



T.C.

ERCIYES ÜNİVERSİTESİ

TIP FAKÜLTESİ

TIBBİ MİKROBİYOLOJİ ANABİLİM DALI

**KAN KÜLTÜRLERİNDEN İZOLE EDİLEN *ESCHERICHIA COLI*  
VE *KLEBSIELLA PNEUMONIAE* SUŞLARINDA GENİŞLEMİŞ  
SPEKTRUMLU BETA-LAKTAMAZ SIKLIĞI**

TIPTA UZMANLIK TEZİ

**Dr. Derya SAĞLAM**

**KAYSERİ 2012**



**T.C.**

**ERCIYES ÜNİVERSİTESİ**

**TIP FAKÜLTESİ**

**TIBBİ MİKROBİYOLOJİ ANABİLİM DALI**

**KAN KÜLTÜRLERİNDEN İZOLE EDİLEN *ESCHERICHIA COLI*  
VE *KLEBSIELLA PNEUMONIAE* SUŞLARINDA GENİŞLEMİŞ  
SPEKTRUMLU BETA-LAKTAMAZ SIKLIĞI**

**TIPTA UZMANLIK TEZİ**

**Dr. Derya SAĞLAM**

**Danışman**

**Prof. Dr. Hüseyin KILIÇ**

**KAYSERİ 2012**

## TEŞEKKÜR

Hoşgörüsü ve her türlü desteği ile asistanlık yaptığım süre içinde bilgi ve tecrübelerini bize aktararak bizi yetiştiren, oluşturduğu hoşgörü ortamında huzurlu çalışmamızı sağlayan eğitimimde büyük katkısı olan, hiçbir desteğini esirgemeyen tez danışman hocam Prof. Dr. Hüseyin KILIÇ'a sonsuz teşekkürlerimi ve saygılarımı sunarım.

Tezimin bir çok aşamasında bana bilgi ve tecrübeleriyle yol gösteren ve değerli zamanını ayıran Prof. Dr. Duygu PERÇİN'e çok teşekkür ederim. Asistanlık eğitimim boyunca bilgi ve tecrübeleriyle bana destek veren Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı Başkanı Prof. Dr. A. Nedret KOÇ'a, Prof. Dr. Selma GÖKAHMETOĞLU'na, Yrd. Doç. Dr. M. ATALAY hocalarıma teşekkür ederim. Ayrıca tez yazım aşamasında yapmış olduğu yardımlardan dolayı Yrd. Doç. Dr. Esma KAYA'ya teşekkür ederim.

Sağladıkları huzurlu iş ortamı ve her türlü desteklerinden dolayı araştırma görevlisi doktor arkadaşlara ve laboratuvar çalışanlarına teşekkür ederim.

Hayatımın her döneminde hep yanımda olup bana destek olan çok değerli annem Gülay Ekin, babam Yıldırım Doğan Ekin, ağabeylerim ve yengelerime çok teşekkür ederim. Tecrübeleriyle destek olup hiçbir fedakarlıktan çekinmeyen saygıdeğer eşim Uzm. Dr. Hayrettin Sağlam'a hayatımıza mutluluk katan sevgili oğullarımız Halid, Yakup ve sevgili kızımız Zeynep Sağlam'a en içten duygularıyla teşekkür ederim. Saygılarımla

**Dr. Derya Sağlam**

# İÇİNDEKİLER

## SayfaNo

|                                         |      |
|-----------------------------------------|------|
| TEŞEKKÜR.....                           | i    |
| İÇİNDEKİLER.....                        | ii   |
| KISALTMALAR .....                       | vi   |
| TABLO LİSTESİ .....                     | viii |
| ŞEKİL LİSTESİ.....                      | ix   |
| ÖZET .....                              | x    |
| ABSTRACT .....                          | xii  |
| <br>                                    |      |
| 1. GİRİŞ VE AMAÇ .....                  | 1    |
| 2. GENEL BİLGİLER.....                  | 3    |
| 2.1. <i>ESCHERICHIA COLI</i> .....      | 3    |
| 2.1.1. Mikrobiyolojik Özellikleri.....  | 3    |
| 2.1.2. Antibiyotik Direnç Sorunu.....   | 5    |
| 2.2. <i>KLEBSIELLA PNEUMONIAE</i> ..... | 6    |
| 2.2.1. Mikrobiyolojik Özellikleri.....  | 6    |
| 2.2.2. Antibiyotik Direnç Sorunu.....   | 7    |
| 2.3. BETA-LAKTAM ANTİBİYOTİKLER .....   | 7    |
| 2.3.1. Penisilinler .....               | 8    |
| 2.3.2. Sefalosporinler.....             | 8    |
| 2.3.3. Monobaktamlar .....              | 9    |
| 2.3.4. Karbapenemler.....               | 9    |

