

T.C.
MUSTAFA KEMAL ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
MİKROBİYOLOJİ (VET) ANABİLİM DALI

**SİĞİRLARDA GENİŞ SPEKTRUMLU BETA-LAKTAMAZ
SENTEZLEYEN *ESCHERICHIA COLI* PREVALANSININ
BELİRLENMESİ**

YÜKSEK LİSANS TEZİ
Sibel ELMACIOĞLU

Danışman

Doç. Dr. Özkan ASLANTAŞ

HATAY – 2013

T.C.
MUSTAFA KEMAL ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
MİKROBİYOLOJİ (VETERİNER) ANABİLİM DALI

**SİĞİRLARDA GENİŞ SPEKTRUMLU BETA-LAKTAMAZ
SENTEZLEYEN *ESCHERICHIA COLI* PREVALANSININ
BELİRLENMESİ**

YÜKSEK LİSANS TEZİ
Sibel ELMACIOĞLU

Danışman

Doç. Dr. Özkan ASLANTAŞ

Bu tez, Mustafa Kemal Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından
8440 nolu proje olarak desteklenmiştir.

HATAY – 2013

T.C.
MUSTAFA KEMAL ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
MİKROBİYOLOJİ (VETERİNER) ANABİLİM DALI

**SIĞIRLARDA GENİŞ SPEKTRUMLU BETA-LAKTAMAZ
SENTEZLEYEN *ESCHERICHIA COLI* PREVALANSININ
BELİRLENMESİ**

Yüksek Lisans Tezi

Sibel ELMACIOĞLU

Bu tez aşağıda isimleri yazılı tez jürisi tarafından 05/09/2013 günü sözlü olarak yapılan tez savunma sınavında oybirliği ile kabul edilmiştir.

Tez Jürisi: Jüri Başkanı : Doç. Dr. Özkan ASLANTAŞ
Üye : Yrd. Doç. Dr. Zafer CANTEKİN
Üye : Yrd. Doç. Dr. Ebru Şebnem YILMAZ

Bu tez Enstitümüz Mikrobiyoloji Anabilim Dalı'nda hazırlanmıştır.

../09/2013

Prof. Dr. İbrahim KÜRTÜL

Sağlık Bilimleri Enstitüsü Müdürü

TEŞEKKÜR

Yüksek Lisans öğrenimim boyunca bana yol gösteren, tez konumun seçiminden tamamlanmasına kadar geçen her aşamada bana maddi, manevi yardımı ve bilgisiyle her türlü desteği sağlayan, danışman hocam Doç. Dr. Özkan ASLANTAŞ'a teşekkürlerimi sunarım.

Tez aşamasındaki çalışma sürecinde yardımlarını esirgemeyen hocalarım; Doç. Dr. Hasan SOLMAZ ve Yrd. Doç. Dr. Zafer CANTEKİN'e; birlikte çalışmaktan mutluluk duyduğum değerli arkadaşlarım Gamze Özge ÖZMEN, Eyalettin ÖZTÜRK ve Kerem KÖSE'ye teşekkür ederim.

Hayatım boyunca desteklerini ve sevgilerini esirgemeyen, her zaman bana güvenip başarı ya da başarısızlığımda hep yanımda olan, kendileriyle gurur duyduğum annem, Şengül ELMACIOĞLU, babam Yalçın ELMACIOĞLU ve kardeşlerime sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

İÇİNDEKİLER

Kabul ve Onay	II
TEŞEKKÜR	III
İÇİNDEKİLER	IV
ŞEKİLLER DİZİNİ	VI
ÇİZELGELER DİZİNİ	VII
SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ	VIII
ÖZET	IX
ABSTRACT	X
1. GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER	2
2.1. Beta-laktam Antibiyotiklere Direnç Mekanizmaları	5
2.1.1. Beta-laktamazlar	6
2.1.2. Geniş Spektrumlu Beta-laktamazların İsimlendirilmesi	7
2.1.3. Geniş Spektrumlu Beta-laktamazların Sınıflandırılması	8
2.1.3.1. Geniş Spektrumlu Beta-laktamazlar (GSBL)	10
2.1.3.1.1. TEM Grubu GSBL'ler	10
2.1.3.1.2. SHV Grubu GSBL'ler	11
2.1.3.1.3. CTX-M Grubu GSBL'ler	11
2.1.3.1.4. OXA Grubu GSBL'ler	12
2.1.3.1.5. Diğer GSBL'ler	13
2.1.3.1.5.1. GES Tip GSBL'ler	13
2.1.3.1.5.2. PER Tip GSBL'ler	13
2.1.3.1.5.3. VEB Tip GSBL'ler	14
2.1.4. Hayvanlarda GSBL Sentezleyen <i>Escherichia coli</i> 'nin Dağılımı	14
2.1.5. GSBL Tanı Yöntemleri	16
2.1.5.1. GSBL Tarama Testleri	16
2.1.5.1.1. Disk Difüzyon Tarama Testi	16
2.1.5.2. GSBL Doğrulama Testleri	17
2.1.5.2.1. Çift Disk Sinerji Testi	17
2.1.5.2.2. Kombine Disk Sinerji Testi	17

2.1.5.2.3. E Test Yöntemi	18
2.1.5.2.4. Mikrodilüsyon Yöntemi	18
2.1.5.2.5. Üç Boyutlu Test	18
2.1.5.2.6. Otomatize Sistemler	19
2.1.5.2.7. Moleküler Yöntemler	19
3. GEREÇ ve YÖNTEM	
3.1. Gereç	21
3.1.1. Rektal Svab Örnekleri	21
3.1.2. Kullanılan Besiyerleri, Antibiyotik ve Antibiyotik Diskleri	21
3.1.3. PZR'da Kullanılan Buffer, Solüsyon, Primer ve Enzimler	21
3.1.4. PZR'da Kullanılan Alet ve Ekipmanlar	22
3.2.Yöntem	22
3.2.1. Genişlemiş Spektrumlu Beta-Laktamaz (GSBL) Sentezleyen <i>Escherichia coli</i> İzolasyonu ve İdentifikasyonu	22
3.2.2. GSBL Sentezinin Fenotipik Olarak Belirlenmesi	22
3.2.2.1. Çift Disk Sinerji Testi	22
3.2.2.2. Kombinasyon Disk Yöntemi	23
3.2.2.3.GSBL Sentezleyen İzolatların Antimikrobiyal Duyarlılıklarının Belirlenmesi	23
3.2.2.4. Kontrol Suşları	23
3.2.3. Moleküler Analiz	23
3.2.3.1. DNA Ekstraksiyonu	23
3.2.3.2. <i>Escherichia coli</i> izolatlarının Moleküler Konfirmasyonu	24
3.2.3.3. GSBL Sentezinden Sorumlu Genlerin Belirlenmesi	24
3.2.3.4. DNA Dizi Analizi	25
3.2.3.5. Filogenetik Analiz	26
4. BULGULAR	27
5. TARTIŞMA	33
6. SONUÇ	37
7. KAYNAKLAR	38
ÖZGEÇMİŞ	44

ŞEKİLLER DİZİNİ

	Sayfa No
Şekil 2.1. Beta-laktam grubu antibiyotikler.....	3
Şekil 2.2. Beta-laktamazın etki mekanizması.....	7
Şekil 4.1. <i>E. coli</i> spesifik 16S rRNA primerleri kullanılarak yapılan PZR bulguları...	27
Şekil 4.2. Çift Disk Sinerji Testi ile belirlenen GSBL pozitifliği.....	28
Şekil 4.3. Çift Disk Sinerji Testi ile belirlenen GSBL pozitifliği	28
Şekil 4.4. Disk Kombinasyon Yöntemi ile belirlenen GSBL pozitifliği.....	28
Şekil 4.5. <i>bla</i> _{TEM} pozitif izolatlar.....	31
Şekil 4.6. <i>bla</i> _{CTX} pozitif izolatlar.....	31
Şekil 4.7. GSBL pozitif <i>E. coli</i> suşlarında tripleks PZR belirlenen filogenetik gruplar	32

ÇİZELGELER DİZİNİ

	Sayfa No
Çizelge 2.1. Bush-Jacoby-Medeiros ve Ambler sınıflandırmaları.....	9
Çizelge 3.1. GSBL genlerinin belirlenmesinde ve sekans analizinde kullanılan primerler	25
Çizelge 3.2. Filogenetik grupların belirlenmesinde kullanılan primerler.....	26
Çizelge 4.1. GSBL pozitif izolatların filogenetik grup, GSBL genleri ve antimikrobiyal direnç fenotipine göre dağılımı.....	30

SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ

CLSI	Clinical Laboratory Standards Institute
ÇDST	Çift Disk Sinerji Testi
DDTT	Disk Difüzyon Tarama Testi
DNA	Deoksiribonükleik asit
EMB	Eosin Methylene Blue
GSBL	Genişlemiş Spektrumlu Betalaktamaz
IRT	İnhibitör Rezistan
KDY	Kombine Disk Yöntemi
LCR	Ligase Chain Reaction
MHA	Mueller Hinton Agar
MİK	Minimal İnhibitör Konsantrasyonu
NAMA	N-Asetil Muramik asit
OMP	Dış Membran Protein
PBP	Penisilin Bağlayan Protein
PZR	Polimeraz Zincir Reaksiyonu
RFLP	Restriction Fragment Length Polymorphism
RNA	Ribonükleik asit
SSCP	Single Strand Conformational polymorphism
TSB	Tryptic Soy Broth

ÖZET

Sığırlarda Genişlemiş Spektrumlu Beta-laktamaz Sentezleyen *Escherichia coli* Prevalansının Belirlenmesi

Bu çalışmada, Hatay'da yetiştirilen sığırlarda geniş spektrumlu beta-laktamaz (GSBL) sentezleyen *Escherichia coli* prevalansının belirlenmesi amaçlandı. Rektal svab örneklerinden 2 mg/L sefotaksim içeren Eosine Methylene Blue (EMB) agara ekimleri yapıldı. Pozitif izolatlar fenotipik doğrulama testleri ile konfirme edildi ve GSBL tipi polimeraz zincir reaksiyonu (PZR) ve sekans analizi ile araştırıldı. GSBL pozitif izolatların antimikrobiyal duyarlılıkları disk difüzyon testi ile filogenetik dağılımları ise PZR ile belirlendi. GSBL sentezleyen *E. coli* rektal svab örneklerinin %8.3'ünden (26/312) izole edildi. İzolatlarda en yaygın GSBL genleri sırasıyla *bla*_{TEM-1b} (n=21), *bla*_{CTX-M-15} (n=12), *bla*_{CTX-M-1} (n=1), *bla*_{CTX-M-3} (n=2) ve *bla*_{OXA} (n=1) olarak tespit edildi. Fakat izolatlarda *bla*_{SHV} geni tespit edilmedi. GSBL pozitif izolatların tamamı sefotetan ve imipeneme duyarlı bulunurken; ampisilin (%100), seftriakson (%100), sefalotin (%96.2), sefaperozon (%88.5), streptomisin (%80.8), sulfametoksazol/trimetoprim (%76.9), tetrasiklin (%73.1), kloramfenikol ve kanamisin (%50), nalidiksik asit ve amoksisilin/klavulanik asit (%46.2), aztreonam (%38.5), siprofloksasin (%34.6), gentamisin (%11.5) ve sefoksitine (%3.8) değişen oranlarda direnç saptandı. Filogenetik analizler GSBL pozitif izolatların B1 (n=13, %50), A (n=9, %34.6) ve D1 (n=1, %3.8) olmak üzere 3 grupta yer aldığını gösterdi.

Bu çalışma ile Türkiye'de ilk kez sığırlarda CTX-M-15, CTX-M-11, CTX-M-3 ve OXA-1 üreten fekal *E. coli* taşıyıcılığı tespit edilmiştir. Ayrıca, mevcut çalışmanın sonuçları Hatay ilinde yetiştirilen gerek süt ve gerekse de besi sığırlarının GSBL sentezleyen *E. coli* yönünden potansiyel rezervuar olduğunu göstermektedir. Bu nedenle, GSBL sentezleyen bakteriler dahil antimikrobiyal dirençli bakteriler hayvanlarda sürekli olarak izlenmeli ve GSBL pozitif bakterilerin klonal yayılımının önlenmesi için antibiyotikler bilinçli olarak kullanılmalıdır.

Anahtar Kelimeler: Genişlemiş spektrumlu beta-laktamaz, *Escherichia coli*, sığır

ABSTRACT

Determination of the Prevalence of Extended Spectrum Beta-lactamase Producing *Escherichia coli* in Cattle

In this study, it was aimed to determine the prevalence of extended-spectrum beta-lactamase (ESBLs) producing *Escherichia coli* in cattle in Hatay. Rectal swab samples were spread on the Eosin Methylene Blue (EMB) agar containing cefotaxime (2 mg/L). Isolates were confirmed using ESBL confirmatory tests. ESBL types were investigated by polymerase chain reaction (PCR) and sequencing. Antimicrobial susceptibility of the isolates was determined by disk diffusion method and distribution of phylogenetic groups was also determined by PCR. ESBL producing *E. coli* was isolated from 8.3% (26/312) of rectal swab samples. The most common ESBL gene was *bla*_{TEM-1b} (n=21), followed by *bla*_{CTX-M-15} (n=12), *bla*_{CTX-M-1} (n=1), *bla*_{CTX-M-3} (n=2), and *bla*_{OXA} (n=1). However, *bla*_{SHV} gene was not detected. All ESBL positive isolates were found to be sensitive to cefotetan and imipenem, while variable rates of resistance were determined against other antimicrobials including ampicillin (100%), ceftriaxone (100%), cefalothin (96.2%), cefepime (88.5%), streptomycin (80.8%), trimethoprim-sulfamethoxazole (76.9%), tetracycline (73.1%), chloramphenicol and kanamycin (50%), nalidixic acid, amoxicillin/clavulanic acid (46.2%), aztreonam (38.5%), ciprofloxacin (34.6%), gentamycin (11.5%) ve ceftiofur (3.8%). Phylogenetic analysis revealed three groups being B1 (n=13, 50%), A (n=9, 34.6%), and D1 (n=4, 15.4%).

For the first time, faecal carriage of CTX-M-15, CTX-M-11, CTX-M-3 and OXA-1 producing *E. coli* was detected in cattle in Turkey. In addition, results of the present study showed that both dairy cattle and beef cattle are potential reservoir of ESBL producing *E. coli* in Hatay. Therefore, continuous monitoring for antimicrobial resistant bacteria including ESBL producing bacteria in animals and prudent use of antimicrobials is necessary to prevent their clonal spread.

Key Words: Extended spectrum beta-lactamase, *Escherichia coli*, cattle

1. GİRİŞ

Escherichia coli intestinal florada kommensal olarak yaşayan suşlar dahil farklı patotipleri de içeren kompleks bir türdür. Ekstraintestinal patojenik *E. coli* suşlarının ciddi infeksiyonlardaki rolleri hem veteriner kliniği yönünden hem de zoonotik potansiyelleri yönünden son yıllarda dikkat çekmektedir.

