Karbapenemler	Hayır	Hayır	IMP-1, VIM-1, CcrA, IND-1
		B(B3)				L1, CAU-1, GOB-1, FEZ-1
3b	3	B(B2)	Karbapenemler	Hayır	Hayır	CphA, Sfh-1
Yok	4	Bilinmiyor				

1.3.5. Geniş Spektrumlu Beta-Laktamazlar (GSBL)

Genel olarak tanımlanan GSBL'lerin büyük çoğunluğu TEM ve SHV türevli enzimlerden köken almıştır. Ana enzimin moleküler yapısındaki aminoasitlerin mutasyonu sonucunda farklı aminoasitlerin gelmesiyle diğer GSBL tipleri oluşur. Orijinal beta-laktamaz enzimlerin aksine GSBL'ler sefamisinler dışındaki tüm sefalosporinleri, aztreonam ve diğer tüm penisilinleri hidrolize eden enzimlerdir. Bush Jacoby ve Medeiros sınıflandırmasında grup 2'de; 2b, 2be ve 2d, Ambler sınıflandırmasına göre ise D grubunda yer alırlar. GSBL'ler *Enterobacteriaceae* başta olmak üzere diğer pekçok gram negatif bakteride oldukça yaygındır. GSBL sentezinin en çok görüldüğü türler *E. coli* ve *Klebsiella pneumoniae*'dir (Livermore ve Williams 1996; Elmacioğlu, 2013).

1.3.5.1. GSBL Türleri

1.3.5.1.1. TEM Grubu Enzimler

TEM-1 enzimi ilk olarak 1965 yılında Atina'da Temoneira isimli bir hastadan izole edilen *E. coli* suşunda tespit edilmiştir (Datta ve Kontomichalou, 1965; Günaydın, 2013). Bu enzim, plazmid kaynaklı olup, bakterilerde ampisilin, penisilin ve 1. kuşak sefalosporin direncine neden olmaktadır. *E. coli*'de ampisilin direncinin %90'ından sorumludurlar. Enterobakteri üyelerinde sık bulunur. *E. coli*'lerin %50-60'ında, enterik bakterilerin %20-50'sinde, *P. aeruginosa*' da ise nadir bulunur. TEM-1'in ampisilinleri hidrolize etme aktivitesi, karbenisilini, oksasilini ve sefalotini hidrolize etme aktivitesinden fazladır. Geniş spektrumlu sefalosporinlere karşı gözardı edilecek kadar az etkisi vardır ve klavulanik asit tarafından inhibe edilir. TEM grubu enzimler daha çok *E. coli* ve *K. pneumonia*'da bulunmaktadır. Ayrıca *Enterobacter aerogenes*, *Morganella morganii*, *Proteus mirabilis*, *Providencia rettgeri* ve *Salmonella* spp. gibi gram negatif bakterilerde de bulunduğu tespit edilmiştir.

1.3.5.1.2. SHV Grubu Enzimler

SHV (Sulphydryl reagent Variable) grubu enzimlerden olan SHV-1 yaygın olarak *K. pneumonia*'da bulunmaktadır ve bu türde plazmid kaynaklı ampisilin direncinin %20'sinden sorumludur (Tzouvelekis ve Bonomo, 1999; Günaydın, 2013).

Bu enzimin üretimi ile ampisilin, piperasilin ve tikarsiline karşı direnç oluşturmaktadır. SHV türü enzimlerin geniş spektrumlu ilk türevi 1983 yılında bildirilen SHV-2 olup, 238. pozisyonda bulunan glisinin yerine serin amino asitinin yer alması sonucu SHV-1'den türevlenmiştir. SHV-5 ile ilişkili bazı varyantları, 240. pozisyonda bulunan glutamat yerine lizin aminoasidi değişimine sahiptir. 238. pozisyondaki serin seftazidimin, lizin ise seftaksimim için oldukça önemlidir (Huletsky ve ark., 1993; Günaydın, 2013). *K. pneumonia*'dan başka diğer *Enterobacteriaceae* üyelerinde de SHV türevi enzimler tanımlanmıştır.

1.3.5.1.3. CTX-M Grubu Enzimler

Bu GSBL grubundaki enzimler çevresel *Kluyvera* spp. bakteri türlerinin kromozomal sefalosporinazından elde edilmiştir (Sridhar, 2012). GSBL'ler arasında yeni katılan bir gruptur. İsmi seftaksimaz ve Munich kelimelerinden almaktadır. İlk olarak 1986'da Almanya'da bir *E. coli* suşunda tespit edilen CTX-M (seftaksimaz), o tarihten günümüze, tüm dünyada *Salmonella* spp. başta olmak üzere çok sayıda *Enterobacteriaceae* türü birçok kıtada saptanmıştır. Avrupa'daki temel salgınlardan sorumludurlar (Canton ve Coque, 2006; Günaydın, 2013). 2be grubunun CTX-M beta-laktamazları diğer GSBL'lerin aksine seftoksime, seftazidime olduğundan daha etkilidir (Walther-Rasmussen ve Hoiby, 2004; Günaydın, 2013). Bu enzimlerin diğer bir önemli özelliği, tazobaktamın inhibitör etkisinin klavulanik aside ve sulbaktama göre fazla olmasıdır (Chen ve ark., 2005; Günaydın, 2013).

CTX-M üyeleri, günümüzde 161 enzim içermekte ve aminoasit dizilimlerine göre 5 grup altında sınıflandırılmıştır. Bunlar CTX-M-1, CTX-M-2, CTX-M-8, CTX-M-9 ve CTX-M-25'dir. Her grubun üyeleri arasında %94 oranında benzerlik bulunmaktadır (Bonnet, 2004; Elmacıoğlu, 2013). CTX-M enzimler diğer bakterilerden horizontal gen transferiyle kazanılmıştır. Bu enzimler seftoksime, seftriaksona ve aztreonama seftazidimden daha yüksek dirence neden olmaktadır (Dutour ve ark., 2002; Saladin ve ark., 2002). Bununla birlikte bazı nokta mutasyonları seftazidime karşı daha güçlü aktiviteye sahip enzimlerin ortaya çıkmasına neden olmuştur. Örnek olarak seftazidime yüksek aktivite gösteren CTX-M-15, CTX-M-3'ten sadece Asp240→Gly değişikliği sonucu ortaya çıkmıştır (Poirel ve ark., 2002). Dünya'da CTX-M tipi

enzimlerin yayılımı insersiyon sekanslarının (ISEcp1, ISCR, IS26, IS10 ve IS903) beta laktamaz genlerini ekspresyon özelliği ile açıklanmaktadır (Eckert ve ark., 2006).

1.3.5.1.4. OXA Grubu Enzimler

Bu enzimler OXA olarak adlandırılır, çünkü tercihen oksasilin ve kloksasilini hidrolize ederler. Aynı zamanda seftazidime direnç kazandırarak, klavulanik asit tarafından zayıf olarak inhibe edilirler (Sridhar, 2012). OXA tipi beta laktamazların büyük çoğunluğu GSBL olarak kabul edilmemektedir; çünkü geniş spektrumlu beta laktamazları hidrolize etmezler (Hall ve ark., 1993). Genellikle, *P. aeruginosa* izolatların sınıflandırmasında gözlenmiştir (Sridhar, 2012). Oksasilini hidrolize eden tüm beta-laktamazlar, Ambler'in D grubunda yer almaktadır (Bush ve ark., 1995). Bu nedenle, sınıf A ve C'deki beta-laktamazlar gibi aktif bölgelerinde serine sahiptirler. Bu enzimlerin OXA-1'den OXA-11'e kadar olanlarının hepsi dar spektrumludur. Geniş spektrumlu OXA enzimlerinden ilki OXA-11 olup, ilk kez Hacettepe Üniversitesi Hastanesi'nden bildirilmiştir (Hall ve ark., 1993).

1.3.5.1.5. İnhibitör Dirençli Beta-Laktamazlar (IRT)

İnhibitör dirençli beta-laktamazlar, GSBL olmasalar da çoğunlukla GSBL'ler ile anılmalarının sebebi TEM ve SHV-tipi enzimlerin türevleri olmalarıdır (Bradford, 2001; Günaydın, 2013). TEM grubu enzimlerin inhibitör-dirençli varyantları, klavulanik asit ve sulbaktam inhibisyonuna dirençlidirler. Bu nedenle beta-laktam ve beta-laktamaz inhibitör kombinasyonlarına (amoksisilin-klavulanat, tikarsilin-klavulanat ve ampisilin-sulbaktam) klinik direnç göstermektedir (Bonomo ve ark., 1997; Günaydın, 2013). Bu enzimler önceleri IRT (Inhibitor Resistant TEM) olarak isimlendirilmiş, ancak daha sonra köken aldıkları TEM ya da SHV grubunda sıralamaya girmişlerdir. Örneğin IRT-1 TEM-31, IRT-2 TEM-44, IRT-3 TEM-32, IRT-14 TEM-45 olarak yeniden numaralandırılmışlardır. Günümüzde bu enzimlerin sayısı 22 civarındadır (<http://www.lahey.org/studies/webt.htm>). IRT'ler esas olarak *E. coli*'de bulunmakla birlikte *Klebsiella pneumoniae*, *Klebsiella oxytoca*, *Proteus mirabilis* ve *Citrobacter freundii*'de de bildirilmektedir. Bu beta-laktamazlar daha çok Fransa'da ve Avrupa'nın diğer bazı bölgelerinde saptanmıştır (Günaydın, 2013).

1.3.5.1.6. Diğer GSBL Enzimleri

Son zamanlarda GSBL enzimleri olarak tanımlanan ancak TEM, SHV, OXA ya da CTX-M gibi diğer beta-laktamazlardan türememiş olan GSBL tipleri bulunmuştur (Kamburoğlu, 2011). Bu gruptaki enzimler GES, PER, VEB gibi diğer TEM, SHV ve CTX-M tipi enzimlere göre daha az sıklıkla izole edilmektedirler. Homolojileri bilinen GSBL enzim tipleriyle uzaktan ilişkilidir (Poirel ve ark., 2002).