|                                                                             |    |
|-----------------------------------------------------------------------------|----|
| 2.3.5. Beta-laktamaz inhibitörlü beta-laktamlar.....                        | 9  |
| 2.4. BETA-LAKTAM ANTİBİYOTİKLERE DİRENÇ MEKANİZMALARI.....                  | 10 |
| 2.4.1. İlacın Hedefine Etkin Konsantrasyonda Ulaşmasının Engellenmesi ..... | 10 |
| 2.4.2. Penisilin Bağlayan Protein Değişimleri .....                         | 11 |
| 2.5. BETA-LAKTAMAZLAR.....                                                  | 12 |
| 2.5.1. Beta-Laktamazların İsimlendirilmesi.....                             | 12 |
| 2.5.2. GSBL'lerin Tarihçesi .....                                           | 15 |
| 2.5.3. GSBL Tipleri .....                                                   | 17 |
| 2.5.3.1. TEM'den Köken Alan GSBL'ler .....                                  | 17 |
| 2.5.3.2. SHV'den Köken Alan GSBL'ler .....                                  | 17 |
| 2.5.3.3. OXA'dan Köken Alan GSBL'ler .....                                  | 18 |
| 2.5.3.4. CTX-M .....                                                        | 18 |
| 2.5.3.5. Diğer Sınıf A GSBL'ler.....                                        | 19 |
| 2.5.3.6. İnhibitör Dirençli Geniş Spektrumlu Beta-Laktamazlar .....         | 19 |
| 2.5.4. Güncel Önem Taşıyan Beta-Laktamaz Grupları .....                     | 19 |
| 2.5.4.1. Bush Grup 1 Kromozomal Enzimler (AmpC beta-laktamazlar). 19        |    |
| 2.5.4.2. Plazmid Kökenli AmpC Tipi Beta-Laktamazlar.....                    | 20 |
| 2.5.5. GSBL'lerin Epidemiyolojisi .....                                     | 20 |
| 2.5.6. GSBL Sentezleyen Bakterilerin Klinikte Neden Olduğu Sorunlar .....   | 21 |
| 2.5.7. GSBL'lerin Laboratuvar Tanısı .....                                  | 22 |
| 2.5.7.1. Çift Diskli Sinerji Testi .....                                    | 22 |
| 2.5.7.2. Kombine Disk Yöntemi.....                                          | 24 |
| 2.5.7.3. Üç Boyutlu Test.....                                               | 24 |
| 2.5.7.4. Dilüsyon Yöntemleri .....                                          | 24 |
| 2.5.7.5. E Test Yöntemi.....                                                | 24 |
| 2.5.7.6. Otomatize Sistemler.....                                           | 25 |

|                                                                                 |           |
|---------------------------------------------------------------------------------|-----------|
| 2.5.8. GSBL Sentezleyen Bakterilerin Neden Olduğu Enfeksiyonların Tedavisi..... | 25        |
| 2.5.9. GSBL Üreten Bakteri Enfeksiyonlarının Önlenmesi .....                    | 25        |
| <b>3. GEREÇ VE YÖNTEM .....</b>                                                 | <b>26</b> |
| <b>3.1. KULLANILAN BESİYERLERİ VE DİĞER MALZEMELER .....</b>                    | <b>27</b> |
| 3.1.1. Kanlı Agar .....                                                         | 27        |
| 3.1.2. Eozin Metilen Blue Agar .....                                            | 28        |
| 3.1.3. Mueller-Hinton Agar.....                                                 | 28        |
| 3.1.4. Triple Sugar Iron Agar .....                                             | 29        |
| 3.1.5. Simmon's Sitrat Agar.....                                                | 30        |
| 3.1.6. MİL (Motility-indol-lysine) Besiyeri .....                               | 31        |
| 3.1.7. MIO (Motility-indol-ornitin) Besiyeri .....                              | 32        |
| 3.1.8. Kullanılan Antibiyotikler .....                                          | 33        |
| 3.1.9. Kullanılan Diğer Gereçler.....                                           | 33        |
| <b>3.2. BAKTERİ İZOLASYONU VE TANIMLANMASI .....</b>                            | <b>34</b> |
| 3.2.1. Biyoşimik Testlerle Tanımlama .....                                      | 35        |
| 3.2.2. Phoenix Otomatize Sistemi .....                                          | 37        |
| 3.2.3. İzole Edilen Suşların Saklanması.....                                    | 38        |
| <b>3.3. ANTİBİYOTİK DUYARLILIĞININ ARAŞTIRILMASI .....</b>                      | <b>38</b> |
| 3.3.1. Disk Diffüzyon Testi .....                                               | 38        |
| <b>3.4. GSBL VARLIĞININ ARAŞTIRILMASI.....</b>                                  | <b>39</b> |
| 3.4.1. Çift Disk Sinerji Testi.....                                             | 39        |
| 3.4.2. Kombine Disk Testi .....                                                 | 40        |
| <b>3.5. İSTATİSTİKSEL ANALİZ .....</b>                                          | <b>41</b> |
| <b>4. BULGULAR.....</b>                                                         | <b>42</b> |