Hayvan orijinli antimikrobiyal dirençli bakterilerin sayısındaki artış 20 yıl önceki insanlarda gözlenen duruma benzerlik göstermektedir. 1990'lı yılların sonundan itibaren Gram negatif bakterilerde özellikle de *Enterobacteriaceae* familyası üyelerinde geniş spektrumlu sefalosporinlere direncin dünya genelinde ortaya çıkışı önemli endişe kaynağı olmuştur. Geniş spektrumlu sefalosporinlere dirence aracılık eden genişlemiş spektrumlu beta-laktamaz'lar (GSBL) başlangıçta TEM ve SHV tip beta-laktamazlardan köken almasına rağmen, CTX-M tipi beta-laktamazların önemi son 10 yılda artmıştır ve günümüzde insanlarda en yaygın olan ve halen artış gösteren GSBL tipi haline gelmiştir. Bu tip beta-laktamazlar monobaktam'lar dahil oksimino beta-laktamlara (sefalosporinler, sefotaksim, seftriakson, seftazidim) dirence aracılık ederken; sefamisinlere (sefoksitin ve sefotetan) ise duyarlıdır ve beta-laktamaz inhibitörleri (klavulanik asit, tazobaktam ve sulbaktam) tarafından ise inhibe edilirler (Ewers ve ark. 2012).

GSBL sentezleyen bakteriler ilk olarak sadece insan hekimliğinde gözlemlenirken, 1990'lı yıllardan itibaren farklı hayvan türlerinde de gözlenmesi monitoring programlarının yoğunlaşmasına neden olmuştur. Günümüzde GSBL sentezleyen *E. coli* suşlarının artan oranda gıda amaçlı yetiştirilen hayvanlarda bulunması, hayvanların bu bakterilerin yayılımına katkı sağlayan bir infeksiyon kaynağı hatta rezervuarı olabileceği hipotezine yol açmıştır.

Bu çalışmada, (i) Hatay'da yetiştirilen sığırlarda GSBL sentezleyen *E. coli* prevalansının belirlenmesi, (ii) GSBL sentezleyen *E. coli* izolatlarının antimikrobiyal duyarlılıklarının disk diffüzyon yöntemi ile araştırılması, (iii) GSBL sentezinden sorumlu genlerin polimeraz zincir reaksiyonu (PZR) ile tespit edilmesi ve sekans analizi ile tipinin saptanması ve (iv) filogenetik analizlerinin yapılması amaçlanmıştır.

2. GENEL BİLGİLER

Antimikrobiyaller infeksiyöz hastalıkların tedavisinde kullanılan, bakterileri öldüren veya üremelerine mani olan ajanlardır. Antimikrobiyaller bakteriler üzerindeki etkilerini (i) protein sentezinin inhibisyonu, (ii) Deoksirübonükleik asit (DNA) /Ribonükleik asit (RNA) prekürsör sentezinin inhibisyonu, (iii) hücre duvarı sentezinin inhibisyonu ve (iv) DNA/RNA sentezinin inhibisyonu olmak üzere dört şekilde gösterirler (Walsh 2003).

Antimikrobiyaller sadece hastalıkların tedavisi amacıyla değil gıda yönlü yetiştirilen hayvanlarda profilaktik, metafilaktik ve büyümeyi artırmak amacıyla yem katkı maddesi olarak ta kullanılmaktadır. Büyümeyi artırıcı amaçla antimikrobiyallerin kullanımının 1999 yılında Avrupa Birliği ülkelerinde yasaklanmasına rağmen, özellikle profilaktik ve metafilaktik amaçlarla bu ajanların kullanımı farklı bakteri türleri arasında selektif baskı oluşturarak antimikrobiyal direnç gelişimine neden olmuştur (Schwarz ve Chaslus-Dancla 2001, Helmuth 2000). Selektif baskı antimikrobiyalin mikrobiyotada bulunan dirençli olan bakterilere duyarlı olan bakterilere karşı hayatta kalma avantajı sağlaması olarak ifade edilmektedir (Furuya ve Lowy 2006).

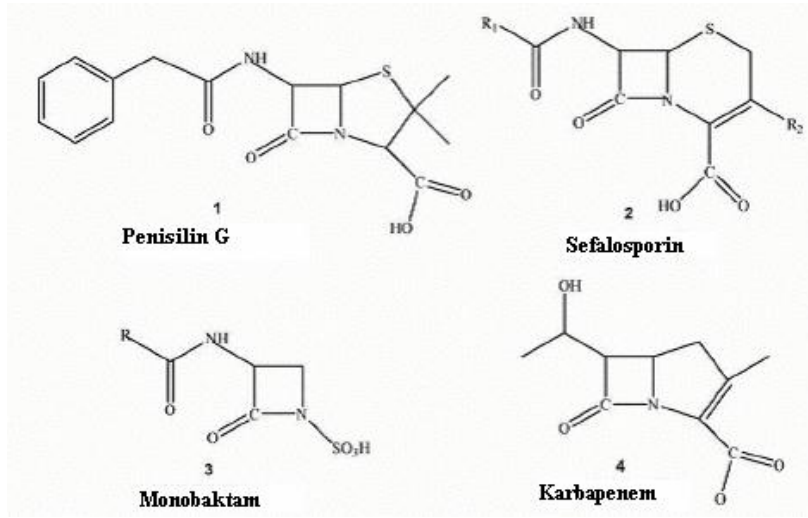
Dirençli bakteri suşlarının sayısında 1950'li yıllardan günümüze düzenli bir artış olduğu gözlenmektedir. Bu durum son 60 yıldır insan ve veteriner hekimliğinde, su ürünleri yetiştiriciliğinde, tarımda değişik amaçlarla antimikrobiyal ajanların kullanımından kaynaklanan yüksek selektif baskıya bağlanmaktadır (Schwarz ve Chaslus-Dancla 2001, Helmuth 2000). Antimikrobiyal direncin dikkat çeken diğer bir yönü çoğul dirençli patojenlerin neden olduğu hastalıkların tedavisinde antibiyotik seçeneklerinin oldukça sınırlı olmasıdır (Mulvey ve ark. 2006).

Bakterilerde direnç mekanizmaları (i) antimikrobiyallerin modifikasyonu veya yıkımlanması, (ii) antimikrobiyal ajanın hücre içinden efluks pompaları ile dışarı atılması, (iii) antimikrobiyalin hedefinin modifikasyonu ve (iv) hücre membran permeabilitesinin azalması olmak üzere dört ana başlık altında toplanmaktadır (Walsh 2003).

Beta-laktam'lar insan ve veteriner hekimlik alanında kritik öneme sahip antibiyotiklerdir (Li ve ark. 2007). Beta-laktam antibiyotikler etkisini bakterilerin hücre duvarında yer alan peptidoglikan tabakasının sentezini bozarak gösterir. Peptidoglikan

tabaka, N-asetil muramik asitin (NAMA) yapısında yer alan D-alanin molekülleri arasında transpeptidasyon reaksiyonu ile gerçekleşmektedir. Transpeptidasyon işlemi gerçekleştiren enzimlere (transpeptidaz) penisilin bağlayan proteinler (PBP) adı da verilmektedir. PBP'ler beta-laktam antibiyotiklerin temel hedefidir. Beta-laktam antibiyotikler PBP'lere bağlanarak transpeptidasyona mani olurlar (Gür 2002).

Beta-laktam antibiyotikler 4 ana grupta toplanmaktadır (Şekil 2. 1).



Şekil 2.1. Beta-laktam grubu antibiyotikler (Çolak 1999).

1. Penisilinler

Penisilinler esas olarak bir tiazolidin halkası, bir beta laktam halkası ve bir yan zincirden oluşmaktadır. Bakterisid etkilerinin yanında toksisiteleri de oldukça düşüktür. 1929'da Sir Alxendar Fleming tarafından ilk olarak doğal penisilinlerin keşfini sonraki yıllarda yarı sentetik penisilinlerin geliştirilmesi izlemiştir (Sarı 2005).

Doğal penisilinler: Penisilin G, prokain penisilin G, kristalize penisilin G, benzatin penisilin G, penisilin V (Fenoksi metil penisilin)

Penisilinaza dayanıklı penisilinler: Metisilin, nafsilin, izaksazolil penisilin, kloksasilin, dikloksasilin, flukloksasilin, oksasilin

Aminopenisilinler: Ampisilin, amoksisilin, bakampisilin, siklasilin, episilin, pivampisilin

Pseudomonaslara etkili penisilinler: Karbenisilin, indanilkarbenisilin (korindasilin), tikarsilin

Pseudomonaslara etkili geniş spektrumlu penisilinler: Azlosilin, mezlosilin, piperasilin

Amdinopenisilinler: Amdinosilin, pivamminosilin

2.Sefalosporinler

Penisilinlerde bulunan beta-laktam halkası yanında bulunan 5 üyeli tiazolidin halkası yerine, 6 üyeli bir dihidrotiazin halkası geçmesiyle sefalosporinler geliştirilmiştir. Dihidrotiazin halkasına yeni yan dalların ilavesi ile farklı ve çok sayıda sefalosporin elde edilmektedir. Kullanıma ilk girdikleri tarih ve etki spektrumuna göre sefalosporinler aşağıdaki şekilde sınıflandırılmıştır (Sarı 2005).

1. kuşak sefalosporinler: sefolatin, sefazolin, sefaloridin, sefalekssin, sefapirin, sefradin, sefadroksil, sefasetril, seftezol.

2. kuşak sefalosporinler: sefuroksim, sefoksitin, sefamandol, sefonisid, sefonarid, sefaklor, sefotiam, sefmetazol, sefotetan.

3. kuşak sefalosporinler: sefotaksim, seftizoksim, sefooperazon, seftriakson, moksolaktam, seftazidim, sefsulodin, sefmenoksim, sefpiramid

4. kuşak sefalosporinler: sefepim, sefpirom

3. Monobaktamlar

İlk geliştirilen sentetik monobaktam antibiyotik aztreonam'dır. Beta-laktam halkasına birleşik bir başka halka içermemelerinden dolayı penisilin ve sefalosporinlerden ayrılırlar. Aztreonam, Gram negatif bakterilerde penisilin bağlayan protein-3'e (PBP3) bağlanarak hücre duvarı sentezini bozar. Anaerob bakterilerin PBP3'üne düşük affinite gösterirken, Gram pozitif bakterilerin PBP3'üne ise bağlanamaz. Bu yüzden etki spektrumu Gram negatif aerob bakteriler ile sınırlıdır (Sarı 2005).

4. Karbapenemler

Karbapenemler *Streptomyces cattleya* tarafından üretilen bir bileşik olan tienamisin türevleridir. Beta-laktamların en geniş spektrumlu grubudur. Karbapenemler çok geniş antibakteriyel spektrumlu aktiviteye ve klinikte gözlenen birçok beta-laktamaza karşı stabildir. GSBL ve AmpC enzimini fazla miktarda sentezleyen Gram negatif bakterilere karşı etkinliklerini korurlar (Livermore ve ark. 1996). Ancak, sınıf B metallo-beta-laktamazlar dahil, karbapenemazlar bu antibiyotikleri hidrolize edebilmektedir. 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).

2.1. Beta-laktam Antibiyotiklere Direnç Mekanizmaları

Beta-laktam antibiyotiklere karşı başlıca 3 yolla direnç gelişir:

1. Hücre içinde beta-laktam antibiyotiğin konsantrasyonunun azalması :

Hücre içinde beta-laktam antibiyotiğin konsantrasyonunun azalması antibiyotiğin girişinin kısıtlanması (porin kaybı) veya efluks pompası ile antibiyotiğin dışarı atılması sonucu gerçekleşir. Gram negatif bakterilerde beta-laktam antibiyotiklerin hücre içine girişi dış membran proteini (OMP) adı verilen ve ortasında kanallar bulunan bu yapılar aracılığı ile gerçekleşmektedir (Gür 2002). OMP'lerinin yapısının mutasyonlara bağlı olarak değişmesi veya kaybolması beta-laktamlara karşı direncin gelişimine neden olur (Sanders 1996).

2. Hedef bölgede değişim :

Hedef bölgede (PBP) değişim mevcut PBP'lerin değiştirilmesi veya yeni PBP'lerin dışarıdan alınması suretiyle gerçekleşir. Hücre duvarında yer alan peptidoglikanın sentezinden sorumlu olan PBP'ler beta-laktam antibiyotiklerin hedefidir. Kromozomal mutasyonlar sonucu, PBP'nin beta-laktam antibiyotiğe karşı affinitesinde veya PBP miktarında azalma olması veya beta-laktam antibiyotiklere düşük afinite gösteren yeni PBP'lerin sentezlenmesi dirence neden olur. Gram pozitif koklardan *Streptococcus*

pneumoniae'da gözlenen penisilin direnci ve *Staphylococcus aureus*'ta gözlenen metisilin direnci bu mekanizma ile oluşmaktadır (Gür 2002).

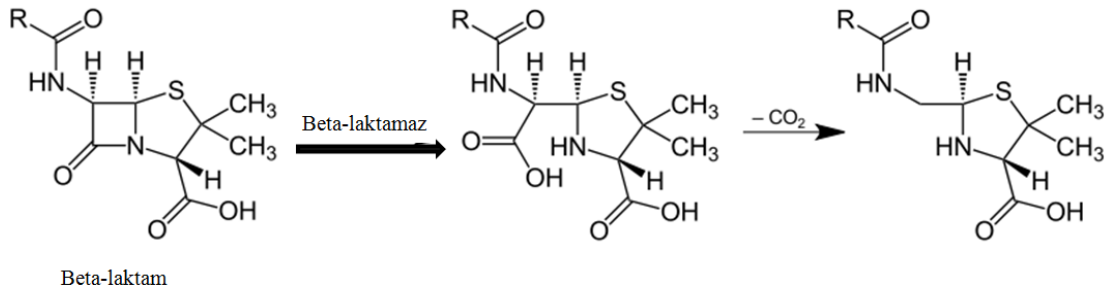
3. Beta-laktam antibiyotiğin parçalanması (Beta-laktamaz üretimi):

Beta-laktam antibiyotiğin parçalanması (i) beta-laktamaz üretiminin artması, (ii) beta-laktamaz yapısının modifikasyonu (mutasyon) ve (iii) farklı spektrumlu yeni beta-laktamazların sentezlenmesi suretiyle ortaya çıkmaktadır. Beta-laktam antibiyotiklere karşı klinikte en sık rastlanan direnç, bakterilerin bu antibiyotikleri inaktive eden beta-laktamaz enzimlerini sentezlemesi ile oluşmaktadır. Gram pozitif bakterilerde beta-laktamazlar genelde dış ortama salgılanırlar. Gram pozitif bakteriler içinde beta-laktamaz sentezleyen en önemli patojen *S. aureus*'tur. *S. aureus* enzimleri plazmid aracılı olarak sentezlenirler ve transformasyon aracılığı ile duyarlı hücrelere aktarılabilmektedir. Gram negatif bakterilerde ise beta-laktamazlar periplazmik boşluğa salgılanır ve kromozom ya da plazmid kontrolünde sentezlenir. Membrana bağlı enzimler ender olarak bildirilmektedir (Gür 2002).

2.1.1. Beta-laktamazlar

Beta-laktamazlar, beta-laktam halkasındaki siklik amid bağınyı parçalayarak beta-laktam ajanların etkisini ortadan kaldıran enzimlerdir (Şekil 2.2). Bu enzimler, penisilinler, 1. 2. ve 3. kuşak sefalosporinler, monobaktamlar ve karbapenemleri hidrolize ederler, klavulanik asit gibi beta-laktam inhibitörleri ile inhibe olurlar. Beta-laktamaz sentezi başta *Enterobacteriaceae* üyeleri olmak üzere Gram negatif bakterilerin beta-laktam direnç geliştirmesinde en önemli mekanizmadır (Gür 2002). Plazmid aracılığı ile sentezlenen ilk beta-laktamaz enzimi olan TEM-1, 1960'ların başında kan kültüründen izole edilen bir *E. coli* suşunda saptanmıştır. TEM-1 sentezinden sorumlu genlerin transpozon ve plazmid gibi hareketli genetik elementler üzerinde olması yayılımını kolaylaştırmış sonraki birkaç yıl içinde *Enterobacteriaceae*, *Pseudomonas*, *Haemophilus*

ve *Neisseria* türlerinde hızla yayılmıştır. Yaygın olarak gözlenen diğer bir beta-laktamaz olan SHV-1, *Klebsiella pneumoniae*'da kromozomal, *E. coli*'de plazmid aracılı olarak sentezlenir. Beta-laktamaz genlerinin hızlı yayılımı yeni beta-laktam grubu antibiyotiklerin üretilmesine neden olmuştur (Poirel ve ark. 2012).