Diğer GSBL enzimlerine örnek olarak, SFO-1 (*Serratia fonticola*), TLA-1 (Tlahuicas (Hintli kabile)), BES-1 (Brezilyalı), GES-1 (Guyana) ve BEL-1 (Belçika) verilebilir. SFO-1 1988 yılında Japonya'dan klinik *Enterobacter cloacae* izolatında bulunduğu belirtilmiştir. *S. fonticola*'nın beta-laktama, homolojisinin yüksek derecesine dayanarak, enzim SFO-1 olarak adlandırılmıştır. Bu enzim, sefotaksimi çok etkili veya yüksek düzeyde seftazidimi zayıf bir şekilde hidrolize ederler, ancak sefamisinler ve karbapenemleri hidroliz etmezler. Aktivitesi klavulanik asit ve imipenem tarafından inhibe edilir. Diğer birçok GSBL'lerden farklı olarak, SFO-1 AmpR genine sahiptir ve güçlü imipenem tarafından indüklenir. BES-1, 1996 yılında Brezilya'da bir hastaneden *Serratia marcescens* suşundan izole edilmiştir. Bu aztreonama direnci yüksek düzeyde ve seftazidime göre sefotaksime direnci daha yüksek bir düzeyde görülür. Bu plazmidle kodlanmış enzim tazobaktama göre klavulanat tarafından daha iyi inhibe edilir. BEL-1 2004 yılında Belçika'da izole edilmiş bir *P. aeruginosa* suşunda tespit edilmiştir. Aktivitesi klavulanat tarafından iyi inhibe edilir, fakat tazobaktam tarafından zayıf inhibe edilir. Kromozomal gen *bla*_{BEL-1} sınıf 1 integron yapısında bulunur. TLA-1 1993 yılında Meksika'da bir hastadan izole edilen bir *E. coli* 'de tespit edilmiştir. Bu plazmid, enzim aracılı kuvvetli tazobaktam tarafından ve bir dereceye kadar, klavulanat ve sulbaktam tarafından inhibe edilir. Bu küçük GSBL'ler beta-laktamazların bilinen herhangi bir basit bir nokta-mutant türevleri değildir ve SFO-1 haricinde, kendi ata genlerinin bilinmediği belirtilmiştir (Sridhar, 2012).

1.4. GSBL Araştırma Yöntemleri

Dünyada GSBL sıklığındaki artış, hızlı yayılmaları ve ciddi klinik problemlere neden olmaları, özellikle *Enterobacteriaceae*'de yer alan türlerde bu enzimlerin varlığının doğru bir şekilde tanımlanmasını gerektirmektedir. Bakterilerde GSBL'ların tanımlanması hem fenotipik hem de genotipik olarak yapılabilmektedir. Mikrobiyoloji

laboratuvarlarında rutinde fenotipik yöntemler kullanılırken genotipik yöntemlere de başvurulmaktadır (Öcal ve ark., 2012; Elmacıoğlu, 2013).

Clinical and Laboratory Standart Institute tarafından (CLSI, 2012) *Enterobacteriaceae* üyesi olan *E.coli*, *K. pneumonia*, *P. mirabilis* ve *K. Oxytoca* için GSBL enzimlerinin araştırılmasına yönelik fenotipik tarama ve doğrulama testlerinin kullanılması önerilmiştir. GSBL araştırma yöntemleri tarama ve doğrulama testleri olmak üzere iki grupta incelenmektedir (Elmacıoğlu, 2013).

1.4.1. GSBL Tarama Testleri

CLSI 2012'ye göre *K. pneumonia*, *E. coli* ve *P. mirabilis* türlerinde GSBL sentezinin taranmasında sefpodoksim (10 µg), seftazidim (30 µg), sefotaksim (30 µg), aztreonam (30 µg) veya seftriakson (30 µg) antibiyotik diskleri ile disk difüzyon tarama testinin yapılması önerilmektedir. Sefpodoksim ile yapılan disk difüzyon yönteminin GSBL üreten ve üretmeyen *K. pneumoniae* ve *E. coli*'leri ayırmada daha iyi sonuçlar verdiği bildirilmiştir. CLSI tarafından sefalosporinler ve aztreonam için testin sonuçlarının değerlendirilmesinde önerilen kritik zon çapları aşağıda verilmiştir (CLSI, 2012).

Sefpodoksim (10 µg) : $R \leq 17$ mm

Seftazidim (30 µg) : $R \leq 22$ mm

Aztreonam (30 µg) : $R \leq 27$ mm

Sefotaksim (30 µg) : $R \leq 27$ mm

Seftriakson (30 µg) : $R \leq 25$ mm

1.4.2. GSBL Saptama ve Doğrulama Testleri

Saptama ve doğrulama testinde GSBL'lerin, beta-laktamaz inhibitörlerine duyarlı olma özelliklerinden yararlanılmaktadır. Bu amaçla en sık olarak kullanılan yöntemler Kombine Disk Testi, Çift Disk Sinerji Testi, E Testi, Mikrodilüsyon Yöntemi veya Üç boyutlu testlerle, otomatize sistemler kullanılır.

1.4.2.1. Kombine Disk Testi

Müller Hinton Agar (MHA)'a 0,5 Mc Farland standardına göre hazırlanan bakteri kültürlerinden ekim yapılır. Ekim yapılan plaklara seftazidim (30µg), seftazidim/klavulanik asit (CZC, 30/10 µg) ve sefotaksim (30µg), sefotaksim/klavulanik asit (CTC, 30/10µg) diskleri yerleştirilir. 35°C'de 18-24 saat inkübasyondan sonra, sefotaksim ve seftazidim diskinin klavulanik asit ile test edildiğinde etrafında gözlenen zon çapının, tek başına test edildiğinde gözlenen zon çapına göre ≥ 5 mm artış göstermesi durumunda GSBL pozitif kabul edilmektedir (CLSI, 2012).

1.4.2.2 Çift Disk Sinerji Testi

Jarlier ve arkadaşları (1988) tarafından geliştirilen ve GSBL sentezleyen bakterilerin belirlenmesinde en yaygın kullanılan testlerden biridir. Mueller-Hinton Agar (MHA) besiyerine bakteri süspansiyonundan eküvyonla ekim yapıldıktan sonra plağın tam ortasına amoksisilin-klavulanik asit diski (AMC, 20/10 µg) ile etrafına disk merkezleri arasındaki uzaklık 25 mm olacak şekilde seftazidim (30 µg), seftriakson (30 µg), sefotaksim (30 µg), aztreonam (30 µg), imipenem (10 µg) diskleri yerleştirilir. Besiyeri 35°C'de 18-24 saat inkübasyondan sonra, sefalosporinlerin veya aztreonam etrafındaki inhibisyon zonunun amoksisilin-klavulanik asit diskine doğru genişlemesi veya arada bakterinin üremediği bir sinerji alanının bulunması GSBL varlığını, aksi durum ise GSBL negatif olduğunu gösterir (Öcal ve ark., 2012; Elmacıoğlu, 2013).

1.4.2.3. E Testi

E testinde GSBL doğrulama test stripleri kullanılmaktadır. Bu striplerin bir tarafında üçüncü kuşak sefalosporinlerden birisi, diğer tarafında üçüncü kuşak sefalosporinle birlikte klavulanik asit emdirilmiştir. Bu amaçla seftazidim (0,5-32 µg/ml)-seftazidim/klavulanik asit (0,5/4-32/4 µg/ml) veya sefotaksim (0,25-16 µg/ml)-sefotaksim/klavulanik asit (0,016/4-1/4 µg/ml) içeren stripler kullanılmaktadır. Bu yöntem hem tarama hem de fenotipik doğrulama için kullanılabilir (Cormican ve ark. 1996; Vercauteren ve ark. 1997; Ho ve ark. 1998; Elmacıoğlu, 2013). Test striplerindeki bant kenarında oluşan inhibisyonun elips kesişme noktasıyla yorumlanır. Sefalosporin/klavulanik asit içeren E-testinde saptanan MİK değerinde sadece

sefalosporin içeren E-testinde saptanan MİK değerine göre ≥ 8 kat azalma GSBL üretimini doğrular (Sridhar, 2012).

1.4.2.4. Mikrodilüsyon Yöntemi

Fenotipik doğrulama broth mikrodilüsyon testi seftazidim (0,25-128 $\mu\text{g/ml}$), seftazidim/klavulanik asit (0,25/4-128/4 $\mu\text{g/ml}$), sefotaksim (0,25-64 $\mu\text{g/ml}$) ve sefotaksim/klavulanik asit (0,25/4-64/4 $\mu\text{g/ml}$) kullanılarak yapılır. Sefalosporin/klavulanik asit kombinasyonu ile yapılan sadece sefalosporinle yapılan teste göre MİK değerinde ≥ 3 dilüsyonluk azalma fenotipik olarak GSBL varlığını doğrular (CLSI, 2012; Elmacıoğlu, 2013).

1.4.2.5. Üç Boyutlu Test

Disk difüzyon yöntemine dayalı bir test olup, test edilecek mikroorganizma Muller Hinton Agar' a ekildikten sonra agarda yarık açılır ve 200 μl bakteri eklenir. Bu yarıktan 30 mm uzak olacak şekilde seftazidim (30 μg), sefotaksim (30 μg) ve aztreonam (30 μg) diskleri yerleştirilir ve 35 °C'de 18-20 saat inkübe edilir. Diskin etrafındaki inhibisyon sonu üzerinde bir bozulma ya da izolatin içe doğru büyüyor gibi görünmesi GSBL için pozitif olarak yorumlanmaktadır (Thomson ve Sanders 1992; Vercauteren ve ark., 1997; Sridhar, 2012; Elmacıoğlu, 2013).

1.4.2.6. Otomatize Sistemler

Mikrobiyolojide kullanılan “BD Phoenix” otomatize sistemleri ve Vitek ESBL (GSBL) kart testleri, Mikro-scan panel gibi testler otomatize sistemlere örnek olarak verilebilir. Bu sistemler, GSBL varlığını MİK değerlerine göre belirleyerek çeşitli gruptaki antibiyotikleri tüm penisilinlere, sefalosporinlere ve aztreonama dirençli olarak tespit edilmektedir (Dağlar ve Öngüt, 2012).

1.4.2.7. Moleküler Yöntemler

GSBL enzim tiplerini spesifik olarak belirleyebilmek için moleküler yöntemlere ihtiyaç duyulmaktadır. En sık kullanılan moleküler yöntem beta-laktamaz genlerine spesifik oligonükleotidlerin kullanıldığı Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PZR)'dur. Bunun dışında DNA probları, oligo tiplendirme, PZR-Restriction Fragment Length

Polymorphism (RFLP) analizi, PZR-Single Strand Conformation Polymorphism (SSCP) analizi, Ligase Chain Reaction (LCR) yöntemleri de kullanılmaktadır. DNA problemleri gen ailesi için özgül olmasına rağmen, genişlemiş spektrumlu olanları olmayanlardan ayırmamaktadır, ayrıca uygulaması çok emek istemektedir (Öcal ve ark., 2012; Elmacıoğlu, 2013). GSBL enzimlerini sentezleyen genlerdeki nükleotid değişikliklerini saptamakta altın standart olarak DNA dizi analizi yöntemi halen geçerliliğini korumaktadır.