|                           |           |
|---------------------------|-----------|
| <b>5. TARTIŞMA .....</b>  | <b>53</b> |
| <b>6. SONUÇLAR.....</b>   | <b>64</b> |
| <b>KAYNAKLAR .....</b>    | <b>67</b> |
| <b>ONAY SAYFASI .....</b> | <b>78</b> |

## KISALTMALAR

|              |                                                                  |
|--------------|------------------------------------------------------------------|
| CAZ-CAZ KLAV | : Seftazidim- Seftazidim Klavulanik asit                         |
| CLSI         | : Clinical Laboratory Standards Institute                        |
| CTX-CTX KLAV | : Sefotaxim- Sefotaxim Klavulanik asit                           |
| CYBÜ         | : Cerrahi Yoğun Bakım Ünitesi                                    |
| ÇDST         | : Çift Disk Sinerji Testi                                        |
| DYBÜ         | : Dahiliye Yoğun Bakım Ünitesi                                   |
| EMB          | : Eozin Metilen Blue                                             |
| ESBL         | : Extended-Spectrum beta-lactamase                               |
| GCS          | : Genel Cerrahi Servisi                                          |
| GCYBÜ        | : Genel Cerrahi Yoğun Bakım Ünitesi                              |
| GSBL         | : Genişlemiş Spektrumlu Beta Laktamaz                            |
| KCYBÜ        | : Kalp Cerrahi Yoğun Bakım Ünitesi                               |
| KDT          | : Kombine Disk Testi                                             |
| KİT          | : Kemik İliği Transplantasyon Ünitesi,                           |
| KYBÜ         | : Kardiyoloji Yoğun Bakım Ünitesi                                |
| MHA          | : Mueller Hinton Agar                                            |
| MİK          | : Minimal İnhibitör Konsantrasyon                                |
| MIO          | : Motility-İndol-Ornitin                                         |
| MİL          | : Motility-İndol-Lysine                                          |
| MYSTIC       | : Meropenem Yearly Susceptibility Test Information<br>Collection |
| PBP          | : Penisilin Bağlayıcı Protein                                    |

|        |                                                 |
|--------|-------------------------------------------------|
| PYBÜ   | : Pediatri Yoğun Bakım Ünitesi                  |
| R      | : Dirençli                                      |
| S      | : Duyarlı                                       |
| SENTRY | : Antimicrobial Surveillance Program            |
| TRUST  | : Tracking Resistance in the United State Today |
| TSI    | : Triple Sugar Iron                             |
| TSN    | : The Surveillance Network                      |
| YBÜ    | : Yoğun Bakım Ünitesi                           |

## TABLO LİSTESİ

|                                                                                                                                              |    |
|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| Tablo 1. Beta-laktamaz sınıfları .....                                                                                                       | 14 |
| Tablo 2. GSBL'ler için tarama testi olarak önerilen inhibisyon zonları.....                                                                  | 23 |
| Tablo 3. Erişkin ve çocuk hastalardan izole edilen <i>E.coli</i> suşlarında antibiyotiklere direnç oranları .....                            | 47 |
| Tablo 4. Erişkin ve çocuk hastalardan izole edilen <i>K.pneumoniae</i> Suşlarında antibiyotiklere direnç oranları .....                      | 48 |
| Tablo 5. GSBL Üreten ve Üretmeyen <i>E.coli</i> Suşlarında Antibiyotik Direnç Oranları .....                                                 | 50 |
| Tablo 6. GSBL Üreten ve Üretmeyen <i>K.pneumoniae</i> Suşlarında Antibiyotik Direnç Paternleri .....                                         | 51 |
| Tablo 7. GSBL pozitiflik oranının yöntemlere göre dağılımı.....                                                                              | 52 |
| Tablo 8. Ülkemizde kan kültüründe üreyen <i>K.pneumoniae</i> ve <i>E.coli</i> suşlarında GSBL sıklığını araştıran çeşitli araştırmalar ..... | 55 |