Şekil 2.2. Beta-laktamazın etki mekanizması (Gülay 1999).

2.1.2. Geniş Spektrumlu 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 almışlardır. Buna karşın, bunlardan bazıları geçerliliklerini yitirmiştir. Örneğin SHV *sulphydryl variable*'dan kısaltılmış, buna karşın artık SHV-1 enziminin aktif bölgesinin “sulphydryl” 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. Bu konuda önerilen ise, TEM'den köken alan tüm enzimlerin TEM 26, TEM 43 gibi numara ile belirtilmesidir (Özsoy ve ark. 2001).

2.1.3. Geniş Spektrumlu Beta-laktamazların Sınıflandırılması

Beta-laktamazlar genellikle Ambler moleküler sınıflandırma ve Bush-Jacoby-Medeiros fonksiyonel sınıflandırma olmak üzere iki genel şemaya göre sınıflandırılırlar. Ambler sınıflandırması, beta-laktamazları bu enzimlerin moleküler yapısındaki aminoasit ve nükleotid dizilerindeki benzerliklerini dikkate alarak sınıf A, C ve D serin beta-laktamazlar ve sınıf B metallo-betalaktamazlar (MBL) olmak üzere dört gruba ayırır (Ambler 1980). Bush-Jacoby-Medeiros ise beta-laktamazları substrat profil spektrumu, enzim inhibisyon profili, enzimin net yükü ve protein molekül ağırlığı gibi özelliklerine göre dört gruba ayırmıştır. Grup 1; klavulanik asitle inhibe olmayan sefalosporinazları, Grup 2; klavulanik asit ile inhibe olan beta-laktamazları, Grup 3; aktivasyonları için çinkoya ihtiyaç duyan metallo beta-laktamazları, Grup 4; ise beta-laktamaz inhibitörleriyle inhibe olmayan beta-laktamazları içerir (Bush ve ark. 1995). Bush-Jacoby-Medeiros ve Ambler sınıflandırmaları Çizelge 2. 1’de gösterilmiştir.

Çizelge 2.1. Bush-Jacoby-Medeiros ve Ambler sınıflandırmaları (Bush ve ark. 1995).

Bush Medeiros-Jacoby Sistemi	Önemli Alt Gruplar	Ambler Sistemi	Belli Başlı Özellikler
Grup I sefalosporinazlar		C (Sefalosporinazlar)	Genellikle kromozomal, karbapenemler dışında tüm beta-laktamlara dirençli; klavulanik asit ile inhibisyon yok
Grup II penisilinazlar (klavulanik aside duyarlı)	2a	A (Serin beta laktamazlar)	Stafilokok penisilinazları
	2b	A	Geniş spektrumlu TEM-1, TEM-2, SHV-1
	2be	A	Genişlemiş spektrumlu çoğunlukla TEM ve SHV çeşitleri
	2br	A	İnhibitörlere dirençli TEM 30 ile TEM-36, TRC-1,
	2c	A	Karbenisilini hidroliz edenler, PSE-1, PSE-3, PSE-4
	2d	D (oksasilin hidrolizi)	Oksasilini hidroliz edenler (OXA), OXA-1 ile OXA-11, PSE-2 (OXA-10)
	2e	A	Klavulanik asit ile inhibe olan sefalosporinazlar
	2f	A	Klavulanik asit ile inhibe olan karbapenemazlar, NMC-A, IMI-1, GES-2, KPC-1
Grup III (metallo beta laktamazlar)	3a		Çinko bağımlı karbapenamazlar
	3b	B	
	3c		
Grup IV		Sınıflandırılmamış	Dizi analizi yapılmamış, çeşitli enzimler

2.1.3.1. Genişlemiş Spektrumlu Beta-laktamazlar (GSBL)

GSBL'ler TEM ve SHV enzimlerinden köken alan enzimlerdir. Geniş spektrumlu antibiyotikleri inhibe edebilme özelliklerinden dolayı bu isimle adlandırılmışlardır. Oksimin beta-laktam'lar, geniş spektrumlu penisilinleri, 3. kuşak sefalosporinleri ve kısmen sefepimi inaktive edebilirler. Sefamisin, karbapenem ve beta-laktamaz inhibitörlerine (tazobaktam, sulbaktam, klavulanik asit) ise duyarlı değildirler. Bush-Jacoby-Medeiros sınıflamasında grup 2'de; 2b, 2be ve 2d (Ambler moleküler sınıf D) alt gruplarında yer alırlar. GSBL'ler başta *Enterobacteriaceae* ailesi olmak üzere Gram negatif bakterilerde oldukça yaygındırlar. GSBL üretiminin en sık gözlemlendiği suşlar *Klebsiella pneumoniae* ve *E. coli*'dir. Ayrıca *Proteus* spp. *Providencia* spp. ve diğer *Enterobacteriaceae* türlerinde de bu enzime rastlanmıştır (Livermore ve Brown 2001).

GSBL enzimleri aslında TEM ve SHV enzimlerinin türevi olmasına rağmen son dönemlerde bu enzimlerle benzerlik göstermeyen CTX-M, PER, VEB gibi genişlemiş spektrumlu, plazmid kaynaklı GSBL'ler tanımlanmıştır. Tanımlanan enzimler bütün sefalosporinlere karşı etkilidir (Poirel ve ark. 2012).

2.1.3.1.1. TEM Tipi GSBL'ler

İlk kez 1965 yılında Yunanistan'da Temoneira isimli bir hastadan izole edilen *E. coli* suşunda rapor edilmiştir. TEM adı hastanın isminden (Temoneira) kaynaklanmaktadır. Halihazırda 196 TEM varyantı identifiye edilmiştir ve bunların büyük çoğunluğu (n=84) GSBL fenotipi göstermektedir (<http://www.lahey.org/studies/>). Tamamı TEM-1 veya TEM-2'den köken alırlar. Biyokimyasal karakteristiklerine göre (i) TEM-1 gibi geniş spektrumlu TEM varyantları (hidroliz spektrumunda sadece penisilinler ve ilk kuşak sefalosporinler yer almaktadır), (ii) inhibitör dirençli TEM varyantları (hidroliz spektrumunda sadece penisilinler ve ilk kuşak sefalosporinler yer almakla birlikte klavulanik asit ile inhibe olurlar), (iii) klavulanik asit ile inhibe olan Ambler sınıf A'da yer alan GSBL'lara benzer hidroliz spektrumuna sahip TEM tipleri (sefamisinler ve karbapenemler hariç penisilinlere ve geniş spektrumlu sefalosporinlere yüksek aktiviteye sahip) ve (iv) kompleks mutant TEM varyantları (sefalosporinlere karşı hidrolitik aktiviteye ve inhibitör dirençli hidroliz profiline sahip) dört grupta klasifiye edilmektedir.

TEM tipi GSBL genleri bakteriyel transpozonlar tarafından taşınmaktadır (Poirel ve ark. 2012)

2.1.3.1.2. SHV Tipi GSBL'ler

SHV (Sulphydryl reagent Variable) tip GSBL'lar SHV-1 veya SHV-11 tip beta-laktamazlardan nokta mutasyonu sonucu köken alırlar. Toplam 143 mevcut varyantından 43'ü GSBL fenotipi ve 6'sı inhibitör dirençli penisilinaz profiline (Bush klasifikasyonunda 2br grubu) sahiptir. İnhibitör dirençli fenotip *Klebsiella pneumonia*'nın kromozomundan orijin almıştır. SHV tip GSBL'lar sefamisinler ve karbapenemler hariç penisilinler ve geniş spektrumlu sefalosporinlere karşı hidrolitik aktiviteye sahiptir. Bazı SHV tip GSBL'ler, özellikle de SHV-2, SHV-2a, SHV-5 ve SHV-12 başta olmak üzere dünya genelinde yaygın bir dağılıma sahiptir.

bla_{SHV} genleri başlıca enterobakteri türlerinde bulunmakla birlikte *P. aeruginosa* ve *Acinetobacter baumannii* suşlarında da bulunduğu dair raporlar bulunmaktadır. *bla_{SHV}* geni plazmid orijinli olabildiği gibi kromozomal orijinli de yer almaktadır (Poirel ve ark. 2012)

2.1.3.1.3. CTX-M Tip GSBL'ler

CTX-M benzeri enzimler 1990 yıllarının başlarında *Enterobacteriaceae* familyası üyelerinde ortaya çıkmaya başlamıştır ve son on yılda ciddi bir patlama yaparak günümüzde dünyadaki mevcut endemik halini almıştır.

CTX-M ilk defa Almanya'da 1989 yılında Munich şehrinde klinik *E. coli* izolatında tanımlanmıştır. İsmi sefotaksimaz ve Munich kelimelerinden almaktadır. CTX-M tip enzimlerin varyantlarının büyük kısmı penisilinlere ve geniş spektrumlu sefalosporinlere karşı dirence aracılık eder. CTX-M enzimleri amino asit sekanslarına göre 5 grup altında klasifiye edilmiştir (Bonnet 2004). CTX-M-1 grubu başta major klinik öneme sahip CTX-M-15, CTX-M-3 ve CTX-M-1 olmak üzere CTX-M-10-12/22/23/28-30/32-34/36/37/42/52-54/57/58/60/61 tip beta-laktamazları kapsamaktadır. Bu grup günümüzde Asya, Avrupa ve Kuzey Amerika dahil tüm dünyada yaygın bir dağılıma sahiptir (Bush 2008, Livermore ve ark. 1996). CTX-M-2 grubu CTX-M-2/4-7/20/31/35/43/44 tiplerini;

CTX-M-8 grubu CTX-M-8/40/63 tiplerini, CTX-M-9 grubu CTX-M-9/13/14/16/17-19/21/24/27/38/46-51/55/65 tiplerini ve CTX-M-25 grubu CTX-M-25/26/39/41 tiplerini içermektedir (Rossolini ve ark. 2008). CTX-M tipi GSBL'ları kodlayan genlerin yayılımı endişe verici bir problemdir. Şimdiye kadar 124 CTX-M tipi tanımlanmıştır (<http://www.lahey.org/studies>). Seftazidimi yüksek seviyede hidrolize eden CTX-M-15 dünyada enterobakteriyel türler arasında halihazırda yaygın olarak tanımlanmıştır. CTX-M genleri farklı *Kluyvera* türlerinin kromozomundan orijin almıştır. Örneğin *Kluyvera georgiana* $bla_{CTX-M-8}$ ve $bla_{CTX-M-9}$ benzeri genlerin, *Kluyveraa scorbata* ve *Kluyvera cryocrescens* ise $bla_{CTX-M-1}$ ve $bla_{CTX-M-2}$ benzeri genlerin orijini olarak kabul edilmektedir (Bonnet 2004). Ancak CTX-M enzimleri non-fermentatif bakterilerde nadiren tanımlanmıştır.

Nozokomiyal ve toplum kaynaklı patojenlerde tanımlanması nedeniyle bla_{CTX} genlerinin yayılımı özellikle endişe vericidir. Bu genlerin son 10-15 yılda dünya genelinde hızlı yayılımı antibiyotik direnci yönünden önemli problemlerden biridir. bla_{CTX-M} genlerinin hızlı yayılımında insersiyon sekansları (*ISEcp1* ve *ISCR1*), transpozonlar ve nadiren de fajla ilişkili önemli rol oynamaktadır (Oliver ve ark. 2005, Poirel ve ark. 2001).

2.1.3.1.4. OXA Grubu GSBL'ler

GSBL'ler içinde büyüyen diğer bir gruptur. TEM ve SHV'den farklı olarak moleküler sınıf D'de (Ambler 1980) ve fonksiyonel grup 2d'de (Bush ve ark.1995) yer alırlar. OXA tip beta-laktamazların, ampisilin ve sefalotin'e karşı direnç kazandırmaları, oksasilin ve kloksasilin'e karşı yüksek hidrolitik aktiviteleri ve klavulanik asit ile inhibe olmamaları önemli özelliklerindedir. Ancak OXA-18'in klavulanik asit ile inhibe olduğu rapor edilmiştir. Genelde *P.aeruginosa*'da bulunsalar da *E. coli*, *K. pneumoniae* ve diğer *Enterobacteriaceae* ailesi üyelerinde bu enzimlere rastlanır. Bazı OXA enzimleri OXA-10'un türevleridir (OXA-11,14,16,17). OXA-10'un türevi olan bu enzimler iki aminoasit yapısındaki değişiklik ile oluşmuşlardır. Bunlardan ilki 73. pozisyonda serin yerine asparjinin, ikincisi ise 157. pozisyonda glisin yerine aspartatın gelmesidir. 157. pozisyondaki aminoasit değişikliğinin seftazidim direncinde önemli olduğu düşünülmektedir (Danel ve ark. 1999). Son zamanlarda OXA-20, OXA-2, OXA-24, OXA-25, 26, 27 ve OXA-30 gibi yeni tanımlanan OXA türevi bazı enzimlerin GSBL'lerle

ilişkili olup olmadığı henüz açıklanmamıştır. Türkiye’de ve Fransa’da da OXA ailesine ait yeni üyeler saptanmıştır (Bradford 2001).

2.1.3.1.5. Diğer GSBL’ler

GES, PER ve VEB tip enzimleri TEM, SHV ve CTX-M tip enzimlerine oranla daha az sıklıkla identifiye edilmektedir. Bununla birlikte Gram negatif aeroblarda artan oranda rapor edilmektedir. Bu enzimler TEM, SHV ve CTX-M tip enzimler ile uzak ilişkilidir (Poirel ve ark. 2012).

2.1.3.1.5.1. GES Tip GSBL’ler

*bla*_{GES-1} (Guina Extended Spectrum) Fransa’da Fransız Guayanası’nda ikamet eden bir hastadan izole edilen klinik *K. pneumonia* suşundan plazmid kaynaklı olarak ilk olarak identifiye edilmiştir. GES-1 klavulanik asit ile inhibe edilen Ambler sınıf A GSBL’larına benzer hidrolitik profile sahiptir. Penisilinlere ve geniş spektrumlu sefalosporinlere karşı aktiviteye sahipken sefamisinlere karbapenemlere ise aktiviteye sahip değildir. Fakat çoğu GSBL’ların aksine monobaktamları hidrolize etmezler ve klavulanik asit ve tazobaktam inhibe olurlar fakat imipeneme duyarlıdır (Poirel ve ark. 2012).

2.1.3.1.5.2. PER Tip GSBL’ler

PER (*P. aeruginosa* extended resistance) tip GSBL ilk kez Fransa’da yatan bir Türk hastadan izole edilen *P. aeruginosa* klinik izolatında identifiye edilmiştir (Kolaylı ve ark. 2005). *bla*_{PER-1} geni Türkiye’de *Acinetobacter* spp. ve *P. aeruginosa* suşlarında yaygındır (Kolaylı ve ark. 2005). *bla*_{PER-1} geni kromozomal lokalizasyona sahiptir ve *Tn1213* olarak adlandırılan kompozit bir transpozon üzerinde yer alır (Poirel ve ark. 2005).