1.4.2.7.1. Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PZR)

PZR dar spektrumlu beta laktamaz olanları olmayanlardan ayıramaz fakat uygulaması oldukça pratik bir moleküler yöntemdir. Reaksiyon, spesifik bir DNA parçasının kopyalarının primerler tarafından yönlendirilerek enzimatik olarak sentezlenmesi şeklinde tanımlanan *in vitro* bir yöntemdir. PZR çift iplikli bir DNA molekülünde hedef dizilere iki oligonükleotid primerin bağlanması ve uzaması esasına dayanır. Oligonükleotid primerler kalıp DNA molekülü yüksek sıcaklıklarda denatüre edildikten sonra, tek iplikli DNA molekülleri üzerinde tamamlayıcı olan bölgelerle hibritleşirler. Primerlerin spesifik olarak hedef dizilere bağlanması düşük sıcaklık derecelerinde gerçekleşir. DNA polimeraz enzimi, uygun tampon ve dört çeşit deoksiribonükleozid trifosfat (dNTP) varlığında primerin 3' hidroksil ucundan uzamasını sağlar. Böylece kalıp DNA molekülüne tamamlayıcı olan yeni DNA molekülü sentezlenmiş olur. Bir PZR döngüsü, denatürasyon, primerlerin bağlanması (annealing) ve uzama (extension) olmak üzere 3 aşamadan meydana gelmektedir. Ard arda tekrarlanan döngüler ile DNA parçaları üssel olarak artar. Bu artışın sebebi bir döngü sonucu sentezlenen ürünün, ardışık döngüde diğer primerler için kalıp görevi yapmasıdır (Temizkan ve Arda, 2008).

2. ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR

İnsan ve veteriner hekimliğinde antibiyotik kullanımının rastgele ve bilinçsiz olması mikroorganizmalardaki direncin artışına sebep olmuştur. Küçük hayvanlarda görülen antimikrobiyal direnç günümüzde artış göstermektedir. Yapılan literatür çalışmalarında kafes kuşlarında spesifik GSBL varlığına yönelik herhangi bir çalışma bulunmamaktadır.

Çok sayıda farklı kuş türünün antibiyotiklere dirençli bakteri taşıdıkları bilinmektedir. Doğal yaşamdaki yabanıl kuşların çoklu antibiyotik direncine yönelik *E. coli* izolasyon çalışması ilk olarak güvercinlerde 1975 yılında yapılmıştır (Sato ve ark., 1978; Bonnedahl ve Jarhult, 2014). Graham ve Graham (1978)'in çeşitli papağan türleriyle yapmış oldukları çalışmada benzer şekilde *E. coli* taşıyıcılığına yöneliktir. Dirençli *E. coli* prevalansını belirlemek üzere yapılan diğer çalışmalarda doğal yaşamda bulunan ördek, kaz, karabatak, avcı kuşlar, martı, kumru gibi yabanıl kuş türleri de kullanılmıştır (Bonnedahl ve Jarhult, 2014). Giacopello ve ark. (2015) evcil klinik olarak hasta kanarya türleriyle yaptıkları çalışmalarda Gram negatif bakteri izolasyonu ve antibiyotik direnç durumları araştırılmıştır.

Yabanıl kuşlarda GSBL sentezleyen *E. coli* varlığı ilk olarak Costa ve ark. 2006'da yaptıkları çalışmada araştırılmıştır. Son zamanlarda benzer çalışmalar çoğunlukla Avrupa ülkelerinde rapor edilmiştir. Dünyada, Avustralya ve Antarktika kıtası hariç tüm bölgelerde yabanıl kuşlardan GSBL sentezleyen *E. coli* çalışmaları bulunmaktadır (Bonnedahl ve Jarhult, 2014).

Evcilleştirme amaçlı beslenen hayvanlarda ilk GSBL'nin tespiti, FEC-1 üreten *E. coli* suşu ile enfekte olmuş bir laboratuvar köpeğinde, 1988 yılında Japonya'da bildirilmiştir (Matsumoto ve ark., 1988). Araştırmacılar, yeraltı suyu ve tarım topraklarının da dahil olmak üzere, doğal ortamlarında, hayvansal üretim tesislerinden antibiyotik dirençli bakteriler ve direnç genlerinin sürümü hakkında artan endişeleri ortaya çıkarmıştır (Ghosh ve LaPara, 2007).

GSBL sentezleyen *E. coli* ile kolonize olmuş gıda amaçlı beslenen hayvanlar, toplumda enfeksiyona neden olan dirençli *E. coli'* nin potansiyel kaynakları olarak kabul edilmiştir. Bu GSBL üreten *E. coli* izolatları, farklı ülkelerde de 2002 yılından bu yana artan oranlarda farklı hayvan türlerinde de tespit edilmiştir (Smet ve ark., 2010).

İnsan klinik izolatlarından tanımlanan GSBL türlerinin büyük çoğunluğu 1990'lı yıllara kadar, SHV ve TEM tipleri olarak belirlenmiştir (Pitout, 2012; Elmacıoğlu, 2013). Yaklaşık 10 yıl sonra, GSBL'lar dünya genelinde ortaya çıkmıştır ve CTX-M enzimleri en yaygın GSBL tipi haline gelmiştir (Canton ve ark. 2008, Pitout ve ark. 2008). Gıda yönlü yetiştirilen hayvanlarda GSBL sentezleyen *E.coli* varlığını ortaya koyan çok sayıda çalışma yapılmıştır (Hasman ve ark., 2005; Carattoli, 2008; Smet ve ark., 2010; Ewers ve ark., 2011; Overdeest ve ark., 2011) ve insan sağlığı ile ilişkili suşlar artan şekilde pet hayvanlarında da izole edilmeye başlanmıştır. Dirençle ilişkili çeşitli canlı grubunda en yaygın tespit edilen genler farklı CTX-M enzimlerini kodlamaktadır. Bu genleri başta *bla*_{TEM-52} ve *bla*_{SHV-12} olmak üzere diğer TEM ve SHV tipleri takip etmektedir (Hasman ve ark. 2005; Smet ve ark. 2010; Ewers ve ark., 2011).

Hayvanlarda gözlenen ilk klinik GSBL varlığı 2000 yılında üriner sistem infeksiyonu olan bir köpekten SHV-12 sentezleyen *E.coli* izolasyonu ile olmuştur (Teshager ve ark., 2000). Kanatlıların GSBL'lerin taşıyıcısı olarak ilk belirlenmesi Brinas ve ark. (2003) ile olmuş ve araştırmacılar İspanya'da 2000-2001 yılları arasında sağlıklı tavukların dışkılarında CTX-M-14 ve SHV-12 sentezleyen *E.coli* varlığını göstermişlerdir. 1999-2002 yılları arasında Japonya'da sağlıklı tavuklardan CTX-M-14 ve CTX-M-2 sentezleyen bakterilerin izolasyonu bildirilmiştir (Kojima ve ark., 2005). Domuzlar ve sığırlarda farklı GSBL tiplerinin varlığını gösteren çalışmalarda açıklanmıştır (Duan ve ark., 2006). Dünyadaki GSBL ile ilgili yapılan çalışmaların büyük çoğunluğu insan kaynaklı izolatlaraya yönelik olmasına rağmen, ikinci sırayı hayvanlara yönelik çalışmalar takip etmektedir. Çalışmalarda tespit edilen GSBL tiplerinin sıklığı % 0,6-44,7 arasında değişmektedir. Ayrıca, insanlarda görülen CTX-M-14 ve CTX-M-15 en yaygın tipler olmak üzere Asya'da da coğrafik orijinine bakılmaksızın çok sayıda araştırma bulunmaktadır. Avrupa'da hayvanlar arasında geniş yayılım gösteren tip CTX-M-1 (pet hayvanlarında %28, kanatlılarda %28, sığır ve domuzlarda %72) diğer bölgelerde ve habitatlarda nadiren rapor edilmektedir. Genel olarak, CTX-M-14 Asya'da pet hayvanlarında ve tavuklarda, az oranda da sığır ve domuzlarda en yaygın beta-laktamaz tipidir. CTX-M-14 Avrupa'da çiftlik hayvanlarında (%4-7) daha az bulunurken, pet hayvanlarında hemen hemen yok gibidir (Ewers ve ark., 2012).

Yapılan literatür çalışmalarında gerek insan gerekse hayvansal kaynaklı izole edilen bakterilerde GSBL türleri açısından önemli farklılıklar görülmüştür. Çeşitli çiftlik hayvanları ile ilgili çalışmalarda ise GSBL varlığının insanlar için gerekse de çift yönlü olarak GSBL taşıyıcılığına katkı sağladığı belirtilmiştir.



3. MATERYAL ve YÖNTEM

3.1. Materyal

3.1.1. Dışkı Örnekleri

Dışkı örnekleri Hatay merkez'de bulunan kafes kuşu yetiştiriciliği yapan 15 pet shop'dan rastgele seçilen çeşitli evcil kuş türlerinden alındı. Her pet shop'dan 10 olmak üzere toplam 150 farklı kafes kuşundan dışkı örnekleri toplandı. Çizelge 4.1'de örneklerin alındığı kuşlara ait bilgiler verilmiştir.

Çizelge 4.1. Kafes kuş türlerinin dağılımı

Kuş Türü Genel Adı	Bilimsel Adı	Örnek sayısı
Kanarya ve hibritleri	<i>Serinus canaria</i>	44
Muhabbet kuşu	<i>Melopsittacus undulatus</i>	34
Hint bülbülü (Zebra ispinoz)	<i>Poephila guttata</i>	33
Cennet papağanı	<i>Agapornis roseicollis</i>	7
Sultan papağanı	<i>Nymphicus hollandicus</i>	6
Kesik boğaz ispinoz	<i>Amadina fasciata</i>	6
Saka	<i>Carduelis carduelis</i>	6
Çalı kuşu	<i>Regulus regulus</i>	2
Sevda papağanı	<i>Psephotus pulcherrimus</i>	2
Gökkuşluğu ispinozu	<i>Chloebia gouldiae</i>	2
Kakariki papağanı	<i>Cyanoramphus novaezelandiae</i>	1
Afrika gri papağanı (Jako)	<i>Psittacus erithacus</i>	1
Pakistan papağanı	<i>Psittacula krameri</i>	1
Star ispinoz	<i>Neochmia ruficauda</i>	1
Çim ispinozu	<i>Poephila acuticauda</i>	1
İndigo ispinoz	<i>Vidua chalybeata</i>	1
Toplam Örnek sayısı		150

3.1.2. Kullanılan Besiyerleri, Antibiyotik ve Antibiyotik Diskleri

Dışkı svab örneklerinin taşınmasında Stuart Transport Medium (Cultiplast, İtalya), GSBL sentezleyen *E. coli* suşlarının izolasyonunda Eosine Methylen Blue (EMB) Agar (Bio Meriux, Fransa), izolatların pasajlanmasında Blood Agar (Merck, Almanya), izolatların saklanması Trypton Soy Broth (TSB) (Merck, Almanya), selektif izolasyon sağlamak üzere sefotaksim (Sigma, Almanya); izolatların antimikrobiyallere olan duyarlılıklarının belirlenmesinde Mueller-Hinton Agar (MHA) (Merck, Almanya), antibiyotik diskleri (Oxoid) [Ampicillin (AM 10 µg), Amoxicillin /

clavulanic acid (AMC 30 µg), Chloromphenicol (C 30 µg), Nalidixic acid (NA 30 µg), Tetracycline (TE 30 µg), Gentamicin (CN 10 µg), Ciprofloxacin (CIP 5 µg), Ceftazidime (CAZ 30 µg), Streptomycin (S 10 µg), Cefoxitin (FOX 30 µg), Cefotaxime (CTX 30 µg), Kanamycin (K 30 µg), Tobramycin (TOB 30µg), Cephalothin (KF 30 µg), Aztreonam (ATM 30 µg), Sulphamethoxazole/Trimethoprim (SXT 1,25 + 23,75 µg), Imipenem (IPM 10 µg), Cefotetan (CTT 30 µg), Amikacin (AK 30 µg), Cefpodoxime (CPD 10,30 µg), Ceftazidime (CZC 40 µg), Cefotaxime/clavulanic acid (CTC, 30 µg + 10 µg), Cefpodoxime (CPC 40 µg), Cefepime (FEB 30 µg)] kullanıldı.