## ŞEKİL LİSTESİ

|                                                                                                                                   |    |
|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| Şekil 1. Çift Disk Sinerji Testi .....                                                                                            | 23 |
| Şekil 2. Besiyerinde üremiş <i>K.pneumoniae</i> , <i>E.coli</i> .....                                                             | 34 |
| Şekil 3. TSI Besiyeri.....                                                                                                        | 35 |
| Şekil 4. Simon Sitrat Agar .....                                                                                                  | 36 |
| Şekil 5. Dekarboksilasyon besiyeri .....                                                                                          | 37 |
| Şekil 6 Phoenix Sistemi .....                                                                                                     | 37 |
| Şekil 7. Disk Diffüzyon Testi .....                                                                                               | 39 |
| Şekil 8. Kombine Disk Testi.....                                                                                                  | 40 |
| Şekil 9. Çift Disk Sinerji Testi ve Kombine Disk Testi .....                                                                      | 41 |
| Şekil 10. <i>E.coli</i> ve <i>K.pneumoniae</i> GSBL pozitifliği .....                                                             | 42 |
| Şekil 11. Cinsiyetlere göre GSBL pozitifliği .....                                                                                | 43 |
| Şekil 12. Çocuk ve erişkin yaş grubuna göre GSBL pozitifliği .....                                                                | 44 |
| Şekil 13. GSBL pozitif <i>E coli</i> ve <i>K.pneumoniae</i> suşlarının yoğun bakım üniteleri<br>ve servislere göre dağılımı ..... | 45 |
| Şekil 14. <i>E.coli</i> suşlarının GSBL pozitiflik oranlarının kliniklere göre dağılımı ...                                       | 45 |
| Şekil 15. <i>K.pneumoniae</i> suşlarının GSBL pozitiflik oranlarının kliniklere göre<br>dağılımı .....                            | 46 |

**KAN KÜLTÜRLERİNDEN İZOLE EDİLEN *ESCHERICHIA COLI* VE  
*KLEBSIELLA PNEUMONIAE* SUŞLARINDA  
GENİŞLEMİŞ SPEKTRUMLU BETA-LAKTAMAZ SIKLIĞI**

**ÖZET**

**Amaç:** Genişlemiş spektrumlu beta-laktamazlar (GSBL) Gram negatif bakterilerde beta-laktam direncinin en önemli sebebidir. GSBL üreten bakteriler, hastanelerde salgınlar oluşturabilmekte, tedavilerin yetersiz kalmasına, hastaların hastanede yatış sürelerinin uzamasına ve mortalite oranlarının yükselmesine yol açabilmektedir. Bu çalışmada; kan kültüründe üreyen *Escherichia coli* ve *Klebsiella pneumoniae* suşlarında antibiyotik duyarlılığı, GSBL sıklığı, yaş ve cinsiyetle ilişkisi, GSBL oranlarının servislere göre dağılımının araştırılması amaçlanmıştır.

**Gereç ve Yöntem:** Ocak 2009 ile Ocak 2010 tarihleri arasında, Erciyes Üniversitesi Tıp Fakültesi servis ve yoğun bakım ünitelerindeki yatan hastalardan gönderilen kan kültürlerinde üreyen **95'i *E.coli* ve 50'si *K.pneumoniae*** olarak tanımlanmış toplam 145 suş çalışmaya alındı. İzole edilen *E.coli* ve *K.pneumoniae* suşlarının disk diffüzyon yöntemiyle amoksisilin-klavulanat, imipenem, meropenem, ertapenem, piperasilin-tazobaktam, amikasin, siprofloksasin, gentamisin, sefotaksim, trimetoprim-sülfometoksazol duyarlılıkları araştırıldı. GSBL varlığının tespiti için çift disk sinerji testi ve kombine disk testi uygulandı.

**Bulgular:** Kan kültürü örneklerinden izole edilen *E.coli* suşlarındaki GSBL oranı **% 38.9**, *K.pneumoniae* suşlarında **% 52** olarak tespit edildi. Erişkin hastalarda GSBL üreten *E.coli* suşlarının oranı **% 35**, *K.pneumoniae* suşlarının oranı **% 49** olarak bulundu. Pediatrik hastalarda ise her iki bakteri için bu oran **% 60** olarak tespit edildi ve bu fark istatistiksel olarak anlamlı bulundu. Kadınlardan izole edilen *E.coli* suşlarında GSBL görülme sıklığı (**% 53.8**), erkeklere (**% 28.6**) göre istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde yüksek bulundu ( $p < 0.05$ ). *E.coli* ve *K.pneumoniae* suşlarında GSBL üretimi, özellikle pediatri ve yoğun bakım servislerinde yatan hastalarda yüksek oranda bulundu.