2.1.3.1.5.3. VEB Tip GSBL'ler

*bla*_{VEB-1} (Vietnamese Extended Spectrum beta-lactamase) Fransa'da Vietnamlı bir çocuktan izole edilen *E. coli* izolatında ilk defa identifiye edilmiştir. VEB-1 diğer GSBL'lar ile genetik olarak düşük oranda ilişkilidir ve en yakın GSBL (PER-1) ile sadece %38 oranında amino asit homolojisine sahiptir. VEB-1 seftazidim, sefotaksim ve monobaktamlara yüksek dirence yol açarken sefamisin ve karbapenemlere ise duyarlıdır. Bu enzim klavulanik asit ve tazobaktam ile inhibe olmaktadır (Poirel ve ark. 1999). *bla*_{VEB} geni enterobakteriyel izolatlar yanı sıra *P. aeruginosa* ve *A.baumannii* izolatlarında da tespit edilmiştir (Naas ve ark. 2006, Pasteran ve ark. 2006, Poirel ve ark. 1999). Bu gen sınıf 1 integron içinde bir gen kaseti olarak yer almaktadır (Poirel ve ark. 1999).

2.1.4. Hayvanlarda GSBL Sentezleyen *E. coli*'nin Dağılımı

1990'lı yıllara kadar, insan klinik izolatlarından identifiye edilen GSBL'ların büyük çoğunluğu SHV ve TEM tipleri olarak belirlenmiştir (Pitout 2012). Yaklaşık 10 yıl sonra, GSBL'lar dünya genelinde ortaya çıkmış 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 (Ewers ve ark. 2011, Overdeest ve ark. 2011, Smet ve ark. 2010, Carattoli 2008, Hasman ve ark. 2005) ve insan sağlığı ile ilişkili suşlar artan şekilde pet hayvanlarında da izole edilmeye başlanmıştır. Dirençle ilişkili bu iki hayvan 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 (Ewers ve ark. 2011, Smet ve ark. 2010, Hasman ve ark. 2005).

İnsanlarda ilk GSBL 1982 yılında Almanya'da bir hastanede *K. pneumonia* salgınında identifiye edilmiştir. Hayvanlarda gözlenen ilk klinik GSBL varlığı 2000 yılında üriner kanal 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. Hemen hemen aynı zamanda 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 kısa süre rapor edilmiştir (Duan ve ark. 2006).

Çalışmaların çoğu halen insan kaynaklı izolatlarla yönelik olmasına rağmen, ikinci sırada tavuklara yönelik yapılan çalışmalar takip etmektedir. Bu amaca yönelik yapılan çalışmalar Avrupa ülkelerine ait olup; farklı GSBL tiplerinin prevalansı %0.6-%44.7 arasında değişmektedir. Ayrıca, insanlarda da görülen CTX-M-14 ve CTX-M-15 en yaygın tipler olmak üzere Asya'da da coğrafik orijinine bakılmaksızın hayvanlarda sıklıkla rapor edilmektedir. 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).

İnsanlarda pandemik yayılım gösteren CTX-M-15 (Canton ve ark. 2008) Avrupa ülkelerinde tavuklarda sadece rastlantısal olarak tespit edilirken, pet hayvanları (%15) ve sığır/domuz (%8) türlerinde de bu tipe sıklıkla rastlanmaktadır. Asya ve Amerika kıtası ülkelerinde çalışılan tüm hayvan gruplarından izole edilen bakterilerde ise bu enzim mevcuttur.

CTX-M-1 Avrupa'da sığır ve domuzlarda tespit edilen majör GSBL tipidir ve GSBL'ların %72'sini oluşturur. Bu tip kanatlılar ve pet hayvanlarında da yaygındır. CTX-M-1 sentezleyen *E.coli* Avrupa'da insanlarda identifiye edilen tüm tiplerin sadece %7'sini oluşturur. Buna karşın, Hollanda'da yapılan bir çalışmada CTX-M-1'in hasta insanlar, sağlıklı taşıyıcı insanlar, kanatlılar ve perakende tavuk etinde en sık rastlanan GSBL tipi olduğu ve insanlar ile tavuklar arasında çapraz bulaşma olasılığı olduğu ileri sürülmüştür (Overdeest ve ark. 2011). GSBL sentezleyen çiftlik hayvanları ile direkt temasa bağlı olarak yayılımına dair literatürde sınırlı kanıt vardır (EFSA 2011). Ancak yapılan çalışmalar Avrupa'da tavuklar ve insanlardan izole edilen bakterilerde GSBL tipleri açısından önemli farklılıklar olduğunun gösterilmesi, çiftlik hayvanlarının hangi ölçüde insanlarda GSBL yayılımına katkı sağladığı sorusunu yanıtsız bırakmaktadır.

2.1.5. GSBL Tanı Yöntemleri

Enterobacteriaceae ailesinde GSBL üretimindeki artış, klinik izolatlarda bu enzimlerin varlığının doğru bir şekilde tanımlanması için gerekli laboratuvar testlerine ihtiyacı ortaya çıkarmıştır (Bradford 2001). GSBL tayini hem fenotipik hem genotipik olarak yapılabilmektedir. Mikrobiyoloji laboratuvarlarında rutinde fenotipik yöntemler kullanılırken, araştırma veya referans laboratuvarlarında genotipik yöntemler de kullanılmaktadır (Öcal ve ark. 2012).

GSBL üretimini saptamaya yönelik geliştirilen ilk test olan çift disk difüzyon testi günümüzde halen güvenilir bir test olarak kullanılmaktadır (Jarlier ve ark. 1988). GSBL'ler bir ya da daha fazla oksimino beta-laktam antibiyotiğe direnç sağlamalarına rağmen, beta-laktamazlar Clinical Laboratory Standards Institute (CLSI) yorumlama kriterlerine göre dirençli olarak kabul edilebilecek yüksek Minimal İnhibitör Konsantrasyonu (MİK) seviyelerine her zaman ulaşamazlar (Katsanis ve ark. 1994). Kullanılan sefalosporin türüne göre testin duyarlılık ve özgüllüğü değişkenlik gösterir. Sefpodoksim ile yapılan duyarlılık testlerinin diğer sefalosporinlere (seftazidim, sefotaksim, seftriakson vs) göre daha yüksek GSBL pozitifliği verdiği saptanmıştır (Emery ve Weymouth 1997).

GSBL saptanmasında kullanılan geleneksel duyarlılık testlerinin sensitivite ve spesifitesindeki farklılıklar, klinik izolatlarda bu enzimlerin kesin olarak tesbitini sağlayacak yeni laboratuvar testlerine gereksinimi zorunlu kılmaktadır.

GSBL saptama yöntemleri tarama testleri ve doğrulama testleri olmak üzere iki grupta incelenmektedir (Öcal ve ark. 2012).

2.1.5.1. GSBL Tarama Testleri

2.1.5.1.1. Disk Difüzyon Tarama Testi (DDTT)

CLSI (2012) *K. pneumoniae*, *E. coli* ve *Proteus mirabilis* türlerinde GSBL üretiminin taranmasında disk difüzyon tarama testini önermektedir. Bu amaçla sefpodoksim (10 µg), seftazidim (30 µg), sefotaksim (30 µg), aztreonam (30 µg) veya

seftriakson (30 µg) diskleri kullanılır. 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

2.1.5.2. GSBL Doğrulama Testleri

Klavulanik asidin GSBL enzimlerinin aktivitesini inhibe etmesi temeline dayanır. Bu amaçla çift disk sinerji testi, kombine disk sinerji testi, E-test yöntemi, mikrodilüsyon yöntemi veya üç boyutlu test uygulanabilir ya da otomatize sistemler kullanılır (Öcal ve ark 2012).

2.1.5.2.1. Çift Disk Sinerji Testi (ÇDST)

Mueller-Hinton Agar (MHA) besiyerine bakteri süspansiyonundan eküvyonla ekim yapıldıktan sonra plağının 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 2012).

2.1.5.2.2. Kombine Disk Yöntemi (KDY)

CLSI'nın fenotipik doğrulama testi olarak önerdiği kombine disk sinerji yönteminde ise yine MHA besiyerine 0.5 McFarland standardına göre hazırlanan bakteri

süspansiyonundan silgiç ile ekim yapılır. Ekim yapılan plaklara seftazidim (30 µg), seftazidim/klavulanik asit (CZC, 30/10 µg) ve sefotaksim (30 µg), sefotaksim/klavulanik asit (CTC, 30/10 µg) 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 edilir (CLSI 2012).

2.1.5.2.3. E Test Yöntemi

Bu yöntemde ticari olarak hazırlanmış E 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, Ho ve ark. 1998, Vercauteren ve ark. 1997). Sefalosporin/klavulanik asit içeren E testte saptanan MİK değerinde sadece sefalosporin içeren E testte saptanan MİK değerine göre ≥ 8 kat azalma GSBL üretimini doğrular (Öcal 2012).

2.1.5.2.4. Mikrodilüsyon Yöntemi

Fenotipik doğrulama broth mikrodilüsyon testi seftazidim (0.25-128 µg/ml), seftazidim/klavulanik asit (0.25/4-128/4 µg/ml), sefotaksim (0.25-64 µg/ml) ve sefotaksim/klavulanik asit (0.25/4-64/4 µg/ml) kullanılarak yapılır. Sefalosporin/klavulanik asit kombinasyonu ile yapılan testte sadece sefalosporinle yapılan teste göre MİK değerinde ≥ 3 dilüsyonluk azalma fenotipik olarak GSBL varlığını doğrular (CLSI 2012).

2.1.5.2.5. Üç Boyutlu Test

Disk diffüzyon esasına dayalı bir testtir. Test edilecek mikroorganizma MHA besiyerinin yüzeyine yayıldıktan sonra agarda bir yarık açılır. Yarığın içi test edilen mikroorganizmanın süspansiyonundan otomatik pipetle 200 µl alınarak doldurulur. 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. Yarığa bakan tarafta antibiyotik disklerinin inhibisyon zonlarında bozulma veya kesintiye uğrama olması antibiyotiğin yoğun inokülasyon bölgesinden geçerken inaktive edildiğini gösterir ve GSBL olumlu olarak değerlendirilir (Vercauteren ve ark. 1997, Thomson ve Sanders 1992).

2.1.5.2.6. Otomatize Sistemler

“BD Phoenix” otomatize sistemleri ve Vitek ESB (GSBL) kart testleri otomatize sistemlere örnek olarak verilebilir. “Phoenix Becton Dickinson” ID sistemleri, GSBL direnç mekanizmasını, CLSI standartlarını temel alarak, broth mikrodilüsyon yöntemiyle tespit etmektedir. “Phoenix” cihazında yoğunluğu ayarlanmış bakteri süspansiyonu besiyeri panellerine bir noktadan verilmekte, besiyerlerine inokülasyon ve inkübasyon cihazda otomatik olarak yapılmaktadır. Panellerdeki sefpodoksim (8 µg/ml), seftazidim (8 µg/ml), seftriakson-klavulanik asit (2-4 µg/ml), sefotaksim-klavulanik asit (2-4 µg/ml) ve seftazidim-klavulanik asit (2-4 µg/ml) içeren katyonu ayarlanmış Mueller-Hinton buyyonu besiyerindeki üremelere ve algoritmaya göre sonuç cihaz çıktısında, GSBL negatif veya GSBL pozitif olarak görülmektedir. Cihaz, GSBL pozitif suşları, penisilin, sefalosporin (sefamisin grubu hariç) ve aztreonama duyarlı/orta duyarlı olarak tespit ettiğinde; otomatik olarak “dirençli” şeklinde değiştirmektedir. Bu sistem GSBL ürettiği genotipik olarak doğrulanan suşların % 90’ından daha büyük kısmında GSBL üretimini saptayabilmekte ve sonuçlar genellikle altı saat içinde çıkmaktadır (Akyar ve ark. 2010).

Vitek 2’de de çalışma sistemi benzerdir. GSBL belirlenmesinde GN13 kartları kullanılmaktadır. Bu kartlarda sefepim (klavulanik asitli ve klavulanik asitsiz), sefotaksim (klavulanik asitli ve klavulanik asitsiz), seftazidim (klavulanik asitli ve klavulanik asitsiz) olmak üzere 6 kuyudaki antibiyotik konsantrasyonları değerlendirilerek sonuç verilmektedir (Mehli ve ark. 2007).

2.1.5.2.7. Moleküler Yöntemler

GSBL saptanmasında kullanılan moleküler yöntemler DNA problemleri, Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PZR), oligo tiplendirme, PZR-Restriction Fragment Length

Polymorphism (RFLP) analizi, PZR-Single Strand Conformation Polymorphism (SSCP) analizi, Ligase Chain Reaction (LCR) ve nükleotid analizidir. DNA problemleri için özgül olmasına rağmen, genişlemiş spektrumlu olanları olmayanlardan ayıramaz, ayrıca uygulaması çok emek istemektedir (Öcal ve ark. 2012).

PZR uygulaması dar spektrumlu olanları olmayanlardan ayıramaz fakat uygulaması daha kolaydır. Oligotiplendirme özgül TEM türlerini saptayabilmektedir. PZR-RFLP kolay uygulanır, nükleotidlerdeki özgül değişiklikleri saptayabilir. PZR-SSCP özel elektroforez koşullarını gerektirir ve çeşitli SHV türevlerini ayırt edebilmektedir. LCR'de çeşitli SHV türevlerini ayırt edebilmesinin yanında çok sayıda oligonükleotid primerine gereksinim göstermektedir. Nükleotid dizi analizi yoğun emek gerektirir ve teknik olarak zordur. Fakat, altın standarttır ve tüm türevleri saptayabilmektedir (Öcal 2012).

3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1. Gereç

3.1.1. Rektal Svab Örnekleri

Hatay ili merkez ve ilçelerine ait yerleşim yerlerindeki süt sığırcılığı yapılan işletmelerden alınan 172 ve besi sığırı yetiştiriciliği yapılan işletmelerden alınan 140 olmak üzere toplam 312 rektal svab örneği çalışmanın materyalini oluşturdu.

3.1.2. Kullanılan Besiyerleri, Antibiyotik ve Antibiyotik Diskleri

Rektal svab örneklerinin alınmasında 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), selektif izolasyon sağlamak üzere sefotaksim (Sigma, Almanya); izolatların antimikrobiyallere olan duyarlılıklarının belirlenmesinde Mueller-Hinton Agar (MHA) (Merck, Almanya), antibiyotik diskleri (Oxoid) [ampisilin (10 µg, AMP), amoksilin/klavulanik asit (20 µg+10 µg, AMC), sefoksitin (30 µg, FOX), sefotetan (30 µg, CTT), sefalotin (30 µg, KF), seftriakson (30 µg, CRO), aztreonam (30 µg, ATM), imipenem (10 µg, IMP), gentamisin (10 µg, CN), streptomisin (10 µg, S), nalidiksik asit (30 µg, NA), siprofloksasin (5 µg, CIP), sulfametaksazol/trimetoprim (1.25 µg+23.75 µg, SXT), tetrasiklin (30 µg, TET), kloramfenikol (30 µg, C), sefoperazon (30 µg, CFP), kanamisin (30 µg, K)] kullanıldı. İzole edilen GSBL sentezleyen suşların saklanması için %20 oranında (v/v) gliserin içeren Tryptic Soya Broth (TSB) (Merck, Almanya) kullanıldı.