3.1.3. PZR'da Kullanılan Kimyasallar

GSBL sentezleyen izolatlarda GSBL genlerinin PZR ile saptanması ve filogenetik grupların belirlenmesi amacıyla Taq Polymerase (Fermentas, Litvanya), 10× PCR Buffer (Fermentas, Litvanya), 25 mM MgCl₂ (Fermentas, Litvanya), 10 mM dNTP karışımı (Fermentas, Litvanya), 100 bç DNA Ladder (Fermentas, Litvanya), Agaroz (Sigma, Almanya), 6× Loading dye (Fermentas, Litvanya), Ethidium Bromide (Merck, Almanya), 10× TBE Buffer (Fermentas, Litvanya) ve primerler kullanıldı.

3.1.4. PZR'da Kullanılan Alet ve Ekipmanlar

Thermal Cycler (Biorad), elektroforez tankı, güç kaynağı (Thermo), jel dökümantasyon sistemi (UVP), soğutmalı santrifüj (Hettich), steril kabin (Bioair), vorteks (Velp Scientifica), hassas terazi (Presica) kullanıldı.

3.2. Yöntem

3.2.1. Genişlemiş Spektrumlu Beta-laktamaz (GSBL) Sentezleyen *E. coli* İzolasyonu ve İdentifikasyonu

Nisan-Haziran 2013 dönemlerinde rastgele seçilen pet shop'lardan taze gaita örnekleri steril svablarla alınarak, soğuk zincir koşullarında laboratuara getirildi. Örnekler 2 µg/ml sefotaksim (CTX) içeren EMB agar plaklarına ekilerek 37 °C'de 24 saat inkübe edildi. İnkübasyon sonrasında tipik metalik parlaklık veren kolonilerden biri seçilerek Kanlı Agar'da pasajlandı ve konvansiyonel metotlarla (Gram boyama, katalaz, oksidaz, indol, MR-VP, sitrat ve üreaz) identifikasyonları yapıldı. İzolatlar daha sonraki

çalışmalar için %20 gliserol içeren (v/v) Tryptic Soy Broth (TSB) içerisinde –20 °C’de saklandı.

3.2.2. GSBL Üretiminin Fenotipik Belirlenmesi

3.2.2.1. Çift Disk Sinerji Testi (ÇDST)

Bu test disk diffüzyon yönteminin standartları sağlanarak gerçekleştirildi. Mueller-Hinton Agar (MHA) yüzeyine, McFarland 0,5’e göre ayarlanan izolatlar inoküle edildi. İzolatların inoküle edildiği MHA’ın merkezine amoksisilin-klavulanik asit (10+20 µg) diski yerleştirilerek merkezden merkeze uzaklığı 25 mm olacak şekilde ölçülerek aztreonam (30 µg), seftazidim (30 µg) ve sefotaksim (30 µg) antibiyotik diskler pens ile dikkatli bir şekilde yerleştirildi. 18-20 saat 37 °C’de inkübasyon sonrası sonuçlar değerlendirildi. Aztreonam, seftazidim ve sefotaksim’e ait inhibisyon zonlarının klavulanik asit diskinin doğru genişlemesi veya iki inhibisyon zonu arasındaki bakteri üreyen alanda üremenin olmadığı bir bölgenin görülmesi, başka bir deyimle klavulanik asidin antibiyotiği güçlendirmesi durumunda izolat GSBL pozitif olarak kabul edildi (CLSI, 2012). Pozitif kontrol suşu olarak *K. pneumoniae* ATCC 700603, negatif kontrol suşu olarak ise *E. coli* ATCC 25922 kullanıldı.

3.2.2.2. Kombine Disk Yöntemi (KDY)

Kombine Disk Yöntem testi, ÇDST yöntemine benzer şekilde yapıldı. Bu testte farklı olarak, MHA besiyeri yüzeyine seftazidim (30 µg), seftazidim (30 µg)+klavulanik asit (10 µg), sefotaksim (30 µg), sefotaksim (30 µg)+klavulanik asit (10 µg) ve sefpodoksim (30 µg), sefpodoksim (30 µg)+klavulanik asit (10 µg) diskleri karşılıklı olarak yerleştirilerek 37 °C’de 18-24 saat inkübe edildi. Sefalosporin diskinin inhibisyon zonunun klavulanik asit varlığında ≥ 5 mm artması durumunda GSBL sonucuna karar verildi (CLSI, 2012). Kontrol amacıyla aynı standart suşlar kullanıldı.

3.2.2.3. İzolatların Antimikrobiyal Duyarlılıklarının Belirlenmesi

E. coli izolatlarının antimikrobiyal duyarlılık testi agar disk difüzyon yöntemi ile CLSI (2012) kriterlerine göre yapıldı ve değerlendirildi.

3.2.3. Moleküler Analiz

3.2.3.1. DNA İzolasyonu

İzolatlardan DNA izolasyonu kaynatma yöntemi ile yapıldı (Ahmed ve ark., 2007). Bu amaçla izolatlar 24 saat 5 ml TSB'da 37 °C'de inkübe edildikten sonra ependorf tüplere aktararak (200 µl kültür + 800 µl steril distile su) sıcak su banyosunda 90 °C'de 10 dk bekletildi ve 13 000 rpm/dk'da 10 dk santrifüj edildi. Süpernatant kısım moleküler analizlerde kullanılmak üzere başka ependorf tüplere aktararak -20 °C'de saklandı.

3.2.3.2. İzolatlarının Moleküler Doğrulanması

İzolatların moleküler konfirmasyonu, *E. coli* 16S rRNA geninin 401 bç'lik kısmının amplikasyonu E16S-a 5'-CCCCCTGGACGAAGACTGAC-3' ve E16S-b 5'-ACCGCTGGCAACAAAGGATA-3' primerleri kullanılarak yapıldı (Wang ve ark., 2002).

3.2.3.3. GSBL Sentezinden Sorumlu Genlerin Belirlenmesi

GSBL sentezleyen izolatlarda *bla_{SHV}*, *bla_{TEM}*, *bla_{CTX}*, *bla_{OXA}* genlerinin belirlenmesi Ahmed ve ark. (2007) tarafından bildirilen primerler ve amplifikasyon koşulları uygulanarak yapıldı. GSBL genlerinin belirlenmesinde ve sekans analizinde kullanılan primerler Çizelge 3.2.3.3.'de verilmiştir.

Çizelge 3.2.3.3. GSBL genlerinin belirlenmesinde ve sekans analizinde kullanılan primerler

Gen	Sekans (5' – 3')	Amplikon Büyüküğü (bç)	Kaynak
<i>bla</i> _{TEM} *	ATA AAA TTC TTG AAG ACG AAA GAC AGT TAC CAA TGC TTA ATC	1080	
<i>bla</i> _{SHV} **	TTA TCT CCC TGT TAG CCA CC GAT TTG CTG ATT TCG CTC GG	797	
<i>bla</i> _{SHV} ***	CGG CCT TCA CTC AAG GAT GTA GTG CTG CGG GCC GGA TAA C	927	
<i>bla</i> _{OXA} **	TCA ACT TTC AAG ATC GCA GTG TGT TTA GAA TGG TGA	610	Ahmed ve ark. (2007)
<i>bla</i> _{OXA} ***	GGC AAT CCA GCC GGG GCC AA CGG GCC TGT TCC CGG GTT AA	891	
<i>bla</i> _{CTX-M} **	CGC TTT GCG ATG TGC AG ACC GCG ATA TCG TTG GT	551	
<i>bla</i> _{CTX-M} ***	CCA GAA TAA GGA ATC CCA TG GCC GTC TAA GGC GAT AAA C	948	

*PZR ve sekanslamada kullanılan primer

**Sadece PZR için kullanılan primer

***Sadece sekanslama için kullanılan primer

3.2.3.4. DNA Dizi Analizi

GSBL pozitif izolatlarda *bla*_{TEM} ve *bla*_{CTX-M} genlerine ait PZR ürünlerinin DNA dizi analizi çift yönlü olarak hizmet alımı (Refgen) şeklinde yaptırıldı. Elde edilen DNA dizileri gen bankasındaki (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/>, <http://www.lahey.org/Studies/>) veriler ile karşılaştırılarak TEM ve CTX-M beta-laktamaz alt tipleri belirlendi.

3.2.3.5. Filogenetik Analiz

E. coli izolatlarının filogenetik olarak gruplandırılması (A, B1, B2 ve D) Clermont ve ark. (2000) tarafından bildirilen mPZR ile belirlendi. Filogenetik grupların belirlenmesinde kullanılan primerler Çizelge 3.2.3.5.'de verilmiştir (Clermont ve ark., 2000).

Çizelge 3.2.3.5. Filogenetik grupların belirlenmesinde kullanılan primerler

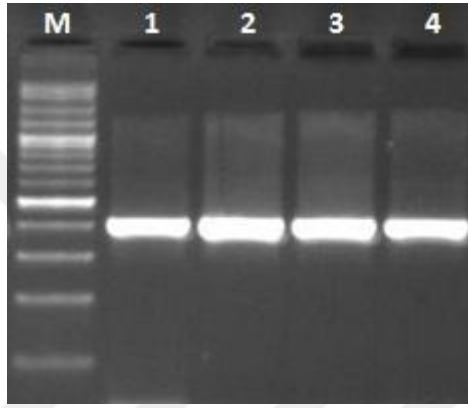
Gen	Sekans (5' – 3')	Amplikon Büyüküğü (bp)	Kaynak
<i>chuA</i>	GAC GAA CCA ACG GTC AGG AT TGC CGC CAG TAC CAA AGA CA	279	
<i>yjaA</i>	TGA AGT GTC AGG AGA CGC TG ATG GAG AAT GCG TTC CTC AAC	211	Clermont ve ark. (2000)
<i>TspE4C2</i>	GAG TAA TGT CGG GGC ATT CA CGCGCCAACAAAGTATTACG	152	

4. ARAŞTIRMA BULGULARI ve TARTIŞMA

4.1. GSBL Sentezleyen *E. coli* İzolasyonu

İncelenen 150 fekal svab örneğın 4'ünden (%2,7) fenotipik yöntemlerle GSBL yönünden pozitif *E. coli* izole edildi. İzolatların 3'ünü *Melopsittacus undulatus* (muhabbet kuşu), 1'ini ise *Poephila guttata* (hint bülbülü) oluşturmuştur.