GSBL üreten *E.coli* suşlarında, çalışılan antibiyotiklere karşı direnç oranları, GSBL üretmeyenlere göre istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek bulundu ( $p <$

0.05). GSBL üreten *K.pneumoniae* suşlarında ampisilin ve amoksisilin-klavulanik asit direnci GSBL üretmeyenlere göre istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek bulundu ( $p < 0.05$ ). Suşların hiçbirinde karbapenem direncine rastlanmadı.

**Sonuç:** Bu sonuçlar hastanemizde etkili sürveyans çalışmalarının planlanmasını, antibiyotik kullanımında ve hasta izolasyon önlemlerinin önemli olduğu bir kez daha anlaşılmıştır.

**Anahtar Kelimeler:** Kan kültürü, *E.coli* *K.pneumoniae*, GSBL

## **FREQUENCY OF ESBL IN *ESCHERICHIA COLI* AND *KLEBSIELLA PNEUMONIA* STRAINS ISOLATED FROM BLOOD CULTURES**

### **SUMMARY**

**Objective:** Extended-spectrum  $\beta$ -lactamases are the most frequent cause of beta-lactam resistance in gram negative bacteria. Bacteria producing ESBL may cause hospital epidemics, treatment failure, prolonged hospital stay, and increased mortality. In the present study, we aimed to evaluate; ESBL frequency, its association with age and gender, differences in ESBL frequencies among clinics and antibiotic sensitivity in *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae* strains isolated from blood cultures.

**Material and Method:** Between January 2009 and January 2010, total of 145 strains consisting of 95 *E.coli* and 50 *K.pneumoniae*, isolated in blood cultures obtained from clinics and intensive care units of Erciyes University Hospital were included in the study. Disc diffusion technique was used for determining sensitivity of isolated strains to amoxicilline-clavulanate, imipenem, meropenem, ertapenem, piperacillin-tazobactam, amikacin, ciprofloxacin, gentamicin, cefotaxime, trimethoprim-sulfamethoxazole. Double disc synergy test and combined disc test was used for determining ESBL positivity.

**Results:** ESBL positivity was determined in 38.9 % of *E.coli* strains and 52 % *K.pneumoniae* strains isolated in blood cultures. In adult patients; ESBL was positive in 35 % of *E.coli* strains and 49 % of *K.pneumoniae* strains. In pediatric patients; ESBL was positive in 60 % of both *E.coli* and *K.pneumoniae* strains and this difference was statistically significant. ESBL was significantly positive in *E.coli* strains isolated from female patients when compared with male patients (53,8 % to 28.6 %, ( $p<0.05$ )). ESBL positivity was high in blood cultures isolated from pediatrics and intensive care unit.

Resistance to antibiotics has been found to be significantly increased in ESBL(+) *E.coli* strains when compared with ESBL(-) *E.coli* strains ( $p<0.05$ ). Resistance to ampicillin and amoxicillin-clavulanic acid was significantly increased in ESBL (+) *K.pneumoniae* strains when compared with ESBL(-) *K.pneumoniae* strains. Carbapenem resistance was not observed in none of the strains.

**Conclusion:** Results of the present study showed the importance of planning effective surveillance studies, selection of optimal antibiotic for patients and isolation precautions in our hospital.