3.1.3. PZR'da Kullanılan Buffer, Solüsyon, Primer ve Enzimler

GSBL sentezleyen izolatlarda GSBL genlerinin PZR ile saptanması ve filogenetik grupların belirlenmesi amacıyla Taq Polimeraz (Fermentas, Litvanya), 10× PZR Buffer (Fermentas, Litvanya), 25 mM MgCl₂ (Fermentas, Litvanya), 10 mM dNTP miks

(Fermentas, Litvanya), 100 bp 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 Cyclers (Techne T-312), elektroforez tankı ve 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

Alınan rektal svab örnekleri Stuart Transport Medium içerisinde soğuk zincire uyularak laboratuvara getirildi ve 2 µg/ml sefotaksim içeren EMB agara ekilerek 37 °C'de 24 saat inkübe edildi. İnkübasyon süresi sonunda tipik metalik refle veren kolonilerden biri seçilerek Kanlı Agar'da pasajlandı ve klasik metotlarla (Gram boyama, katalaz, oksidaz, indol, MR-VP, sitrat ve üreaz) identifikasyonları yapıldı. İzolatlar kullanılmaya kadar -20 °C'de %20 gliserol içeren (v/v) TSB içerisinde saklandı.

3.2.2. GSBL Sentezinin Fenotipik Olarak Belirlenmesi

3.2.2.1. Çift Disk Sinerji Testi (ÇDST)

Disk diffüzyon yöntemine uyularak MHA'da ekim yapıldı. Merkeze amoksisilin-klavulanik asit (10+20 µg) diski yerleştirilerek çevreye merkezden uzaklığı 25 mm olacak şekilde aztreonam (30 µg), seftazidim (30 µg) ve sefotaksim (30 µg) diskleri konuldu ve 35 °C'de 18-20 saat inkübe edildikten sonra sonuçlar değerlendirildi. Antibiyotiklere ait inhibisyon zonlarının klavulanik asit diskine doğru genişlemesi veya iki inhibisyon zonu

arasındaki bakteri üreyen alanda üremenin olmadığı bir bölgenin görülmesi GSBL pozitif olarak kabul edildi (CLSI 2012).

3.2.2.2. Kombine Disk Yöntemi (KDY)

GSBL sentezleyen *E. coli* suşlarının fenotipik konfirmasyonu çift disk difüzyon yöntemi ile gerçekleştirildi. Bu amaçla, test edilecek *E. coli* suşları MHA ekilerek 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 konularak 37 °C’de 18-24 saat inkübe edildi. Sefalosporin diskinin etrafındaki inhibisyon zonunun klavulanik asit varlığında 5 mm ve üzerinde artış göstermesi GSBL pozitif kabul edildi (CLSI 2012).

3.2.2.3. GSBL Sentezleyen İzolatların Antimikrobiyal Duyarlılıklarının Belirlenmesi

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

3.2.2.4. Kontrol Suşları

GSBL tarama ve doğrulama pozitif kontrol suşu olarak *K. pneumoniae* ATCC 700603, negatif kontrol suşu olarak ise *E. coli* ATCC 25922 kullanıldı.

3.2.3. Moleküler Analiz

3.2.3.1. DNA Ekstraksiyonu

İzolatlardan DNA ekstraksiyonu kaynatma yöntemi ile yapıldı (Ahmed ve ark. 2007). Bu amaçla izolatlar bir gece 5 ml TSB içinde 37 °C’de inkübe edildikten sonra

ependorf tüp içinde 200 µl kültür 800 µl steril su ile karıştırıldıktan sonra kaynar su banyosunda 10 dk tutuldu ve 13 000 rpm/dk'da 10 dk santrifüje edildi. Süpernatant moleküler analizlerde kullanılmak üzere başka bir ependorf tüpüne aktararak -20 °C'de saklandı.

3.2.3.2. *E. coli* İzolatlarının Moleküler Konfirmasyonu

E. coli izolatlarının moleküler konfirmasyonu *E. coli* 16S rRNA geninin 401 bp'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 prosedürleri uygulanarak yapıldı. GSBL genlerinin belirlenmesinde ve sekans analizinde kullanılan primerler Çizelge 3.1'de verilmiştir.

Çizelge 3.1. GSBL genlerinin belirlenmesinde ve sekans analizinde kullanılan primerler

Gen	Sekans (5' – 3')	Amplikon Büyükülüğü (bp)	Kaynak
<i>bla_{TEM}*</i>	ATA AAA TTC TTG AAG ACG AAA GAC AGT TAC CAA TGC TTA ATC	1080	
<i>bla_{SHV}**</i>	TTA TCT CCC TGT TAG CCA CC GAT TTG CTG ATT TCG CTC GG	797	
<i>bla_{SHV}***</i>	CGG CCT TCA CTC AAG GAT GTA GTG CTG CGG GCC GGA TAA C	927	
<i>bla_{OXA}**</i>	TCA ACT TTC AAG ATC GCA GTG TGT TTA GAA TGG TGA	610	Ahmed ve ark. (2007)
<i>bla_{OXA}***</i>	GGC AAT CCA GCC GGG GCC AA CGG GCC TGT TCC CGG GTT AA	891	
<i>bla_{CTX-M}**</i>	CGC TTT GCG ATG TGC AG ACC GCG ATA TCG TTG GT	551	
<i>bla_{CTX-M}***</i>	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_{SHV}*, *bla_{TEM}*, *bla_{CTX-M}*, *bla_{OXA}* 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/>ve <http://www.lahey.org/Studies/>) veriler ile karşılaştırılarak TEM, SHV, CTX-M, OXA beta laktamaz 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’te verilmiştir.

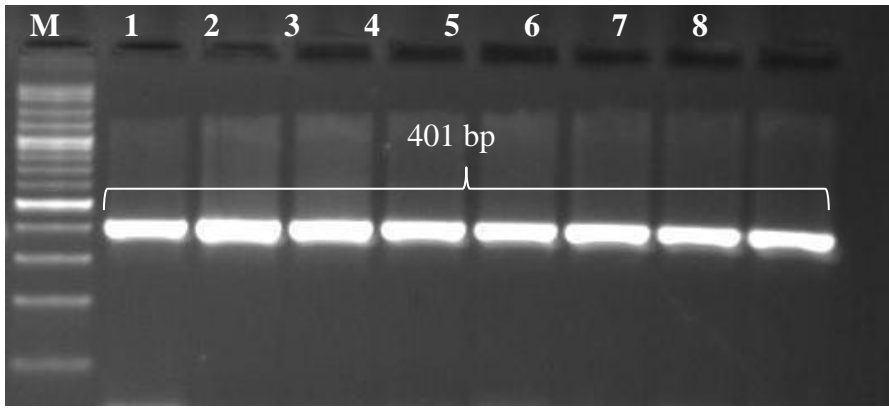
Çizelge 3.2. Filogenetik grupların belirlenmesinde kullanılan primerler

Gen	Sekans (5' – 3')	Amplikon Büyüklüğü (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 CGC GCC AAC AAA GTA TTA CG	152	

4. BULGULAR

4.1. Selektif GSBL Sentezleyen *E. coli* İzolasyon Sonuçları

İncelenen 312 rektal svab örneğinin 26'sından (%8.3) fenotipik yöntemlerle GSBL pozitif *E. coli* izole edildi. Süt ineklerinin %5.8'i (10/172), etçi besi sığırlarının ise %11.4'ü (16/140) GSBL sentezleyen *E. coli* yönünden pozitif saptandı. İzolatların tamamı *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 1-8: *E. coli* pozitif bantlar

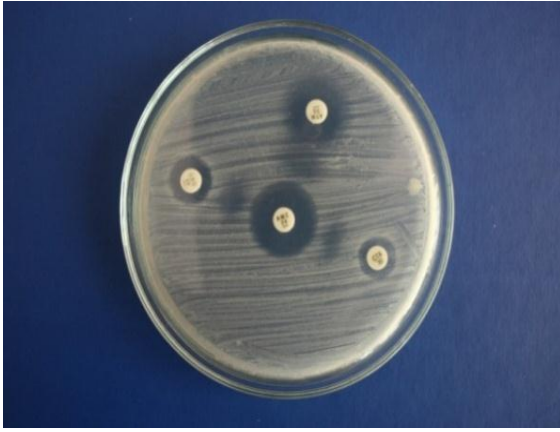
4.2. GSBL Sentezleyen İzolatların Fenotipik Konfirmasyonu

4.2.1. Çift Disk Sinerji Testi (ÇDST)

Diskler arası 25 mm olacak şekilde yapılan çift disk sinerji testinde izolatların tamamı GSBL yönünden pozitif bulundu. Şekil 4.2 ve Şekil 4.3'de ÇDST'de pozitif sonuçlar gösterilmektedir.



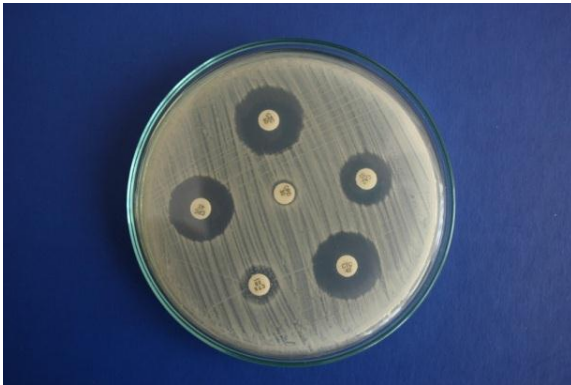
Şekil 4.2. ÇDST ile belirlenen GSBL pozitifliği



Şekil 4.3. ÇDST ile belirlenen GSBL pozitifliği

4.2.2. Kombine Disk Yöntemi (KDY)

Disk Kombinasyon Yöntemi ile her bir izolat çevresinde farklı inhibisyon zon çapları bulunmakla birlikte izolatların tamamı pozitif olarak bulundu (Şekil 4.4).



Şekil 4.4. KDY ile belirlenen GSBL pozitifliği

4.3.GSBL Sentezleyen İzolatların Antimikrobiyal Duyarlılıklarının Belirlenmesi

GSBL pozitif izolatların tamamı sefotetan ve imipeneme duyarlı, ampisilin ve seftriaksona dirençli bulundu. Bunu sırasıyla sefalotin (%96.2), sefaperozon (%88.5), streptomisin (%80.8), sülfametoksazol/trimetoprim (%76.9), tetrasiklin (%73,1), kloramfenikol ve kanamisin (%50), nalidiksik asit ve amoksisilin/klavulanik asit (%46.2), aztreonam (%38,5), siprofloksasin (%34.6), gentamisin (% 11,5) ve sefoksitin (%3.8) izledi.

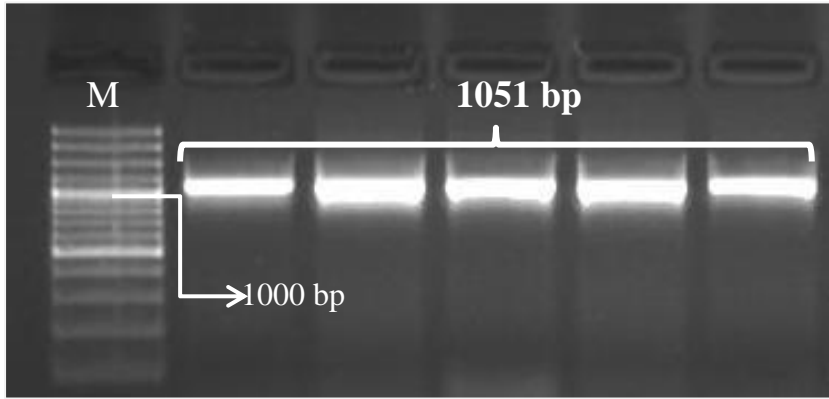
GSBL pozitif izolatların filogenetik grup, GSBL genleri ve antimikrobiyal direnç fenotipine göre dağılımları Çizelge 4.1’te verilmiştir.

Çizelge 4.1. GSBL pozitif izolatların filogenetik grup, GSBL genleri ve antimikrobiyal direnç fenotipine göre dağılımı

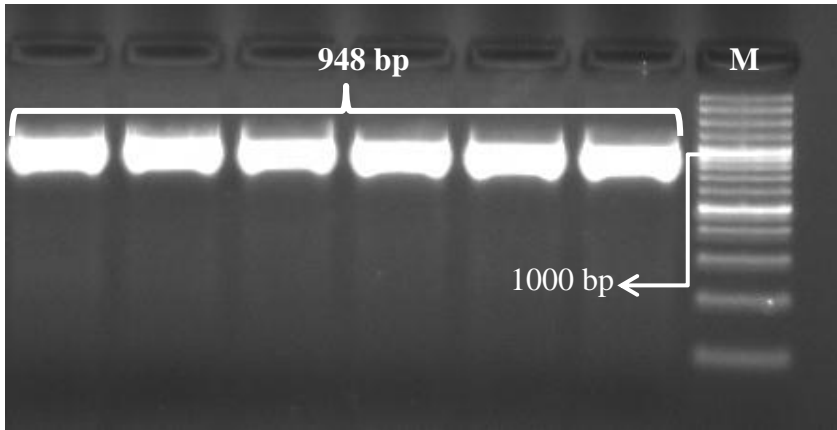
Suş No	Filogenetik Grup	Genotip			Fenotip
		<i>bla</i> _{CTX}	<i>bla</i> _{TEM}	<i>bla</i> _{OXA}	
22	A	CTX-M-15	TEM-1b		AMP, KF, CFP, CRO, ATM, S, CN, TET, SXT, C
37	A		TEM-1b		AMP, KF, FOX, AMC, S, TET, C
38	D	CTX-M-15	TEM-1b		AMP, KF, CFP, CRO, ATM, S, TET, SXT, C
40	D	CTX-M-15	TEM-1b		AMP, CRO, S, K, TET, SXT
44	A	CTX-M-15	TEM-1b	OXA-1	AMP, KF, CFP, CRO, AMC, ATM, CIP, NA, S, CN, K, TET, SXT
57	B1	CTX-M-15			AMP, KF, CFP, CRO
60	D	CTX-M-15	TEM-1b		AMP, KF, CFP, CRO, ATM, NA, S, K, TET, SXT
76	B1	CTX-M-3			AMP, KF, CFP, CRO
78	A	CTX-M-15	TEM-1b		AMP, KF, CFP, CRO, AMC, ATM, S, SXT
80	B1	CTX-M-3			AMP, KF, CFP, CRO
88	D	CTX-M-15			AMP, KF, CFP, CRO, ATM
192	A	CTX-M-1	TEM-1b		AMP, KF, CFP, CRO, S, TET, SXT
197	A	CTX-M-1	TEM-1b		AMP, KF, CFP, CRO, S, TET, SXT
221	A	CTX-M-15			AMP, KF, CFP, CRO, ATM, S, CN, TET, SXT, C
224	D	CTX-M-15	TEM-1b		AMP, KF, CFP, CRO, ATM, S, TET, SXT, C
242	D	CTX-M-15	TEM-1b		AMP, KF, CFP, CRO, AMC, ATM, CIP, NA, S, SXT, C
246	B1	CTX-M-1	TEM-1b		AMP, KF, CFP, CRO, AMC, CIP, NA, S, K, TET, SXT, C
257	B1	CTX-M-15	TEM-1b		AMP, KF, CFP, CRO, ATM, S, K, TET, SXT
276	B1	CTX-M-1	TEM-1b		AMP, KF, CFP, CRO, AMC, NA, S, K, TET, SXT, C
277	B1	CTX-M-1	TEM-1b		AMP, KF, CRO, CIP, NA, S, K, TET, SXT, C
279	B1	CTX-M-1	TEM-1b		AMP, KF, CFP, CRO, AMC, CIP, NA, S, K, TET, SXT, C
280	B1	CTX-M-1	TEM-1b		AMP, KF, CFP, CRO, AMC, CIP, NA, S, K, TET, SXT, C
282	B1	CTX-M-1	TEM-1b		AMP, KF, CFP, CRO, AMC, CIP, NA, S, K, TET, SXT, C
23	B1	CTX-M-1	TEM-1b		AMP, KF, CFP, CRO, AMC, CIP, NA, S, K, TET, SXT, C
286	B1	CTX-M-1	TEM-1b		AMP, KF, CFP, CRO, AMC, CIP, NA, K
287	B1	CTX-M-1	TEM-1b		AMP, KF, CFP, CRO, AMC, CIP, NA, S, K, TET, SXT, C

4.4. PZR ile GSBL Enzim Tiplerinin Belirlenmesi ve DNA Dizi Analizi

İzolasyonları ve fenotipik konfirmasyonları yapılan 26 *E. coli* suşunun TEM, SHV, CTX-M ve OXA primerleri kullanılarak yapılan PZR analizleri sonucunda 25'i CTX-M, 21'i TEM ve 1'i de OXA yönünden pozitif bulunurken, SHV yönünden ise negatif bulundu (Şekil 4.5.6).