İzolatların hepsi genotipik olarak da *E. coli* spesifik 16S rRNA primeri ile yapılan PZR'da pozitif bulundu (Şekil 4.1).



Şekil 4.1. *E. coli* spesifik 16S rRNA primerleri kullanılarak yapılan PZR bulguları. (M: Marker; Kuyucuk 1-4: *E. coli* pozitif izolatlar (401 bç).

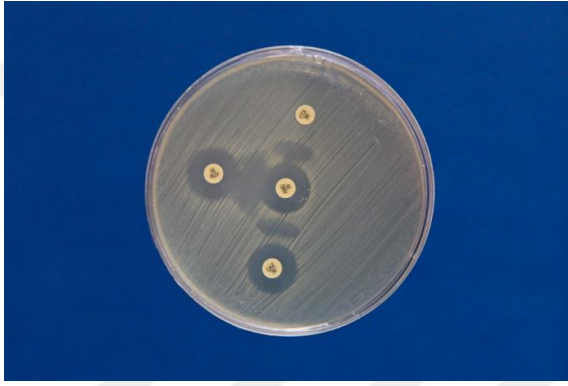
4.2. Fenotipik Doğrulama Testleriyle GSBL Üretiminin Tespiti

4.2.1 Çift Disk Sinerji Testi (ÇDST)

Dört beta-laktam antibiyotik diski çift disk sinerji yöntemi ile test edildi. Diskler arası 25 mm olacak şekilde yapılan testte sinerjinin varlığına göre izolatların tamamı GSBL üretimi yönünden pozitif değerlendirildi. Şekil 4.2 ve Şekil 4.2.1.'de pozitif sonuçlar gösterilmiştir.



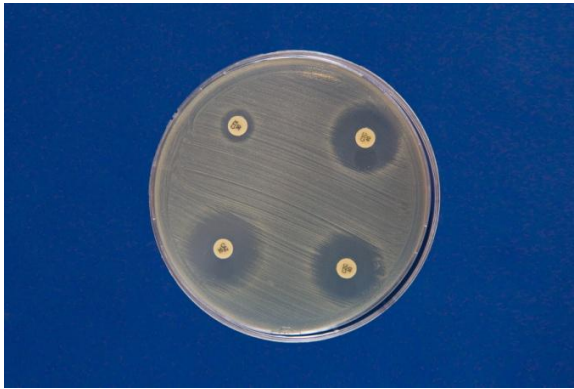
Şekil 4.2. ÇDST ile belirlenen GSBL pozitifliği



Şekil 4.2.1. ÇDST ile belirlenen GSBL pozitifliği

4.2.2. Kombine Disk Yöntemi (KDY)

Her izolatta antibiyotik kombinasyon diskleri etrafındaki inhibisyon zon çapları birbirinden farklı olmakla birlikte, klavulanik asit içermeyen disk etrafındaki zon $\geq 5\text{mm}$ 'den daha büyük ölçüldü. Bu bakımdan tüm izolatlar GSBL üretimi açısından pozitif olarak değerlendirildi (Şekil 4.2.2.).



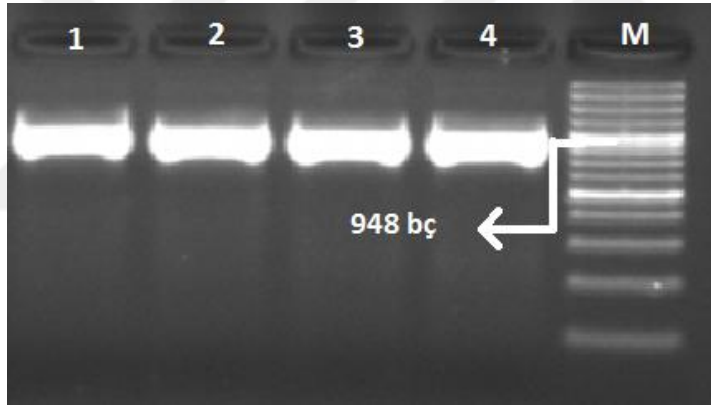
Şekil 4.2.2. KDY ile belirlenen GSBL pozitifliği

4.3. İzolatların Antimikrobiyal Duyarlılıklarının Belirlenmesi

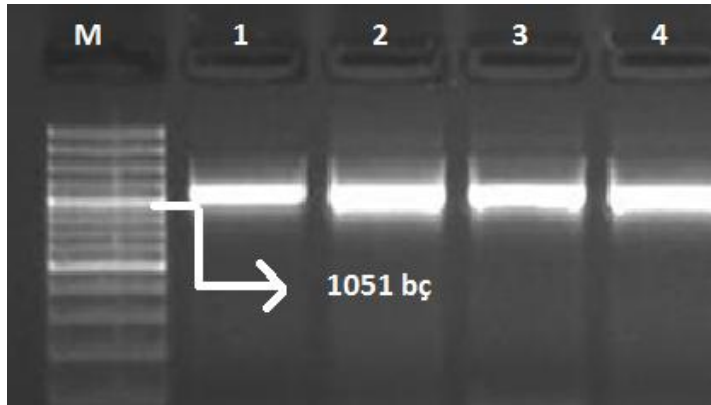
GSBL sentezleyen izolatların tamamı gentamisin, imipenem, sefotetan, amikasin, sefoksitin ve tobramisine duyarlı; ampisilin, amoksisilin/klavulanik asit, aztreonam, nalidiksik asit, cefhalotin, siprofloksasin ve tetrasikline dirençli bulundu. Diğer direnç oranları sırasıyla cefepime (%50), kloramfenikol (%50), streptomisin (%50), sülfametoksazol/trimetoprim (% 50) ve kanamisin (% 25) olarak tespit edildi.

4.4. GSBL Enzim Tiplerinin Belirlenmesi ve DNA Dizi Analizi

İzolasyonları ve fenotipik doğrulamaları yapılan 4 *E. coli* suşunun TEM, SHV, CTX-M ve OXA primerleri kullanılarak yapılan PZR analizleri sonucunda, tüm örnekler CTX-M ve TEM yönünden pozitif bulunurken, SHV ve OXA yönünden negatif bulundu (Şekil 4.4, 4.5).



Şekil 4.4. *bla*_{CTX-M} pozitif izolatlar

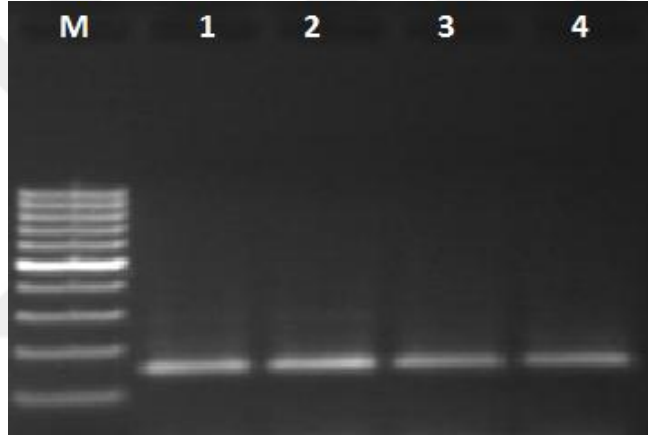


Şekil 4.5. *bla*_{TEM} pozitif izolatlar

Sekans primerleri kullanılarak elde edilen PZR ürünleriyle yapılan DNA dizi analiz sonuçlarının BLAST analizleri sonucunda, CTX-M pozitif izolatlardan 2'si CTX-M-1, 2'sinin ise CTX-M-15 alt tiplerine yüksek oranda benzerlik gösterdiği, TEM pozitif izolatların ise tamamının TEM-1b alt tipi ile yüksek oranda benzerlik gösterdiği tespit edilmiştir.

4.5. Tripleks PZR ile *E.coli* Suşlarının Filogenetik Gruplarının Belirlenmesi

GSBL pozitif izolatların tamamının Clermont filogenetik gruplamasına göre B1 grubunda yer aldığı belirlendi. (Şekil 4.6).



Şekil 4.6. GSBL pozitif *E. coli* suşlarında tripleks PZR belirlenen filogenetik gruplar

Tüm GSBL pozitif izolatların antibiyotik direnç fenotiplerine göre dağılımları, GSBL genleri ve filogenetik grupları Çizelge 4.2.'de toplu bir şekilde verilmiştir.

Çizelge 4.2. GSBL pozitif izolatların filogenetik grup, GSBL genleri ve antimikrobiyal direnç fenotipine göre dağılımı

Suşlar	Filogenetik Grup	Genotip		Fenotip
		bla _{CTX}	bla _{TEM}	
A35 <i>Melopsittacus undulatus</i>	B1	CTX-M-1	TEM-1b	AM, AMC,NA, CIP, KF, ATM, TE
A40 <i>Poephila guttata</i>	B1	CTX-M-15	TEM-1b	FEB, AM, AMC, CIP, S, ATM, NA, KF, SXT, TE, C
A42 <i>Melopsittacus undulatus</i>	B1	CTX-M-15	TEM-1b	FEB, K, AM, AMC, NA, CIP, S, ATM, KF, SXT, TE, C
A55 <i>Melopsittacus undulatus</i>	B1	CTX-M-1	TEM-1b	AM, AMC, NA, CIP, KF, ATM, TE

4.6. Tartışma

Gram negatif bakterilerde beta-laktam antibiyotiklerine direnç oluşumunda temel mekanizma, mikroorganizmaların pek çoğunun sentezlediği beta-laktamazlardır. Beta-laktamazlar gram negatif bakteriler arasında en önemli direnç mekanizmalarından biridir. Gerek insan gerekse veteriner hekimliğinde beta-laktam antibiyotiklerin bilinçsiz kullanımı GSBL sentezleyen bakterilerin seleksiyonuna sebep olmuştur. Bu durum GSBL yönünden pozitif bakterilerin bulaşma riskini de artırmaktadır.

Dünyadaki farklı hayvan türlerinden veya klinik örneklerden izole edilen *Enterobacteriaceae* familyasında yer alan bakterilerde farklı GSBL türlerinin varlığının arttığı bildirilmiştir (Ewers ve ark., 2012). Türkiye'de yapılan çalışmalar incelendiğinde evcil hayvan türlerinden ve klinik materyallerinden izole edilen bakterilerde GSBL varlığı üzerinde yapılmış çalışma sayısı oldukça azdır (Dinç ve ark. 2012; Küçükbasmacı ve ark., 2008). Özellikle kafes kuşlarında GSBL üretiminin varlığına yönelik herhangi bir çalışma bulunmamaktadır.