**Key Words:** Blood culture, *E.coli*, *K.pneumoniae*, ESBL

## 1. GİRİŞ VE AMAÇ

Son yıllarda antibiyotiklere karşı giderek artan direnç konusu tüm dünyada önemli bir sorun olmaya başlamıştır. Uygun olmayan antibiyotik kullanımı direnç gelişiminin en önemli sebeplerinden biridir. Antibiyotik kullanımı ile direnç gelişimi arasındaki ilişkiye gösterilebilecek en iyi örneklerden biri, yeni beta-laktam antibiyotiklerin yaygın kullanımını takiben bakterilerin bu antibiyotiklere direnç geliştirmeleridir. Gram negatif bakterilerde beta-laktam antibiyotiklere karşı direnç gelişiminde en önemli mekanizma beta-laktamaz üretimidir (1). Beta laktamazlar; beta-laktam antibiyotiklerin beta-laktam halkasındaki amid bağlarını parçalayarak antibakteriyel etkisini ortadan kaldıran enzimler olup, başta *Enterobacteriaceae* üyeleri olmak üzere birçok bakteri türü tarafından sentezlenebilir (2). Beta-laktam antibiyotiklerin etki spektrumlarının genişliği nedeniyle, bunların hidrolizine yol açan beta laktamazlar da “genişlemiş spektrumlu” ön adıyla adlandırılırlar. Genişlemiş spektrumlu beta-laktamazlar (GSBL), mikrobiyolojik olarak oksiminosefalosporinleri hidrolize edebilen, klavulanik asit tarafından inhibe olabilen enzimler olarak tanımlanmaktadır (1).

Bugüne kadar 500’den fazla beta laktamaz enzimi tanımlanmıştır. En önemli beta-laktamaz enzim grupları plazmidlerle kodlanan sefalosporinaz, metallo-beta-laktamaz ve GSBL’lerdir. Beta laktamazların yaklaşık 200 kadarı GSBL’ler olup plazmidik özellikleri nedeniyle bakteriler arasında transfer edilebilir (2, 3). GSBL’ler ilk defa 1983 yılında Almanya’da *Klebsiella pneumoniae* türlerine karşı geniş spektrumlu beta-laktam antibiyotiklerin kullanılmaya başlanmasından hemen sonra

bulunmuştur (4, 5). En sık *Escherichia coli* ve *K.pneumoniae* suşlarında bulunmakla birlikte *Proteus*, *Serratia*, *Acinetobacter*, *Citrobacter*, *Pseudomonas*, *Salmonella* ve *Morganella* gibi Gram negatif basillerde de nadir olarak tespit edilmektedir (4)

GSBL prevalansı dünya çapında önemli bir problemdir. Günümüze kadar yapılan çalışmalarda GSBL prevalansının ülkeye, bölgeye hatta kliniklere göre farklılık gösterdiği ve % 1-74 arasında değiştiği rapor edilmiştir. Ekonomik düzeyi ve sağlık hizmet kalitesi daha düşük ülkelerde GSBL oranının daha yüksek olduğu bildirilmektedir. Türkiye’de de, hastane izolatlarında GSBL sıklığının merkezler arasında farklılıklar gösterdiği ve % 45-80 arasında değiştiği bildirilmiştir (6, 7). Ayrıca Türkiye’de yapılan çeşitli çalışmalarda kan kültürlerinden izole edilen *E.coli* ve *K.pneumoniae* suşlarındaki GSBL sıklığı sırasıyla % 22.5-36.8 ve % 24.4 - % 63.7 arasında rapor edilmiştir (8, 9).

GSBL üreten bakteriler, bu enzimleri türler arasında aktararak hastanelerde salgınlar oluşturabilmektedir. GSBL’ler karbapenemler dışındaki  $\beta$ -laktam antibiyotikleri hidrolizle etkisizleştirebildiğinden özellikle *Klebsiella* türleri ve *E.coli* başta olmak üzere Gram negatif bakterilerle olan infeksiyonlarda ciddi tedavi sorunları ile karşı karşıya kalınmaktadır (4). Ayrıca GSBL üretiminden sorumlu genlerle diğer direnç genlerinin aynı plazmidlerle taşınmasına bağlı olarak GSBL üreten suşlar çoklu antibiyotik direncine sahip olmaktadır (9, 5). Bu enzimlerin varlığı özellikle bakteriyemilerde saptanan yüksek morbidite ve mortalite oranları ile de ilişkilidir (10). GSBL üreten bakteri infeksiyonlarında; tedavide birçok antibiyotiğin etkisiz kalabilmesi, hastanede yatış süresinin uzaması, artan morbidite ve mortalite oranları ve ciddi ekonomik kayıplar nedeniyle etkenin GSBL oluşturup oluşturmadığı bilinmelidir (5, 9, 10).

Bu çalışmada; kan kültüründe üreyen *E.coli* ve *K.pneumoniae* ’da GSBL sıklığı, GSBL oranlarının servislere göre dağılımı, yaş ve cinsiyetle ilişkisi ve suşlardaki antibiyotik direncinin araştırılması amaçlanmıştır.