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



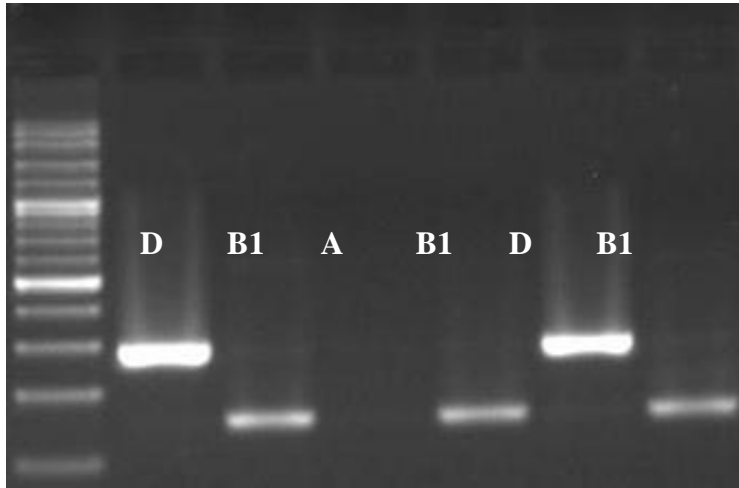
Şekil 4.6. *bla*_{CTX} pozitif izolatlar

CTX-M ve TEM tipi GSBL 20 örnekte birlikte saptanırken; 5 örnek CTX-M ve 1 örnekte de sadece TEM tipi GSBL yönünden pozitif bulundu. Sekans primerleri (TEM primeri hariç) kullanılarak elde edilen PZR ürünlerinin yapılan DNA dizi analizi sonuçlarının BLAST analizleri sonucunda CTX-M pozitif izolatlardan 12'si CTX-M-15, 2'si CTX-M-3 ve 11'i CTX-M-1 alt tiplerine yüksek oranda benzerlik gösterdiği, TEM

pozitif izolatların ise tamamının TEM-1b alt tipi ile yüksek oranda benzerlik gösterdiği tespit edildi. OXA yönünden pozitif bulunan izolatın ise DNA dizi analizi sonucunda OXA-1 tipine ait olduğu belirlendi. GSBL genlerinden *bla*_{CTX-M-15} ve *bla*_{TEM-1b} 8, *bla*_{CTX-M-1} ve *bla*_{TEM-1b} 11, *bla*_{CTX-M-15}, *bla*_{TEM-1b} ve *bla*_{OXA-1} 1 izolatta birlikte belirlenirken; *bla*_{TEM-1b} 1, *bla*_{CTX-M-15} 3 ve *bla*_{CTX-M-3} 2 izolatta tek olarak tespit edildi.

4.5. Tripleks PZR ile GSBL pozitif *E.coli* suşlarının filogenetik tiplerinin belirlenmesi

GSBL pozitif izolatlardan 13'ü B1, 9'u A, 4' de D filogenetik grubunda yer aldı (Şekil.4.7).



Şekil 4.7. GSBL pozitif *E. coli* suşlarında tripleks PZR belirlenen filogenetik gruplar

5. TARTIŞMA

İnsan ve veteriner hekimliğinde antimikrobiyallerin bilinçli kullanımı ciddi infeksiyöz hastalıkların başarılı bir şekilde tedavi edilmesi için ön koşuldur. Üçüncü kuşak sefalosporinlerin (seftiofur gibi) hayvanlarda bilinçsiz kullanımı GSBL sentezleyen *Enterobacteriaceae* üyelerinin seleksiyonuna neden olmuştur. Bu durum GSBL pozitif bakterilerin zoonotik bulaşma riskini de atırmaktadır (Ewers ve ark. 2012).

Hayvanlarda ilk GSBL tespiti Japonya'da 1988 yılında bir laboratuvar köpeğinden izole edilen *E. coli* izolatında saptanmıştır (Matsumoto ve ark. 1988). Bu tarihten sonra dünyada farklı hayvan türlerinin mikrobiyotalarından veya klinik materyallerinden izole edilen *Enterobacteriaceae* familyasında yer alan bakterilerde değişik GSBL tiplerinin varlığı artan oranda bildirilmiştir (Ewers ve ark. 2012). Türkiye'de insanlardan izole edilen klinik *E. coli* suşlarında GSBL varlığının fenotipik veya genotipik belirlenmesine yönelik yapılan çok sayıda çalışma bulunmasına rağmen (Çopur Çiçek ve ark. 2013, Bayraktar ve ark. 2010, Gür ve ark. 2008), evcil hayvan türlerinin mikrobiyotalarından ve klinik materyallerinden izole edilen bakterilerde GSBL varlığı üzerine yapılmış çalışma sayısı oldukça sınırlıdır. (Dinç ve ark. 2012, Küçükbaşmacı ve ark. 2008).

Bu çalışmada GSBL sentezleyen *E. coli* prevalansı Hatay ilinde yetiştirilen sığırlardan alınan örneklerde %8.3 olarak tespit edildi. Farklı ülkelerde mezbahada kesilen ve çiftlikte yetiştirilen sığırlarda GSBL pozitif *E. coli* fekal taşıyıcılığını belirlemede birçok ülkede araştırmalar yapılmış ve prevalans oranlarının önemli düzeyde farklılık gösterdiği görülmüştür. Polanya'da mezbahada kesilen sığırlarda GSBL pozitif *E. coli* varlığı tespit edilmezken (Wasył ve ark. 2012), Fransa'da %5.8 (Madec ve ark. 2008), Japonya'da %31.3 (Hiroi ve ark. 2011), Hong Kong'da %48.6 (Ho ve ark. 2011), İsviçre'de %16 (Geser ve ark. 2011) olarak tespit edilmiştir. Çiftliklerde yetiştirilen

sığırlardan alınan örneklerde Güney Kore’de %0.2 (Tamang ve ark. 2013), Japonya’da etçi sığırlarda %1.8 (Shiraki ve ark. 2004) ve sütçü sığırlarda %3.1 (Ohnishi ve ark. 2013), Almanya’da karışık çiftliklerde %39.6 ve etçi sığır çiftliklerinde %18.9 (Schmid ve ark. 2013), Çin’de %5.7 (Zheng ve ark. 2012) olarak bildirilmiştir. Bununla birlikte, bu çalışmalarda elde edilen sonuçları ihtiyatla karşılamak gereklidir. Çünkü bu çalışmalarda kullanılan örnekleme yöntemleri, örneklenen hayvan sayıları, izolasyon metodları (zenginleştirme besiyerinin, farklı selektif besiyerlerinin kullanılması) açısından önemli farklılıklar bulunmaktadır.

Türkiye’de sağlıklı hayvanlarda GSBL sentezleyen bakterilerin belirlenmesine yönelik ilk çalışma Küçükbaşmacı ve ark. (2008) tarafından yapılmıştır. Bu çalışmada İstanbul ve Tekirdağ illerindeki 3 mezbaha ve bu illerdeki 2 çiftlikten toplanan sağlıklı koyun (n=72) ve buzağılardan (n=38) alınan rektal svab ve sığırlardan (n=239) alınan gaita örneklerinde GSBL sentezleyen *Enterobacteriaceae* üyelerinin varlığı araştırılmıştır. GSBL pozitif *E. coli* oranı % 1.2 (3/239) olarak belirlenirken; çiftliklerden alınan örneklerde, koyun ve buzağılarda GSBL üreten *E. coli* tespit edilmemiştir. Dinç ve ark (2012) tarafından yapılan mastitis vakalarından izole edilen *E. coli* suşlarında fenotipik GSBL sentezinin araştırıldığı bir çalışmada ise suşların tamamı negatif olarak bulunmuştur.

Bu çalışmada, plazmid kaynaklı ESBL genlerinin büyük çoğunluğunun *bla_{TEM}* ile birlikte *bla_{CTX-M}* familyasına ait olduğu ve bu genlerden *bla_{CTX-M-15}*’in dominant olduğu ve bu geni sırasıyla *bla_{CTX-M-1}* ve *bla_{CTX-M-3}* takip ettiği görüldü. Farklı ülkelerde yapılan çalışmalar bu genlerin sağlıklı veya hasta sığırlarda yaygın olduğunu doğrulamaktadır (Hordjik ve ark. 2013, Schmid ve ark. 2013, Geser ve ark. 2012, Horton ve ark. 2011, Madec ve ark. 2008). Bununla birlikte Çin’de sığırlarda dominant gen *bla_{CTX-M-14}* olmakla birlikte *bla_{CTX-M-55}*, *bla_{CTX-M-55}*, *bla_{CTX-M-27}*, *bla_{CTX-M-15}*, *bla_{CTX-M-65}*, *bla_{CTX-M-3}* ve *bla_{CTX-}*

M-24 genlerine önemli düzeyde rastlandığı (Zheng ve ark. 2012), Japonya'da *bla*_{CTX-M-2} geninin dominant olduğu (Hiroi ve ark. 2012, Shiraki ve ark. 2004), Hong Kong'da mezbahada kesilen sığırlarda tespit edilen yegane GSBL geninin *bla*_{CTX-M-13} (Duan ve ark. 2006) olduğu rapor edilmiştir. Bu durum GSBL sentezine neden olan genlerin prevalansında coğrafik olarak farklılıklar olabileceğini göstermektedir.

GSBL sentezinden sorumlu genleri taşıyan plazmidler beta-laktam antibiyotikler dışındaki antimikrobiyallere de (aminoglikozidler, trimetoprim-sulfametoksazol, kloramfenikol, tetrasiklin, kinolonlar) dirence neden olan genleri de yapılarında taşıyabildiklerinden çoğul dirence ve bu suşlardan kaynaklanan infeksiyonların tedavisinde tedavi seçeneklerinin azalmasına neden olmaktadır (Perez ve ark. 2007). Bu çalışmada GSBL pozitif izolatlarda saptanan çoğul dirençlilik bu açıdan önem taşımaktadır. Çünkü çoğul dirençli GSBL pozitif *E. coli* suşlarının gıda yönlü yetiştirilen hayvanlarda varlığı hem insan hem de hayvan sağlığı açısından büyük risk teşkil etmektedir. Diğer önemli bir husus ise, beta-laktam olmayan antimikrobiyallerin kullanımında GSBL direnç genlerinin seleksiyonuna neden olmasıdır. Bu antimikrobiyallerden herhangi birinin kullanımı diğer genlerin de ko-seleksiyonuna neden olabilir. Beta-laktam antimikrobiyallerin kullanılmadığı çiftliklerde GSBL direnç genlerinin belirlenmesi bu duruma kanıt gösterilebilir (Schmid ve ark. 2013). Ayrıca, antimikrobiyal direnç genlerini taşıyan plazmidler, dezenfektanlar ve ağır metallerle direnç, virulens ve metabolizma ile ilişkili genleri de yapılarında taşıyabilirler ve bu nedenle bu genler birlikte ortak olarak selekte olabilirler (Barbosa ve Levy 2000).

Filogenetik analizlere göre *E. coli* suşları dört filogenetik gruba (A, B1, B2 ve D) ayrılmaktadır. Virulent ekstra-intestinal suşlar genellikle B2 ve daha az oranda da D grubuna ait iken, kommensal suşların büyük kısmı A grubunda yer almaktadır. Filogenetik

gruplandırma, filogenetik grup ve virulens özellikleri arasında bağlantı kurmada ve potansiyel patojenik suşların belirlenmesinde tarama amaçlı olarak kullanılmaktadır (Clermont ve ark. 2000). Valat ve ark. (2012) Fransa’da 5 yıllık bir periyotta farklı klinik vakalardan izole edilen sığır suşlarının (n=204) büyük oranda A (n=113, %55.4), daha az oranda da D (n=52, %25.5), B1 (n=32, %15.6) filogenetik gruplarında yer aldığını, B2 filogenetik grubunun ise çok düşük oranda (n=1, %0.5) olduğunu tespit etmişlerdir. Ben Sallem ve ark. (2012) gıda amaçlı yetiştirilen hayvan türlerinden alınan fekal örneklerden izole ettikleri 11 GSBL pozitif *E. coli* suşunun sırasıyla B1 (n=5), D (n=3), A (n=2) ve B2 (n=1) filogenetik gruplarına ait olduğunu tespit etmişlerdir. Asai ve ark. (2011) hasta sığırlardan izole edilen 72 *E. coli* suşundan GSBL pozitif olan 6’sının sırasıyla A (n=3), B1 (n=2) ve D (n=1) filogenetik grubunda yer aldığını saptamışlardır. Bu çalışmada GSBL pozitif izolatların B1 (n=13), A (n=9) ve D1 (n=4) filogenetik grubunda yer aldığı görüldü. Yukarıdaki araştırma sonuçları dikkate alındığında GSBL genlerinin kommensal *E. coli* izolatları arasında daha fazla yayılım gösterdiği ileri sürülebilir.

6. SONUÇ

Bu çalışma ile Türkiye’de ilk kez sığırlarda CTX-M-15, CTX-M-11, CTX-M-3 ve OXA-1 üreten fekal *E. coli* taşıyıcılığı tespit edilmiştir. Ayrıca, mevcut çalışmanın sonuçları Hatay ilinde yetiştirilen gerek süt ve gerekse de besi sığırlarının GSBL sentezleyen *E. coli* yönünden potansiyel rezervuar olduğunu göstermektedir. Bu nedenle, GSBL sentezleyen bakteriler dahil antimikrobiyal dirençli bakteriler hayvanlarda sürekli olarak izlenmeli ve GSBL pozitif bakterilerin klonal yayılımının önlenmesi için antibiyotikler bilinçli olarak kullanılmalıdır.