Amerika Birleşik Devletleri'nde papağan kuşlarıyla yapılan çalışmada %13,6 *E. coli* (Graham ve Graham, 1978) izolasyonu, Almanya'da yapılan bir çalışmada ise (Glunder, 1980) %17,3 enterik bakteri, sağlıklı muhabbet kuşu ve hint bülbülü ile yapılan çalışmalarda ise enterik bakteri izolasyonu sırasıyla %9 ve %17 olarak tespit edilmiştir. Benzer şekilde Flammer ve Drewes (1987)'in yaptıkları araştırmada %31 *E. coli*, Giacopello ve ark. 2015'de kanaryalarla yaptıkları çalışmada %35,2 *E. coli* varlığı tespit edilirken, GSBL varlığına yönelik herhangi bir çalışma yapılmamıştır. Türkiye'de sağlıklı kafes kuşlarında GSBL sentezleyen bakterilerin belirlenmesine yönelik bir çalışma bulunmamaktadır.

Bu çalışmada GSBL sentezleyen *E. coli* prevelansı Hatay ilinde çeşitli kafes kuşu yetiştiriciliği yapan pet shop'lardan alınan örneklerde % 2,7 olarak tespit edildi. Farklı ülkelerde yabanıl kuş türlerinde GSBL pozitif *E.coli* taşıyıcılığını belirlemeye yönelik çok az çalışma yapılmış ve bulunma sıklığının önemli düzeyde farklılık gösterdiği görülmüştür. Yabanıl hayvanlardaki ilk GSBL varlığına yönelik Costa ve ark. (2006) bu oranı %16 olarak belirlemiştir. Amerika Birleşik Devletleri'nde kompaniyon hayvanlarda yapılan GSBL prevelansına yönelik çalışmalarda ise %3, %40 ve %68 gibi değişen oranlarda sonuçlar bulunmuştur (Ma ve ark., 2009; O'Keefe ve ark., 2010; Shaheen ve ark., 2011). Araştırmada elde edilen bulgular deneysel çalışmalarımıza benzerdir. GSBL sıklığında gözlenen bu oransal farklılığın coğrafik bölge farklılığı, örnekleme yöntemi ve sayı farklılıklarından kaynaklandığı düşünülmektedir.

Bu çalışmada plazmid kaynaklı TEM ve OXA tipi genler tespit edilmedi. GSBL genlerinin *bla*_{TEM} ve *bla*_{CTX-M} familyasına ait olduğu ve tüm izolatların bu genlerden *bla*_{TEM-1b}'yi içerdiği, CTX-M grubundan ise iki izolatın *bla*_{CTX-M-1} ve iki izolatın *bla*_{CTX-M-15} içerdiği belirlenmiştir. *bla*_{TEM-1b}'nin beta-laktamaz dirençli *E. coli* izolatlarında (gıdalardan, insan klinik izolatlarından, sağlıklı hayvanlardan ve yabanıl kuşlardan) en yaygın bulunan gen olduğu gösterilmiştir (Brinas ve ark., 2005; Poeta ve ark., 2009; Pinto ve ark., 2010) . Yapılan benzer çalışmalarda *bla*_{CTX-M-1} ve *bla*_{CTX-M-15}'in de yabanıl kuşlarda en yaygın CTX-M alt tipi olduğu ve çalışmamızla uyum gösterdiği görülmüştür (Costa ve ark., 2004; Costa ve ark., 2007; Girlich ve ark., 2007; Poeta ve ark., 2008; Pinto ve ark., 2010). Farklı ülkelerde yapılan çalışmalarda bu genlerin sağlıklı ve hasta hayvanlarda yaygın olduğunu ve değişik GSBL genlerinin

bulduğunu doğrulamaktadır. Bu durum GSBL sentezine yönelik genlerin sıklığında coğrafik olarak farklılık olabileceği ile açıklanabilir.

Plazmidlerde taşınan GSBL sentezinden sorumlu genler beta-laktam antibiyotikler dışındaki antimikrobiyal maddelere de (aminoglikozid, trimetoprim-sulfametoksazol, kloramfenikol, tetrasiklin, kinolonlar) dirence neden olan diğer genleri de yapılarında taşıdıklarından, çoklu dirence ve bu izolatlardan kaynaklanan infeksiyonların tedavisindeki seçeneklerinin azalmasına neden olmaktadır (Perez ve ark., 2007). Çalışmamızdaki GSBL pozitif izolatlarda saptanan çoğul direnç bu bakımdan önem taşımaktadır. Çünkü çoklu antibiyotik dirençli GSBL pozitif *E. coli* izolatlarının kafeste yetiştiriciliği yapılan evcil kuş türlerindeki varlığı gerek insan gerekse hayvan sağlığı açısından büyük risk oluşturmaktadır. Beta-laktam olmayan antibiyotiklerin evcil hayvanlarda kullanımı da GSBL direnç genlerinin seleksiyonuna neden olmaktadır. Bu durum antimikrobiyal maddelerden herhangi birinin kullanımı da diğer genlerin yeniden seleksiyonuna neden olabilmektedir. Beta-laktam antibiyotiklerin kullanılmadığı çiftlik hayvanlarıyla ilgili yapılan çalışmalarda çeşitli GSBL direnç genlerinin belirlenmesi bu duruma kanıt olarak gösterilebilir (Schmid ve ark., 2013). Domuz, kanatlı ve çeşitli büyükbaş hayvanlardan izole edilen *E. coli* 'ler arasında gözlenen en yaygın antimikrobiyal direnç tetrasiklin, ampisilin, aminoglikozidler ve sülfometoksazole karşı belirlenmiştir (Guerra ve ark., 2003).

Clermont ve ark. (2000) yaptıkları filogruplamaya göre *E. coli* suşları dört gruba (A, B1, B2 ve D) ayrılmaktadır. Filogenetik gruplandırma filogenetik grup ve virulens genleri arasında bağlantı kurmada ve potansiyel patojenik suşların belirlenmesinde tarama amaçlı olarak kullanılmaktadır (Clermont ve ark., 2000). Pinto ve ark. (2010)'nın avcı kuşlarla yapmış olduğu çalışmada, GSBL pozitif *E. coli* izolatlarının dominant olarak A ya da B1 (% 72) filogenetik grubuna dahil olduğunu rapor etmişlerdir. Asai ve ark. (2011) hasta çiftlik hayvanlarından izole edilen 72 *E. coli* suşundan GSBL pozitif olan örneklerden 6'sının sırasıyla A (n=3), B1 (n=2) ve D (n=1) filogenetik grubunda yer aldığını saptamışlardır. Çalışma sonuçlarımıza göre GSBL pozitif izolatlarının tümü B1 filogenetik grubunda yer almaktadır. Benzer filogenetik çalışma sonuçları dikkate alındığında GSBL genlerinin kommensal *E. coli* izolatları arasında daha fazla yayılım gösterdiği düşünülebilir.

5. SONUÇ ve ÖNERİLER

İnsan ve hayvansal kaynaklı çoklu direnç gösteren bakterilerin ortaya çıkışı muhtemel bir sağlık sorununa ve antimikrobiyal direncin de artışına neden olmaktadır.

Bu çalışma ile Türkiye'de ilk kez çeşitli kafes kuşlarında TEM-1b, CTX-M-1 ve CTX-M 15 sentezleyen fekal *E. coli* taşıyıcılığı tespit edilmiştir. Hatay ilinde satışı ve yetiştiriciliği yapılan kafes kuşlarının GSBL sentezleyen *E. coli* bakımından potansiyel rezervuar olduğunu göstermiştir. İnsanlarla yakın temas halinde bulunan bu evcil kuşların taşıyıcılık yönünden halk sağlığı açısından da risk oluşturabileceği düşünülmektedir.

Kafes kuşlarında antimikrobiyal maddelerin bilinçli olarak kullanılmasının gerekliliği, antimikrobiyal direncin sürekli olarak izlenmesinin halk sağlığı açısından önemli olduğu sonucuna varılmıştır. GSBL sentezleyen bakterilerin epidemiyolojisinin tam olarak anlaşılabilmesi için daha ileri düzeyde çalışmaların yapılması gerekmektedir. Elde edilen sonuçların bu çalışmanın devamına ya da başka araştırmacıların çalışmalarına ışık tutacağı inancındayız.

KAYNAKLAR

- Ahmed, A.M., Motoi, Y., Sato, M., Maruyama, A., Watanabe, H., Fukumoto, Y., Shimamoto, T., 2007. Zoo Animals As A Reservoir of Gram Negative Bacteria Harboring Integrins and Antimicrobial Resistance Genes. **Appl. Environ. Microbiol.**, 73 (20): 6686-6690.
- Asai, T., Masani, K., Sato, C., Hiki, M., Usui, M., Baba, K., Ozawa, M., Harada, K., Aoki, H. and Sawada, T. 2011. Phylogenetic groups and cephalosporin resistance genes of *Escherichia coli* from diseased food-producing animals in Japan. **Acta Veterinaria Scandinavica**, 53: 52.
- Baydan, E., Kaya, S., Uzun, R., 1996. Kafes kuşlarında ilaç kullanımı. **Türk Vet. Hek. Derg.**, 8 (3): 22-41.
- Bilgehan, H., 1992. Enterobacteriaceae Klinik Mikrobiyolojik Tanı. **Fakülteler Kitabevi**, Ankara.
- Bonfiglio, G., Russo, G., Nicoletti, G., 2002. Recent developments in carbapenems. **Expert Opin on Investig Drugs**, 11 (4): 529-544.
- Bonnedahl, J., and Jarhult, J.D., 2014. Antibiotic resistance in wild birds. **Upsala Journal of Medical Sciences**, 119 (2): 113-116.
- Bonnet, R., 2004. Growing group of extended-spectrum β -lactamases: the CTX-M enzymes. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, 48 (1): 1-14.
- Bonomo, R. A., Rudin, S.A, Shlaes, D.M., 1997. Tazobactam is a Potent Inactivator of Selected Inhibitor-Resistant Class A β -lactamases. **FEMS Microbiology Letters**, 148 (1): 59-62.
- Bradford, P.A., 2001. Extended-Spectrum β -Lactamases in the 21st Century: Characterization, Epidemiology, and Detection of This Important Resistance Threat. **Clinical Microbiology Reviews**, 14 (4): 933-951.
- Brinas, L., Moreno, M.A., Zarazaga, M., Porrero, C., Sa'enz, Y., García, M., Dominguez, L. and Torres, C., 2003. Detection of CMY-2, CTX-M-14, and SHV-12 beta lactamases in *E.coli* fecal-sample isolates from healthy chickens. **Antimicrob Agents Chemother**, 47 (6): 2056-2058.
- Brinas, L., Moreno, M.A., Teshager, T., Saenz, Y., Porrero, Mc., Dominguez, L., Torres, C., 2005. Monitoring and characterization of extended-spectrum beta-lactamases in *Escherichia coli* strains from healthy and sick animals in Spain in 2003. **Antimicrob Agents Chemother**, 49(3): 1262-1264.
- Bush, K., Jacoby, G.A. and Medeiros, A.A., 1995. A functional Classification Scheme for β -Lactamases and its Correlation with Molecular Structure, **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, 39(6): 1211-1233.
- Bush, K., Jacoby, G.A., 2010. Updated functional classification of β -lactamases, **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, 54(3): 969-976.
- Canton, R., Coque, T.M., 2006. The CTX-M Beta-Lactamase Pandemic. **Current Opinio in Microbiology**, 9(5): 466-475.
- Canton, R., Novais, A., Valverde, A., Machado, E., Peixe, L., Baquero, F. and Coque, T.M., 2008. Prevalence and spread of extended spectrum beta-lactamase-producing *Enterobacteriaceae* in Europe. **Clin Microbiology and Infection**, 14(1): 144-154.
- Carattoli, A., 2008. Animal reservoirs for extended-spectrum beta lactamase producers. **Clin Microbiology and Infection**, 14(1): 117-123.
- Chen, Y., Delmas, J., Sirot, J., Shoichet, B., Bonnet, R., 2005. Atomic Resolution Structures of CTX-M β -Lactamases: Extended Spectrum Activities from