## 2. GENEL BİLGİLER

Günümüzde toplumsal ve nozokomiyal infeksiyonlarda antibiyotiklere karşı direnç oranları hızla artmakta, tedavi seçimi ve etkinliğinde sorunlar ortaya çıkmaktadır. Gram-negatif enterik bakteriler beta-laktam antibiyotiklere karşı çok sayıda direnç mekanizması geliştirmiş olup, bunlardan en önemlisi beta-laktam antibiyotikleri hidroliz ile etkisiz hale getiren beta-laktamaz üretimidir. İlk olarak *K.pneumoniae* türlerine karşı, geniş spektrumlu beta-laktamların kullanılmaya başlanmasından hemen sonra tanımlanan bu enzimler, daha sonra *Enterobacteriaceae* familyasının diğer üyelerinde de gösterilmiştir (3).

Malignite, immünsüpresif hastalıklar gibi altta yatan hastalıklar, ileri yaş, kadın cinsiyet, uzun süreli hastanede yatış, yoğun bakım ünitesinde yatış, önceden aminopenisilin, sefalosporin, florokinolon kullanmış olma, prematurite, santral venöz, arteriyel ve üriner kateter bulunması, mekanik ventilasyon bu bakterilere bağlı infeksiyonların gelişmesi için başlıca risk faktörleridir (3, 11).

GSBL üretimi en sık *E.coli* ve *K.pneumoniae* suşlarında saptanmaktadır ve çoklu antibiyotik direnci de gösterdiklerinden bu mikroorganizmalar ile gelişen infeksiyonlarda tedavi önemli bir sorun haline gelmiştir.

### 2.1. *ESCHERICHIA COLI*

#### 2.1.1. Mikrobiyolojik Özellikleri

*Enterobacteriaceae* ailesinin özelliklerini gösteren hareketsiz, sporsuz, çoğunlukla kapsüllü, 0.7- 1.5 x 2.0-5.0 µm boyutlarında, bazen ikişer ikişer bazen kısa zincir

oluşturan basil şeklinde bakterilerdir. *E.coli*'ler, Gram negatif, fakültatif anaerobtur. Katalaz pozitif ve oksidaz negatiftirler. Granül içermez ve homojen boyanırlar. Bağırsakta yaşamayan suşların çoğunda kapsül ya da mikrokapsül bulunur. Logaritmik üreme fazında genellikle tek tek veya ikili formda; eski kültürlerde ve idrarda ise daha uzun çomaklar şeklinde görülebilirler. Çoğu suşunun peritriş kirpikleri olup aktif hareketli bakterilerdir. *Shigella*'ya benzeyen hareketsiz (kirpiksiz) suşları da vardır. Fimbrialar bakterinin hücrelere ve yüzeylere tutunmasını sağlayan yapılar olup antijenik özellikleri ve morfolojilerinin farklı olması ile birbirinden ayrılırlar. *E.coli*'nin kapsülleri mikroskopta boyanmamış bir bölge olarak görülürler. Optimal üreme ısıları 37°C'dir. Logaritmik üreme fazında *E.coli* bakterisi 20 dakikada ikiye bölünebilir. 20–44°C, pH 5–8 arasında yavaş da olsa üreme gözlenir. Laktozu 44°C'de fermente edebilmesi ve indol oluşturması diğer koliform (laktozu fermente eden) bakterilerden ayırt edilmesinde kullanılır (12).

*E.coli* en iyi Mac Conkey ve Eozin Metilen Mavisi (EMB agar) gibi seçici besiyerlerinde ürer. Agarda genellikle 2-3 mm çapında, metalik refle veren yeşil siyah düzgün kenarlı, konveks S tipi koloniler yaparlar. Tekrarlanan pasajlarda ise kaba-mat ve granüler R tipi koloniler oluştururlar Laktoza olan etkileri ve gaz oluşturması diğer barsak bakterilerinden özellikle *Salmonella* ve *Shigella*'lardan ayırımında önemli bir özelliktir. Bu nedenle pratikte laktoz negatif bakterilerden ayırt edilmesinde içinde laktoz ve bir ayıraç bulunan çeşitli besiyerleri kullanılır. İçinde laktoz ve eozin metilen mavisi bulunan EMB agarda ve içinde laktoz, sodyum sülfid, diyament füksin içeren McConkey ve *Salmonella-Shigella* (SS) agarda kırmızı koloniler oluştururlar (12).