7. KAYNAKLAR

1. **Açıköz ZC, Gülay Z, Biçmen M, Göçer S, Gamberzade S.** CTX-M-3 extended spectrum beta-lactamase in a *Shigella sonnei* clinical isolate first report from Turkey. *Scand J Infect Dis*, **2003**, s.35:503-505.
2. **Ahmed AM, Motoi Y, Sato M, Maruyama A, Watanabe H ve ark.** Zoo animals as a reservoir of Gram negative bacteria harboring integrons and antimicrobial resistance genes. *Appl Environ Microbiol*, **2007**, s. 73:6686-6690.
3. **Ambler RP.** The structure of beta-lactamases. *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci.* **1980**, s. 289:321-331.
4. **Aktaş Z, Poirel L, Salcıoğlu M, Özcan P, Midilli K. ve ark.** PER-1-and OXA-10-like betalactamases in ceftazidime-resistant *Pseudomonasaeruginosa* isolates from intensive care unit patients in Istanbul, Turkey. *Clin Microbiol Infect.* **2005**, s. 11:193-198.
5. **Aksoy A, Göçmen S, Kaçmaz B, Canver S.** İnsan ve sığırlardan izole edilen fekal *Escherichia coli* suşlarında antibiyotik direnci ve genişlemiş spektrumlu beta-laktamaz üretimi. *ANKEM Derg*, **2005**, s.19:130-134.
6. **Akyar I, Kocagöz S, Kocagöz T.** Beş yılda izole edilen 15434 *Escherichia coli* ve 3178 *Klebsiella* spp. suşunda genişlemiş spektrumlu beta-laktamaz üretiminin yıllara, kliniklere ve örnek türlerine dağılımı. *ANKEM Derg*, **2010**, s. 24:34-41.
7. **Barthelemy M, Pe'duzzi J, Bernard H, Tancre'de C, Labia R.** Close amino acid sequence relationship between the new plasmid-mediated extended-spectrum beta-lactamase MEN-1 and chromosomally encoded enzymes of *Klebsiella oxytoca*. *Biochim Biophys Acta*, **1992**, s. 1122:15-22.
8. **Bauernfeind A, Grimm H, Schweighart S.** A new plasmidic cefotaximase in a clinical isolate of *Escherichia coli*. *Infection*, **1990**, s.18:294-298.
9. **Bayraktar B, Toksoy B, Bulut E.** Genişlemiş spektrumlu beta-laktamaz üreten Gram negatif bakterilerde *bla_{CTX-M}* beta-laktamaz genlerinin araştırılması. *Mikrobiyol Bul*, **2010**, s. 44:187-196.
10. **Barbosa TM, Levy SB.** The impact of antibiotic use on resistance development and persistence. *Drug Resist Update*, **2000**, s. 3:303-311.
11. **Blanc V, Mesa R, Saco M, Lavilla S, Prats G, Miro E, Navarro F, Cortes P, Llagostera M.** ESBL- and plasmidic class C beta-lactamase-producing *Escherichia coli* strains isolated from poultry, pig and rabbit farms. *Vet Microbiol*, **2006**, s. 118:299-304.
12. **Bonfiglio G, Russo G, Nicoletti G.** Recent developments in carbapenems. *Expert Opin Investig Drugs*. **2002**, s.11: 529-544.
13. **Bonnet R, Sampaio J L M, Labia R, Champs C D, Sirot D, Chanal C, Sirot J.** A novel CTX-M beta-lactamase (CTX-M-8) in cefotaxime resistant *Enterobacteriaceae* isolated in Brazil. *Antimicrob Agents Chemother*, **2000**, s.44:1936-19947.
14. **Bonnet R.** Growing group of extended-spectrum β -lactamases: the CTX-M enzymes. *Antimicrob Agents Chemother*, **2004**, s. 48:1-14.
15. **Bradford PA.** Extended spectrum beta-lactamases in the 21st century. Characterization, epidemiology and detection of this important resistance threat. *Clin Micr Rev*, **2001**, s.14: 933-951.
16. **Brinas L, Moreno M, Teshager T, Saenz Y, Porrero M. ve ark.** Monitoring and characterization of extended-spectrum beta-lactamases in *Escherichia coli* strains from healthy and sick animals in Spain in 2003. *Antimicrob Agents Chemother*, **2005**, s. 49:1262-1264.
17. **Brinas L, Zarazaga M, Saenz Y, Ruiz-Larrea F, Torres C.** Beta-lactamases in ampicillin-resistant *Escherichia coli* isolates from foods, humans, and healthy animals. *Antimicrob Agents Chemother*, **2002**, s. 46:3156-3163.
18. **Brinas L, Moreno MA, Zarazaga M.** Detection of CMY-2, CTX-M-14, and SHV-12 beta lactamases in *E.coli* fecal-sample isolates from healthy chickens. *Antimicrob Agents Chemother*, **2003**, s. 47:2056-2058.
19. **Brun-Buisson C, Legrand P, Philippon A, Montravers F, Ansquer M.** Transferable enzymatic resistance to third-generation cephalosporins during nosocomial outbreak of multiresistant *Klebsiella pneumoniae*. *Lancet*, **1987**, s. 2:302-306.
20. **Bush K, Jacoby GA, Medeiros AA.** A functional classification scheme for betalactamases and its correlation with molecular structure. *Antimicrob Agents Chemother*, **1995**, s. 39:1211-1233.
21. **Canton R, Novais A, Valverde A.** Prevalence and spread of extended spectrum beta-lactamase-producing *Enterobacteriaceae* in Europe. *Clin Microbiol infect*, **2008**, s. 14:144-154.
22. **Cao V, Lambert T, Courvalin P.** ColE1-like plasmid pIP843 of *Klebsiella pneumoniae* encoding extended-spectrum beta-lactamase CTXM-17. *Antimicrob Agents Chemother*, **2002**, s. 46:1212-1217.

23. **Carattoli A.** Animal reservoirs for extended-spectrum beta lactamase producers. *Clin Microbial Infect*, **2008**, s.14:117-123.
24. **Casals JB, Pringler N.** Detection in the routine laboratory of new plasmid mediated broad-spectrum beta-lactamases in *Enterobacteriaceae*. *J Clin Microbiol*, **1990**, s. 50:102-106.
25. **Clermont O, Bonacorsi S, Bingen E.** Rapid and simple determination of the *Escherichia coli* phylogenetic group. *Appl Environ Microbiol*, **2000**, s. 66:4555-4558.
26. **Cormican MG, Marshall SA, Jones RN.** Detection of extended-spectrum beta-lactamase (ESBL)-producing strains by the E test ESBL screen. *J Clin Microbiol*, **1996**, s. 34: 1880-1884.
27. **Costa D, Poeta P, Brinas L, Saenz Y, Rodrigues J. ve ark.** Detection of CTX-M-1 and TEM-52 beta-lactamases in *Escherichia coli* strains from healthy pets in Portugal. *J Antimicrob Chemother*, **2004**, s. 54: 960.
28. **Clinical and Laboratory Standart Institute.** Performance standarts for antimicrobial susceptibility testing. Seventeenth Informational Supplement. **2012**, M100-S22. Wayne, PA.
29. **Çolak D.** Temel ve Klinik Mikrobiyoloji. Antimikrobiyal ilaçlar ve etki mekanizmaları. 1. Baskı, Güneş Kitabevi Ltd. Şti. Ankara, **1999**, s:81-89.
30. **Çopur Çiçek A, Saral A, Özad Duzgun A, Yaşar E, Çizmeçi Z. ve ark.** Nationwide study of *Escherichia coli* producing extended-spectrum beta-lactamases TEM, SHV and CTX-M in Turkey. *J Antibiot (Tokyo)*, **2013**, s. 10:1038.
31. **Tolun V, Küçükbasmacı O, Törümküney-Akbulut D, Çatal C, Anğ-Küçükker M ve ark.** Relationship between ciprofloxacin resistance and extended-spectrum beta-lactamase production in *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae* strains. *Clin Microbiol Infect*, **2004**, s. 10:72-75.
32. **Danel F, Hall LMC, Duke B, Gur D, Livermore DM.** OXA-17, a further extended-spectrum variant of OXA-10 beta-lactamase, isolated from *Pseudomonas aeruginosa*. *Antimicrob Agents Chemother*, **1999**, s. 43:1362-1366.
33. **Dinç G, Ata Z, Temelli S.** Sığır mastitislerinden izole edilen *Escherichia coli* suşlarında genişlemiş spektrumlu beta-laktamaz aktivitesi ve antibiyotik dirençlilik profilinin incelenmesi. *Ankara Üniv Vet Fak Derg*, **2012**, s. 59:85-88.
34. **Duan RS, Sit TH, Wong SS.** *E.coli* producing CTX-M beta-lactamases in food animals in Hong Kong. *Microb Drug Resist*, **2006**, s.12:145-148.
35. **EFSA.** Scientific opinion on the public health risk of bacterial strains producing extended-spectrum beta-lactamases in food and food producing animals. *Euro Surveil*, **2011**, s. 9:2322.
36. **Emery CL, Weymouth LA.** Detection and clinical significance of extended-spectrum beta-lactamases in a tertiary-care medical center. *J Clin Microbiol*, **1997**, s. 35:2061-2067.
37. **Ewers C, Grobbel M, Bethea, Wieler LH, Guenther S.** Extended spectrum beta-lactamases-producing gram negative bacteria in companion animals: action is clearly warranted. *Berl Munch Tierarztl Wochenschr*, **2012**, s. 124:10-17.
39. **Furuya E.Y. ve Lowy F. D.** Antimicrobial-resistant bacteria in the community setting. *Nature Review Microbiol*, **2006**, s. 4:36-45.
40. **Geser N, Stephan R, Hachler H.** Occurrence and characteristics of extended-spectrum beta-lactamase (ESBL) producing *Enterobacteriaceae* in food producing animals, minced meat and raw milk. *BMC Vet Res*. **2012**, s. 8:21.
41. **Gniadkowski, M, Schneider I, Palucha A, Jungwirth R, Mikiewicz B.** Cefotaxime-resistant *Enterobacteriaceae* isolates from a hospital in Warsaw, Poland: identification of a new CTX-M-3 cefotaxime-hydrolyzing beta-lactamase that is closely related to the CTX-M-1/MEN-1 enzyme. *Antimicrob Agents Chemother*, **1998**, s. 42:827-832.
42. **Gönüllü N, Aktaş Z, Kayacan C, Salcioglu M, Carattoli A. ve ark.** Dissemination of CTXM-15 beta-lactamase genes carried on Inc FI and FII plasmids among clinical isolates of *Escherichia coli* in a university hospital in Istanbul, Turkey. *J Clin Microbiol*, **2008**, s. 46: 1110-1112.
43. **Gür D.** Enfeksiyon Hastalıkları ve Mikrobiyolojisi. Bakterilerde Antibiyotiklere Karşı Direnç 2. Baskı Nobel Tıp Kitapevleri, İstanbul, **2002**, s. 17:182-192.
44. **Gür D.** Genişlemiş Spektrumlu (ESBL) ve Plazmid Kaynaklı AmpC beta-Laktamazlar. *Klinik derg*, **2005**, s. 18:147-151.
45. **Gür D, Gülay Z, Akan OA, Aktaş Z, Kayacan CB. ve ark.** Resistance to newer beta-lactams and related ESBL types in gram-negative nosocomial isolates in Turkish hospitals: results of the multicentre HITIT study, *Mikrobiyol Bul*, **2008**, s. 42:537-544.
46. **Gülay Z.** Temel ve Klinik Mikrobiyoloji. Antimikrobiyal İlaçlara Direnç. 1. Baskı, Güneş Kitabevi Ltd. Şti. Ankara, **1999**, s. 91-108.

- 47. Hasman H, Mevius D, Veldman K, Olesen I, Aarestrup FM.** Beta-lactamases among extended-spectrum beta lactamase (ESBL) resistant *Salmonella* from poultry, poultry products and human patients in The Netherlands. *J Antimicrob Chemother*, **2005**, s. 56:115-121.
- 48. Helmuth R.** Salmonella in slaughter pigs of German origin an epidemiological study. *Eur J Epidemiol*, **2000**, s. 2:141-6.
- 49. Hernández JR, Martínez-Martínez L, Cantón R, Coque TM, Pascual A.** Nationwide study of *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae* producing extended-spectrum beta-lactamases in Spain. *Antimicrob Agents Chemother*, **2005**, s. 49:2122-2125.
- 50. Ho PL, Chow KH, Yuen KY, Ng WS, Chau PY.** Comparison of a novel, inhibitor-potentiated disc-diffusion test with other methods for the detection of extended-spectrum beta-lactamases in *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae*. *J Antimicrob Chemother*, **1998**, s. 42:49–54.
- 51. Ho PL, Chow KH, Lai EL, Lo WU, Yeung MK. ve ark.** Extensive dissemination of CTX-M-producing *Escherichia coli* with multidrug resistance to 'critically important' antibiotics among food animals in Hong Kong. *J Antimicrob Chemother*, **2011**, s. 66:765-768.
- 52. Hordijk J, Wagenaar JA, Kant A, van Essen-Zandbergen A, Dierikx C. ve ark.** Cross-sectional study on prevalence and molecular characteristics of plasmid mediated ESBL/AmpC-producing *Escherichia coli* isolated from veal calves at slaughter. *PLoS One*, **2013**, s. 8: 65681.
- 53. Ishii Y, Ohno A, Taguchi H, Imajo S, Ishiguro M. ve ark.** Cloning and sequence of the gene encoding a cefotaxime-hydrolyzing class A beta-lactamase isolated from *Escherichia coli*. *Antimicrob Agents Chemother*, **1995**, s. 39:2269–2275.
- 54. Jarlier V, Nicolas M, Fournier G, Philippon A.** Extended broad-spectrum β -lactamases conferring transferable resistance to newer β -lactam agents in *Enterobacteriaceae* hospital prevalence and susceptibility patterns. *Rev Infect Dis*, **1988**, s. 10:867–878.
- 55. Jones RN, Mendes C, Turner PJ, Masterton R.** An overview of the Meropenem Yearly Susceptibility Test Information Collection (MYSTIC) Program: 1997-2004. *Diagn Microbiol Infect Dis*, **2005**, s. 53:247-256.
- 56. Karim A, Poirel L, Nagarajan S, Nordmann P.** Plasmid mediated extended-spectrum beta-lactamase (CTX-M-3 like) from India and gene association with insertion sequence *ISEcpl*. *FEMS Microbiol Lett*, **2001**, s. 201:237–241.
- 57. Kariuki S, Corkill JE, Revathi G, Musoke R, Hart CA.** Molecular characterization of a novel plasmid-encoded cefotaximase (CTX-M-12) found in clinical *Klebsiella pneumoniae* isolates from Kenya. *Antimicrob Agents Chemother*, **2001**, s. 45:2141–2143.
- 58. Katsanis GP, Spargo J, Ferraro MJ, Sutton L, Jacoby GA.** Detection of *Klebsiella pneumoniae* and *Escherichia coli* strains producing extended-spectrum b-lactamases. *J Clin Microbiol*, **1994**, s. 32:691–696.
- 59. Knothe H, Shah P, Krcmery V, Antal M, Mitsuhashi S.** Transferable resistance to cefotaxime, cefoxitin, cefamandole and cefuroxime in clinical isolates of *Klebsiella pneumoniae* and *Serratia marcescens*. *Infection*, **1983**, s. 11: 315–317.
- 60. Kojima A, Ishii Y, Ishihara K.** Extended-spectrum-beta-lactamases producing *Escherichia coli* strains isolated from farm animals from 1999 to 2002: report from the Japanese Veterinary Antimicrobial Resistance Monitoring Program. *Antimicrob Agents Chemother*, **2005**, s. 49:3533-3537.
- 61. Korten V, Ulusoy S, Zarakolu P, Mete B.** Antibiotic resistance surveillance over a 4-year period (2000-2003) in Turkey: results of the MYSTIC Program. Turkish MYSTIC Study Group. *Diagn Microbiol Infect Dis*, **2005**, s. 59:453-457.
- 62. Kolayli F, Gundes S, Arisoy AE, Karaali E, Turker G. ve ark.** An outbreak of SHV-5 producing *Klebsiella pneumoniae* in a neonatal intensive care unit; meropenem failed to avoid fecal colonization. *New Microbiol*, **2005**, s. 28:231-236.
- 63. Küçükbasmacı O, Ciftcioglu G, Midilli K, Issa G.** Detection of extended spectrum beta-lactamase producing *Enterobacteriaceae* from food animals in Turkey. *Revue Méd Vét*, **2008**, s. 159:586-592.
- 64. Lahey Clinic.** β -lactamase classification and amino acid sequences for TEM, SHV and OXA Extended-spectrum and inhibitor resistant enzymes. Erişim: <http://www.lahey.org/studies/>. Erişim Tarihi: 24.07.2013
- 65. Lartigue M, Poirel L, Heritier C, Tolun V, Nordmann P.** **First description of CTX-M-15-producing *Klebsiella pneumoniae* in Turkey.** *J Antimicrob Chemother*, **2003**, s. 52:315-316.
- 66. Lautenbach E, Strom BL, Bilker WB, Patel JB, Edelstein PH.** Epidemiological investigation of fluoroquinolone resistance in infections due to extended-spectrum β -lactamase-producing *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae*. *Clin Infect Dis*, **2001**, s. 33:1288-1294.