- Increased Mobility and Decreased Stability. **Journal of Molecular Biology**, 348(2): 349-362.
- Clermont, O., Bonacorsi, S., Bingen, E., 2000. Rapid and simple determination of the *Escherichia coli* phylogenetic group. **Applied and Environmental Microbiology**, 66(10): 4555-4558.
- CLSI., 2012. Performance standarts for antimicrobial susceptibility testing. Clinical and Laboratory Standart Institute. Seventeenth informational suplement, M100-S22. Wayne,PA.
- Cormican, M.G., Marshall, S.A. and Jones, R.N., 1996. Detection of extended-spectrum beta-lactamase (ESBL)-producing strains by the Etest ESBL screen. **Journal of Clinical Microbiology**, 34(8): 1880–1884.
- Costa, D., Poeta, P., Brinas, L., Saenz, Y., Rodrigues, J. and Torres, C., 2004. Detection of CTX-M-1 and TEM-52 beta-lactamases in *Escherichia coli* strains from healthy pets in Portugal. **Journal of Antimicrob Chemotherapy**, 54 (5): 960-961.
- Costa, D., Poeta, P., Sa'enz, Y., Vinue, L., Bezares, B.R., Jouini, A., Zarazaga, M., Rodrigues, J. and Torres, C., 2006. Detection of *Escherichia coli* harbouring extended-spectrum β -lactamases of the CTX-M, TEM and SHV classes in faecal samples of wild animals in Portugal. **J. Antimicrob. Chemother**, 58(6): 1311-1312.
- Dağlar, D., Öngüt, G., 2012. Genişlemiş Spektrumlu Beta-laktamazlar ve Tanı Yöntemleri, **İnönü Üniv. Sağlık Bilimleri Dergisi**, 1:1-9.
- Dalhoff, A., Janjic, N., Echols, R., 2006. Redefining Penems. **Biochemical Pharmacology** 71(7): 1085-1095
- Datta, N., Kontomichalou, P., 1965. Penicillinase Synthesis Controlled by Infectious R Factors in Enterobacteriaceae. **Nature**, 208(5007): 239-241.
- Demir, N., 2006. Gram Negatif Bakterilerde Genişlemiş Spektrumlu Beta-Laktamaz (GSBL) Üretimine Katkıda Bulunan Çeşitli Risk Faktörlerinin Araştırılması. **Tıpta Uzmanlık Tezi**. Sağlık Bakanlığı Dr. Lütfi Kırdar Kartal Eğitim ve Araştırma Hastanesi, İstanbul.
- Dinç, G., Ata, Z. ve Temelli, S., 2012. Sığır mastitislerinden izole edilen *Escherichia coli* suşlarında genişlemiş spektrumlu beta-laktamaz aktivitesi ve antibiyotik dirençlilik profilinin incelenmesi, 2012, **Ankara Üniv Vet Fak Derg**, 59, 85-88.
- Duan, R.S., Sit, T. H., Wong, S. S., Wong, R.C., Chow, K.H., Mak, G.C., Yam, W.C., Ng, L.T., Yuen, K.Y. and Dr. Ho, P.L., 2006. *E.coli* producing CTX-M beta-lactamases in food animals in Hong Kong. **Microbial Drug Resistance**, 12(2): 145-148.
- Dutour, C., Bonnet, R., Marchandin, H., Boyer, M., Chanal, C., Sirot, D., Sirot, J., 2002. CTX-M-1, CTX-M-3 and CTX-M-14 β -lactamases from Enterobacteriaceae isolated in France. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, 46(2): 534-537.
- Ebani, V. V., Fratini, F., Annali, 2005. Bacterial Zoonoses Among Domestic Reptiles. **Fac. Med. Vet. LVIII**, 85-91.
- Eckert, C., Gautier, V. and Arlet, G., 2006. DNA sequence analysis of the genetic environment of various bla_{CTX-M} genes. **Journal of Antimicrobial Chemotherapy**, 57(1): 14-23.
- Elmacıoğlu, S., 2013. Sığırlarda Geniş Spektrumlu Beta Laktamaz Sentezleyen *Escherichia coli* Prevalansının Belirlenmesi. **Y. Lisans Tezi**, M.K.Ü, Hatay.

- Essack, S., 2001. The development of beta-lactam antibiotics in response to the evolution of beta-lactamases. **Pharmaceutical Research**, 18(10): 1391-1399.
- Ewers, C., Grobbel, M., Bethe A., Wieler, L.H., Guenther, S., 2011. Extended-spectrum beta-lactamases-producing gram negative bacteria in companion animals: action is clearly warranted, **Berl. Münch. Tierärztl. Wschr.**, 124:94-101.
- Ewers, C., Bethe, A., Semmler, T., Guenther, S., Wieler, L.H. 2012. Extended-spectrum β -lactamase-producing and AmpC-producing *Escherichia coli* from livestock and companion animals, and their putative impact on public health: a global perspective, **Clinical Microbiology and Infection**, 18(7): 646-655.
- Flammer, K., Drewes, L.A., 1987. Species-Related Differences in the Incidence of Gram-Negative Bacteria Isolated from the Cloaca of Clinically Normal Psittacine Birds. **Avian Diseases**, 32(1): 79-83.
- Fındık, D., 2008. *Escherichia* Türleri. (W.A. Topçu, G. Söyletir, M. Doğanay, Editörler). **Enfeksiyon Hastalıkları ve Mikrobiyolojisi**, 3. Baskı, 2136-2147.
- Ghosh, S., LaPara, T. M., 2007. The effects of subtherapeutic antibiotic use in farm animals on the proliferation and persistence of antibiotic resistance among soil bacteria. **ISME Journal**, 1:191–203.
- Giacopello, C., Foti, M., Fisichella, V., Lo Piccolo, F., 2015. Antibiotic resistance Patterns of gram negative bacterial Isolates from breeder Canaries (*Serinus canaria domestica*) with clinical disease. **Journal of Exotic Pet Medicine**, 24(1): 84-91.
- Girlich, D., Poirel, L., Carattoli, A., Kempf, I., Lartigue, M., Bertini, A. and Nordmann, P., 2007. Extended-spectrum β -lactamase CTX-M-1 in *Escherichia coli* isolates from healthy poultry in France. **Appl. Environ. Microbiol.** 73(14): 4681–4685.
- Glünder, G., 1980. Occurrence of Enterobacteriaceae in Feces of Granivorous Passeriform Birds. **Avian Diseases**, 25(1): 195-198
- Glünder, G., 2002. Influence of diet on the occurrence of some bacteria in the intestinal flora of wild and pet birds. **Dtsch Tierarztl Wochenschr**, 109(6): 266-270
- Graham C.L. and Graham D.L., 1978. Occurrence of *Escherichia coli* in Feces of Psittacine Birds. **Avian Diseases**, 22(4): 717-720.
- Guerra, B., Junker, E., Schroeter, A., Malorny, B., Lehmann, S., Helmuth, R., 2003. Phenotypic and genotypic characterization of antimicrobial resistance in German *Escherichia coli* isolates from cattle, swine and poultry. **J. Antimicrob. Chemother.** 52(3): 489–492.
- Günaydın, M., 2013. Çoklu Dirençli *Escherichia coli* İzolatlarında CTX-M, SHV ve TEM Tiplerindeki Beta-laktamaz Direnç Genlerinin Moleküler Yöntemlerle Saptanması. **Yüksek Lisans Tezi**, Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniv.
- Hall, L.M.C., Livermore, D.M., Gur, D., Akova, M. and Akalin, H.E. 1993. OXA-11, An Extended-Spectrum Variant of OXA-10 (PSE-2) β -lactamase from *Pseudomonas aeruginosa*. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, 37(8): 1637-1644.
- Hasman, H., Mevius, D., Veldman, K., Olesen I, Aarestrup., 2005. Beta-lactamases among extended-spectrum beta-lactamase (ESBL) resistant *Salmonella* from poultry, poultry products and human patients in The Netherlands. **J Antimicrob Chemother**, 56(1): 115-121.
- Ho, P.L., Chow, K.H., Yuen K.Y., Ng, W.S, Chau, P.Y., 1998. Comparison of a novel, inhibitor-potentiated disc-diffusion test with other methods for the detection of

- extended-spectrum beta-lactamases in *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae*. **J Antimicrob Chemother**, 42(1): 49–54.
- Huletsky, A., Knox, J.R., Levesque, R.C. 1993. Role of Ser-238 and Lys-240 in the Hydrolysis of 3rd Generation Cephalosporins by SHV-type Beta-Lactamases Probed by Site-Directed Mutagenesis and 3-Dimensional Modeling. **The Journal of Biological Chemistry**, 268(5): 3690-3697.
- Jarlier, V., Nicolas, M.H., Fournier, G. and Philippon, A. 1988. Extended Broad-Spectrum β -Lactamases Conferring Transferable Resistance to Newer β -Lactam Agents in Enterobacteriaceae: Hospital Prevalence and Susceptibility Patterns. **Clinical Infectious Diseases**, 10(4): 867-878.
- Kamburoğlu, A., 2011. GSBL üreten *E. coli* ve *Klebsiella* spp. izolatlarından beta laktamaz direncinin PZR ile araştırılması. KTÜ, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Y. Lisans Tezi.
- Khadori, N., 2006. Antibiotics- past, present and future, **Med Clin. North America**, 90(6): 1049-1076.
- Kojima, A., Ishii, Y., Ishihara, K., 2005. Extended-Spectrum- β -Lactamase-Producing *Escherichia coli* Strains Isolated from Farm Animals from 1999 to 2002: Report from the Japanese Veterinary Antimicrobial Resistance Monitoring Program. **Antimicrob Agents Chemother**, s. 49(8): 3533-3537.
- Küçükbaşmacı, O., Çiftçioğlu, G., Midilli, K., Issa, G., 2008. Detection of extended spectrum β -Lactamase producing *Enterobacteriaceae* from food animals In Turkey. **Revue Méd. Vét**, 159(12): 586-592.
- Livermore, D.M. and Williams, J.D., 1996. Antibiotics in Laboratory Medicine. β -lactams: Mode of action and mechanisms of bacterial resistance. **Antibiotics in laboratory medicine**, 52(4): 502-578.
- Ma, J., Zeng, Z., Chen, Z., Xu, X., Wang, X., Deng, Y., Lu, D., Huang, L., Zhang, Y., Liu, J. and Wang, M., 2009. High Prevalence of Plasmid-Mediated Quinolone Resistance Determinants *qnr*, *aac(6')-Ib-cr*, and *qepA* among Ceftiofur-Resistant *Enterobacteriaceae* Isolates from Companion and Food-Producing Animals. **Antimicrob. Agents Chemother**, 53(2): 519–524.
- Madigan, M.T., Martinko, J.M., 2010. Brock Biology of Microorganisms. (Prof. Dr. C. Çökmüş, Editör). 11. Baskı, s. 683.
- Matsumoto, Y., Ikeda, F., Kamimura, T., Yokota, Y., Mine, Y., 1988. Novel plasmid-mediated beta-lactamase from *Escherichia coli* that inactivates oxyimino-cephalosporins. **Antimicrob Agents Chemother**, 32(8): 1243–1246.
- Medeiros, A.A., 1997. β -lactamases:Quality and Resistance. **Clinical Microbiology and Infection**, 3(4): 2-9.
- Murray, P.R., Baron, E., Jorgensen, J.H., Landry, M.L., Pfaller, M.A., 2009. Klinik Mikrobiyoloji. (A. Başustaoğlu, Editör). **Atlas Kitapçılık**, s:1077-1083, Ankara.
- O'Keefe, A., Hutton., T. A., Schifferli., D. M. and Rankin., S. C., 2010. First detection of CTX-M and SHV extended-spectrum-lactamases in *Escherichia coli* urinary tract isolates from dogs and cats in the United States. **Antimicrob. Agents Chemother**. 54(8): 3489–3492.
- Overdeest, I., Willemson, I., Rijnsburger, M., Eustace, A., Xu, Li., Hawkey, M.P., Heck, M., Savelkoul, P., Vanderbroucke-Grauls, C., Zwaluw, K., Huijsolens, X. and Kluytmans, J., 2011. Extended-spectrum beta-lactamase genes of *E. coli* in

- chicken meat and humans. **The Netherlands Emerg Infect Dis**, 17(7): 1216-1222.
- Öcal, D., 2012. Gram Negatif Bakterilerde Antibakteriyal Direncin Fenotipik Yöntemler İle Tayin Ve Bildirim. **ANKEM Derg**, s. 26:154-164.
- Öner, A.C., ve Şahin, A., 2009. Egzotik hayvanlarda antibakteriyel tedavi. **YYÜ Vet Fak Der**, 20(1): 81-86.
- Özsoy, M.F., Öncül, O., Yıldırım, A., Pahsa, A., 2001. Genişletilmiş spektrumlu betalaktamazlar klinik önemi ve getirdiği sorunlar. **Flora Dergisi**, s. 6(1): 3-23.
- Perez, F., Endimiani, A., Hujer, K.M., Bonomo, R.A., 2007. The continuing challenge of ESBLs. **Curr Opin Pharmacol**, 7(5): 459-469.
- Petek, M., 2004. Kafes Kuşları. **Uludağ Üniv. J. Fak. Vet. Med.** 23(1-2-3): 131-136.
- Pinto, L., Radhouani, H., Coelho, C., Costa, P.M., Simoes, R., Brandao, R.M.L., Torres, C., Igrejas, G. and Poeta, P., 2010. Genetic Detection of Extended-Spectrum-Lactamase-Containing *Escherichia coli* Isolates from Birds of Prey from Serra da Estrela Natural Reserve in Portugal. **Applied and Environmental Microbiology**, 76(12): 4118-4120.
- Pitout, J.D., Laupland, K.B., 2008. Extended-spectrum beta-lactamase-producing *Enterobacteriaceae* an emerging public-health concern. **Lancet Infect Dis**, 8(3): 159-166.
- Pitout, J.D., 2012. Extraintestinal pathogenic *E.coli*: A combination of virulence with antibiotic resistance. **Frontiers in Microbiology**, 11(3): 315-317.
- Poeta, P., Radhouani, H., Igrejas, G., Gonçalves, A., Carvalho, C., Rodrigues, J., Vinue, L., Somalo, S. and Torres, C., 2008. Seagulls of Berlengas Natural Reserve of Portugal as carriers of faecal *Escherichia coli* harbouring extended-spectrum beta-lactamases of the CTX-M and TEM classes. **Appl Environ Microbiol**, 74(23): 7439–7441.
- Poeta, P., Radhouani, H., Pinto, L., Martinho, A., Rego, V., Rodrigues, R., Gonçalves, A., Rodrigues, R., Estepa, V., Torres, C. and Igrejas, G., 2009. Wild boars as reservoirs of extended spectrum β -lactamases *Escherichia coli* isolates of the A, B1 and B2 phylogenetic groups. **J. Basic Microbiol**, 49(6): 584-588.
- Poirel, L., Gniadkowski, M., Nordmann, P., 2002. Biochemical analysis of the ceftaxidime-hydrolysing extended-spectrum beta-lactamase CTX-M-15 and its structurally related beta-lactamase CTX-M-3. **J Antimicrob Chemother**, 50(6): 1031–1034.
- Saladin, M., Cao, V.T.B., Lambert, T., Donay, J.L., Herrmann, J.L., Ould-Hocine, Z., Verdet, C., Delisle, F., Philippon, A., Arlet, G. 2002. Diversity of CTX-M Betalactamases and Their Promoter Regions from Enterobacteriaceae Isolated in Three Parisian Hospitals. **FEMS Microbiology Letters**, 209(2): 161-168.
- Sato, G., Oka, C., Asagi, M., Ishiguro, N., 1978. Detection of conjugative R plasmids conferring chloramphenicol resistance in *Escherichia coli* isolated from domestic and feral pigeons and crows. **Zentralbl Bakteriolog Orig A**, 241(4): 407–417.
- Schmid, A., Hörmansdorfer, S., Messelhäusser, U., Käsbohrer, A., Sauter-Louis, C., Mansfeld, R., 2013. Prevalence of Extended-Spectrum β -Lactamase-Producing *Escherichia coli* on Bavarian Dairy and Beef Cattle Farms. **Appl Applied Microbiol**, 79(9): 3027–3032.
- Shaheen B. W., Nayak R., Foley S.L., Kweon O., Deck C., Park M., Rafii F., Boothe D.M., 2011. Molecular Characterization of Resistance to Extended-Spectrum

- Cephalosporins in Clinical *Escherichia coli* Isolates from Companion Animals in the United States. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, 55(12): 5666-5675.
- Sili, U., Mert, A., 2010. 1986'dan 2010'a Beta-laktamaz İnhibitörleri. **Ankem Dergisi**, 24: 28-32.
- Smet, A., Martel, A., Persoons, D., Dewulf, J., Heyndrickx, M., Herman, L., Haesebrouck, F., Butaye, P., 2010. Broad-spectrum beta-lactamases among *Enterobacteriaceae* of animal origin: molecular aspects, mobility and impact on public health. **FEMS Microbiol. Rev**, 34(3): 295–316.
- Sridhar, R., 2012. www.microrao.com
- Tang, S.S., Apisarnthanarak, A., Hsu, L.Y., 2014. Mechanisms of β -lactam antimicrobial resistance and epidemiology of major community and healthcare associated multidrug-resistant bacteria. **Advanced Drug Delivery Reviews**, 78: 3-13.
- Temizkan, G., ve Arda, N., 2008. Moleküler Biyolojide Kullanılan Yöntemler. **Nobel Tıp Kitabevi**, 101-103, İstanbul.
- Teshager, T., Dominguez, L., Moreno, M.A., Saenz, Y., Torres, C., Cardenosa, S., 2000. Isolation of an SHV-12 beta- lactamase producing *Escherichia coli* strain from a dog with recurrent urinari tract infections. **Antimicrob Agents Chemother**, 44(12): 3483-3484.
- Thomson, K.S., Sanders, C.C., 1992. Detection of extended-spectrum beta-lactamases in members of the family *Enterobacteriaceae*: comparison of the double-disk and three-dimensional tests. **Antimicrob Agents Chemother**, 36(9): 1877–1882.
- Tzouveleakis, L.S., Bonomo, R.A., 1999. SHV-type β -lactamases. **Current Pharmaceutical Design**, 5: 847-864.
- Vercauteren, E., Descheemaeker, P., Ieven, M., Sanders, C.C., Goossens, H., 1997. Comparison of screening methods for detection of extended spectrum beta-lactamases and their prevalence among blood isolates of *Escherichia coli* and *Klebsiella* spp. in a Belgian teaching hospital. **J Clin Microbiol**, 35(9): 2191–2197.
- Walther -Rasmussen, J., Hoiby, N., 2004. Cefotaximases (CTX-M-ases): An Expanding Family of Extended-Spectrum Beta-lactamases. **Canadian Journal of Microbiology**, 50(3): 137-165.
- Wang, G., Clark, C.G., Rodgers, F.G., 2002. Detection in *Escherichia coli* of the genes encoding the major virulence factors, the genes defining the O157:H7 serotype, and components of the type 2 Shiga toxin family by multiplex PCR. **J Clinical Microbiology**, 40(10): 3613-3619.
- <http://www.lahey.org/Studies>, 2013.
- <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/> ve <http://www.lahey.org/Studies/>, 2013.

ÖZGEÇMİŞ

Yazar, 1983 yılında S. Arabistan Tebuk'te doğdu. İlkokul, Ortaokul ve Yabancı Dil Ağırlıklı Lise'yi Hatay'da tamamladı. 2002 yılında Mustafa Kemal Üniversitesi, Fen Edebiyat Fakültesi Biyoloji Bölümünü kazandı. Üniversiteden 2006 yılında mezun oldu. Üniversite 3. sınıfta (2005) IAESTE (The International Association for the Exchange of

the Students for Technical Experience-Milletlerarası Teknik Stajyer Öğrenci Mübadelesi Birliği)'nin Mustafa Kemal Üniversitesi'nde yapılan sınavında başarılı olarak, öğrenci değişim programı ile ALMANYA/JENA, Hans Knöll Institut Araştırma Enstitüsünde Mikrobiyoloji, Moleküler Biyoloji ve Genetik alanlarında 2 ay bilimsel çalışmalar yaparak stajını tamamladı. 2012 yılında Mustafa Kemal Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Biyoloji Anabilim Dalında Yüksek Lisans Öğrenimine başladı. 2013 yılında "**Kültürel Yapılarda Biyolojik Bozunma Mekanizmaları**" adlı Seminerini başarıyla sundu. Aynı başlıklı derlemesi 2014 yılında Elektronik Mikrobiyoloji Dergisi TR (www.mikrobiyoloji.org/pdf/702140101.pdf)'de yayınlanmıştır.