- 67. Liebana E, Batchelor M, Hopkins K, Clifton-Hadley F, Teale C. ve ark.** Longitudinal farm study of extended-spectrum betalactamase-mediated resistance. *J Clin Microbiol*, **2006**, s. 44:1630-1634.
- 68. Li XZ, Merotra M, Ghimire S, Adewoye L.** Beta-lactam resistance and beta-lactamases in bacteria of animal origin. *Vet Microbiol*, **2007**, s. 121:197-214.
- 69. Livermore DM, Brown DF.** Detection of beta-lactamase-mediated resistance. *J Antimicrob Chemother*, **2001**, s. 48:59-64.
- 70. M'Zali FH, Chanawong A, Kerr KG, Birkenhead D, Hawkey PM.** Detection of extended-spectrum beta-lactamases in members of the family *Enterobacteriaceae*: comparison of the MAST DD test, the double disc and the E test ESBL. *J Antimicrob Chemother*, **2000**, s. 45:881-885.
- 71. Madec JY, Lazizzera C, Chatre P, Meunier D, Martin S. ve ark.** Prevalence of fecal carriage of acquired expanded-spectrum cephalosporin resistance in *Enterobacteriaceae* strains from cattle in France. *J Clinical Microbiol*, **2008**, s. 46:1566-1567.
- 72. Matsumoto Y, Ikeda F, Kamimura T, Yokota Y, Mine Y.** Novel plasmid-mediated beta-lactamase from *Escherichia coli* that inactivates oxyimino-cephalosporins. *Antimicrob Agents Chemother*, **1988**, s. 32:124-1246.
- 73. Meunier D, Jouy E, Lazizzera C, Kobisch M, Madec J.** CTX-M-1- and CTX-M-15-type beta-lactamases in clinical *Escherichia coli* isolates recovered from food-producing animals in France. *Int J Antimicrob Agents*, **2006**, s. 28:402-407.
- 74. Mulvey MR, Boyd DA, Olson AB, Doublet B, Cloeckert A.** The genetics of *Salmonella* genomic island 1. *Microb Infect*, **2006**, s. 8:1915-1922.
- 75. Mehli M, Zer Y, Gayyurhan E.** Çeşitli klinik örneklerden izole edilen *Enterobacteriaceae* suşlarındaGSBL oluşturmanın ÇDST ve VITEK 2 yöntemleriile araştırılması. *ANKEM Derg*, **2007**, s. 21:71-75
- 76. Naas T, Poirel L, Nordmann P.** Pyrosequencing for rapid identification of carbapenem-hydrolysing OXA-type beta-lactamases in *Acinetobacter baumannii*. *Clin Microbiol Infect*, **2006**, s. 12:1236-1240.
- 77. Ohnishi M, Okatani AT, Esaki H, Harada K, Sawada T. ve ark.** Herd prevalence of *Enterobacteriaceae* producing CTX-M-type and CMY-2 β -lactamases among Japanese dairy farms. *J Appl Microbiol*, **2013**, s.115:282-289.
- 78. Oliver A, Weigel LM, Rasheed JK, McGowan Juniorperiod JE.** Mechanisms of decreased susceptibility to cefpodoxime in *Escherichia coli*. *Antimicrob Agents Chemother*, **2002**, s. 46:3829-3836.
- 79. Oliver A, Coque T.M, Alonso D, Valverde A, Baquero F, Canton R.** CTX-M-10 linked to a phage-related element is widely disseminated among *Enterobacteriaceae* in a Spanish hospital. *Antimicrob Agents Chemother*, **2005**, s. 49:1567-1571.
- 80. Ouellette M, Paul GC, Philippon AM, Roy PH.** Oligonucleotide probes (TEM-1, OXA-1) versus isoelectric focusing in β -lactamase characterization of 114 resistant strains. *Antimicrob Agents Chemother*, **1988**, s. 32:397-399.
- 81. Overdeest I, Willemson I, Rijnsburger M.** Extended-spectrum beta-lactamase genes of *Escherichia coli* in chicken meat and humans, The Netherlands. *Emerg Infect Dis*, **2011**, s. 7:1216-1222.
- 82. Özsoy MF, Öncül O, Yıdırım A, Pahsa A.** Genişlemiş spektrumlu beta-laktamazlar klinik önemi ve getirdiği sorunlar. *Flora*, **2001**, s. 6:3-23.
- 83. Öcal D.** Gram negatif bakterilerde antibakteriyal direncin fenotipik yöntemler ile tayin ve bildirimi. *ANKEM Derg*, **2012**, s. 26:154-164.
- 84. Pai H, Choi EH, Lee HJ, Hong JY, Jacoby GA.** Identification of CTX-M-14 extended-spectrum beta-lactamase in clinical isolates of *Shigella sonnei*, *Escherichia coli*, and *Klebsiella pneumoniae* in Korea. *J Clin Microbiol*, **2001**, s. 39:3747-3749.
- 85. Paterson D ve Bonomo R.** Extended-spectrum beta-lactamases:a clinical update. *Clin Microbiol Rev*, **2005**, s. 18: 657-686.
- 86. Paterson DL, Ko WC, Gottberg AV, Casellas JM, Mulazimoglu L.** Outcome of cephalosporin treatment for serious infections due to apparently susceptible organisms producing extended-spectrum β -lactamases: implications for the clinical microbiology laboratory. *J Clin Microbiol*, **2001**, s. 39:2206-2212.
- 87. Paterson DL, Ko WC, Gottberg AV, Mohapatra S, Casellas JM.** Antibiotic therapy for *Klebsiella pneumoniae* bacteremia: Implications of production of extended-spectrum β lactamases. *Clin Infect Dis*, **2004**, s. 39:7-31.
- 88. Paterson DL, Mulazimoglu L, Casellas J, Ko W,Goossens H, Von Gottberg A. ve ark.** Epidemiology of ciprofloxacin resistance and its relationship to extended-spectrum beta-lactamase production in *Klebsiella pneumoniae* isolates causing bacteremia. *Clin Infect Dis*, **2000**, s.30:473-478.

- 89. Pasterán F, Rapoport M, Petroni A, Faccone D, Corso A ve ark.** Emergence of PER-2 and VEB-1a in *Acinetobacter baumannii* Strains in the Americas.. *Antimicrob Agents Chemother.* **2006**, s. 50:3222-3224.
- 90. Perez F, Endimiani A, Hujer Km, Bonomo Ra.** The continuing challenge of ESBLs. *Curr Opin Pharmacol*, **2007**, s. 7:459-469.
- 91. Pitout JD, Laupland KB.** Extended-spectrum beta lactamase-producing *Enterobacteriaceae* an emerging public-health concern. *Lancet Infect Dis*, **2008**, s.8:159-166.
- 92. Pitout JD.** Extra intestinal patogenic *Escherichia coli* : a combination of virulence with antibiotic resistance. *Infection*, **2012**, s. 11:315-317.
- 93. Poirel L, Bonnin RA, Nordmann P.** Genetic support and diversity of acquired extended-spectrum β -lactamases in Gram-negative rods. *Infect Genet Evol*, **2012**, s. 12:883-93.
- 94. Poirel L, Naas T, Thomas LI, Karim A, Bingen E.** CTX-M-type extended-spectrum beta-lactamase that hydrolyzes ceftazidime through a single amino acid substitution in the omega loop. *Antimicrob Agents Chemother*, **2001**, s. 45:3355–3361.
- 95. Poirel L, Nordmann P, Mammeri H.** Bactericidal activity of fluoroquinolones against plasmid-mediated QnrA-producing *Escherichia coli*. *Clin Microbiol Infect*, **2005**, s. 11:1048-1049.
- 96. Poirel L, Karim A, Mercat A, Le Thomas I, Vahaboglu H. ve ark.** Extended-spectrum beta-lactamase-producing strain of *Acinetobacter baumannii* isolated from a patient in France. *J Antimicrob Chemother*, **1999**, s. 43:157-158.
- 97. Rossolini GM, D'Andrea MM, Mugnaioli C.** The spread of CTX-M-type extended-spectrum beta-lactamases. *Clin Microbiol Infect*, **2008**, s.14:33-41.
- 98. Rossolini GM, Franceschini N, Lauretti L, Caravelli B, Riccio ML ve ark.** Cloning of a *Chryseobacterium (Flavobacterium) meningosepticum* chromosomal gene (*bla*ACME) encoding an extended-spectrum class A beta-lactamase related to the *Bacteroides* cephalosporinases and the VEB-1 and PER beta-lactamases. *Antimicrob Agents Chemother*, **1999**, s. 43:2193–2199.
- 99. Sabate M, Tarrago R, Navarro F, Miro E, Verge's C.** Cloning and sequence of the gene encoding a novel cefotaxime hydrolyzing beta-lactamase (CTX-M-9) from *Escherichia coli* in Spain. *Antimicrob Agents Chemother*, **2000**, s. 44:1970-1973.
- 100. Sanders CC, Barry AL, Washington JA, Shubert C, Moland ES ve ark.** Detection of extended-spectrum-beta-lactamase-producing members of the family *Enterobacteriaceae* with Vitek ESBL test. *J Clin Microbiol*, **1996**, s. 34:2997-3001.
- 101. Sarı H.** Karbapenemlere dirençli gram-negatif basil izolatlarında imipenem-EDTA /meropenem-EDTA disk yöntemi ve modifiye hodge testi ile metallo-beta-laktamaz varlığının araştırılması. Uzmanlık Tezi, İstanbul **2005**.
- 102. Sayah RS, Kaneene JB, Johnson Y, Miller R.** Patterns of antimicrobial resistance observed in *Escherichia coli* isolates obtained from domestic and wild-animal fecal samples, human septage, and surface water. *Appl Environ Microbiol*, **2005**, s.71:1394-404.
- 103. Schwarz S. and Chaslus-Dancla E.** Use of antimicrobials in veterinary medicine and mechanisms of resistance. *Vet Res*, **2001**, s. 32:201-225.
- 104. Schmid A, Hörmansdorfer S, Messelhäusser U, Käsbohrer A, Sauter-Louis C. ve ark.** Prevalence of Extended-Spectrum β -Lactamase-Producing *Escherichiacoli* on Bavarian Dairy and Beef Cattle Farms. *J Appl Microbiol*. **2013**, s. 79:3027–3032.
- 105. Shiraki Y, Shibata N, Doi Y, Arakawa Y.** *Escherichia coli* producing CTX-M-2 beta-lactamase in cattle, Japan. *Emerg Infect Dis*. **2004**, s.10: 69-75.
- 106. Sidjabat H, Hanson N, Smith-Moland E, Bell J, Gibson J ve ark.** Identification of plasmid-mediated extended-spectrum and AmpC beta-lactamases in *Enterobacter spp.* isolated from dogs. *J Med Microbiol*, **2007**, s. 56:426-434.
- 107. Sirot D, Sirot J, Labia R.** Transferable resistance to third-generation cephalosporins in clinical isolates of *Klebsiella pneumoniae* identification of CTX-1, a novel beta lactamase. *J Antimicrob Chemother*, **1987**, s. 20:323-334.
- 108. Smet A, Martel A, Persoons D.** Broad-spectrum beta-lactamases among *Enterobacteriaceae* of animal origin: molecular aspects, mobility and impact on public health. *FEMS Microbiol Rev*, **2010**, s. 34:295-316.
- 109. Tamang MD, Nam HM, Kim SR, Chae MH, Jang GC ve ark.** Prevalence and molecular characterization of CTX-M β -lactamase-producing *Escherichia coli* isolated from healthy swine and cattle. *Foodborne Pathog Dis*, **2013**, s. 10: 13-20
- 110. Taşlı H, Bahar I.** Molecular characterization of TEM- and SHV-derived extended-spectrum beta-lactamases in hospital-based *Enterobacteriaceae* in Turkey. *Jpn J Infect Dis*, **2005**, s. 58:162-167.

- 111. Teshager T, Dominguez L, Moreno MA, Saenz Y, Torres C. ve ark.** Isolation of an SHV-12 beta-lactamase producing *Escherichia coli* strain from a dog with recurrent urinary tract infections. *Antimicrob Agents Chemother*, **2000**, s. 44:3483-3484.
- 112. Thomson KS, Sanders CC.** A simple and reliable method to screen isolates of *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae* for the production of TEM- and SHV-derived extended-spectrum beta-lactamases. *Clin Microbiol Infect*, **1997**, s. 3:549–554.
- 113. Thomson KS, Sanders CC.** Detection of extended-spectrum beta-lactamases in members of the family *Enterobacteriaceae*: comparison of the double-disk and three-dimensional tests. *Antimicrob Agents Chemother*, **1992**, s. 36: 1877–1882.
- 114. Tolun V, Küçükbasmacı O, Torumkuney-Akbulut.** Relationship between ciprofloxacin resistance and extended-spectrum beta-lactamase production in *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae* strains. *Clin Microbiol Infect*, **2005**, s. 10:72-5.
- 115. Vercauteren E, Descheemaeker P, Ieven M, Sanders CC, Goossens H.** 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*, **1997**, s. 35:2191–2197.
- 116. Walsh C.** Where will new antibiotics come from? *Nat Rev Microbiol*, **2003**, s. 1:65-70.
- 117. Wang G, Clark CG, Rodgers FG,** 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 Clin Microbiol*, **2002**, s. 40:3613-3619.
- 118. Wasyl D, Hasman H, Cavaco LM, Aarestrup FM.** Prevalence and characterization of cephalosporin resistance in nonpathogenic *Escherichia coli* from food-producing animals slaughtered in Poland. *Microb Drug Resist*, **2012**, s:18:79-82.
- 119. Yüce A.** Antimikrobik İlaçlara Direnç Kazanma Mekanizmaları. *Klimik Derg*, **2001**, s. 14:41-46.
- 120. Zheng H, Zeng Z, Chen S, Liu Y, Yao Q. ve ark.** Prevalence and characterisation of CTX-M β -lactamases amongst *Escherichia coli* isolates from healthy food animals in China. *Int J Antimicrob Agents*, **2012**, s. 39:305– 310.

ÖZGEÇMİŞ

1989 yılında Hatay'da doğdu. Orta öğrenimini Şehoğlu İlköğretim Okulu'nda, lise öğrenimini Dr. Mustafa Gencay Lisesi'nde tamamladı. 2007 yılında kazandığı Mustafa Kemal Üniversitesi Fen Edebiyat-Fakültesi Biyoloji Bölümü'nden 2011 yılında mezun oldu. Aynı yıl Mustafa Kemal Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Mikrobiyoloji (Veteriner) Anabilim Dalı'nda yüksek lisansa başladı.