*E.coli*'lerin IMVIC olarak bilinen biyokimyasal özellikleri (Tryptofandan indol oluşturma, metil kırmızısı testi, Voges Proskauer testi, sitratı kullanma) (+ + – –) olarak gösterilir. Bazı kökenleri dışında hidrojen sülfür oluşturmazlar, ancak sisteinli besiyerinde az miktarda H<sub>2</sub>S yaptıkları saptanmıştır (12, 13). *E.coli* dış etkilere oldukça dayanıklı bir bakteridir. 55°C'de bir saat, 60°C' de 20-30 dakika, oda ısısında uzun süre canlı kalırlar. Soğuğa dirençli, dezenfektanlara karşı ise dirençsizdirler. *E.coli*'nin O (somatik), H (kirpik), K (kapsül) antijenleri bulunmaktadır. Basil, O antijenlerine göre gruplara, H ve K antijenleriyle de serovarlara ayrılır. Hastane ortamında güç yaşayan bir bakteri olduğundan bu

bakteriye bağı hastane infeksiyonlarının çoğu endojendir ve barsak florasından kaynaklanmaktadır.

Sistit ve pyelonefrit gibi idrar yolu infeksiyonlarının en sık rastlanılan etkenidir. *E. coli*'nin meydana getirdiği idrar yolları infeksiyonlarında infeksiyon kaynağı bizzat hastanın kendi kolon florasıdır. *E.coli*, yüzeyinde bulunan pili aracılığı ile sindirim kanalındaki jejunum ve ileum hücrelerine yapışır. Ürettikleri enterotoksin jejunum ve ileum hücrelerini etkileyerek kansız ishale neden olur. Enterotoksinler sindirim kanalını etkileyen ekzotoksinlerdir. Yangıya neden olmazlar. *E.coli*'nin bazı suşları enteropatojeniktir ve enterotoksin üretmek yerine dışkıda iltihabi hücrelerin eşlik ettiği, kolon epitelinin istilasıyla seyreden kanlı ishale neden olurlar. Bazı suşlar da, insan dışkısı ile bulaşmış su ve besin alımı ile ilişkili turist ishaline neden olur. Prematüre bebeklerde ve yenidoğan döneminde sepsis ve menenjit etkenidir. Bu durumda *E.coli*'nin kaynağı annenin doğum kanalındaki bakterilerdir. *E.coli* bakteriyemisi çoğu kez hastane infeksiyonu olarak ve immün sistemi baskılanmış ve damar içi kateteri bulunan kişilerde karşımıza çıkar. Yardımcı solunum cihazları varlığında, diyabetik hastalarda, yaşlılarda, alkoliklerde solunum yolu infeksiyonlarına yol açar.

### 2.1.2. Antibiyotik Direnç Sorunu

İlk kez 1940 yılında *E.coli*'de beta-laktam direncine yol açan ve penisilinaz adı verilen enzimler elde edilmiştir. 1960'ların sonlarında ampicilin ve diğer aminopenisilinlere karşı *E.coli*'nin direnç geliştirmesi hastane infeksiyonlarında büyük bir problem olmaya başlamıştır. İlk kez ampiciline dirençli *E.coli* suşları 1965 yılında izole edilmiş ve direnci sağlayan beta laktamaza TEM-1 adı verilmiştir (14). Gram-negatif bakteri infeksiyonları için oldukça fazla kullanılan yeni sefalosporinlere ya da diğer deyimle genişlemiş spektrumlu sefalosporinlere (oksiiminosefalosporinler, üçüncü kuşak sefalosporinler) karşı GSBL'lerin üretimi 1980'li yıllarda artmaya başlamıştır. Ülkemizde ampicilin, trimetoprim-sülfametoksazole dirençli suşlar yüksek orandadır. Hastane kaynaklı suşlarda aminoglikozidlere direnç de önemli orandadır Son yıllarda çoğul dirençli suşlar hastane infeksiyonlarından izole edilmeye başlanmıştır (3).

## 2.2. KLEBSIELLA PNEUMONIAE

### 2.2.1. Mikrobiyolojik Özellikleri

*Enterobacteriaceae* ailesinin özelliklerini gösteren hareketsiz, sporsuz, çoğunlukla kapsüllü, 0.7- 1.5 x 2.0- 5.0 µm boyutlarında, bazen ikişer ikişer bazen kısa zincir oluşturan basil şeklinde bakterilerdir. Gram negatif olup bakteriyolojik boyalarla iyi boyanırlar. Kapsül, organizmadan yeni ayrılan ve hastalık materyali içindeki bakterilerde açık seçik ve geniş olarak görülür. Kanlı, serumlu besiyerlerinde kapsüllerini saklı tutarlar. En iyi glikozlu besiyerlerinde kapsüllenirler (13). *Klebsiellalar* tüm barsak bakterileri gibi genel kullanım besiyerlerinde kolayca ürerler. Ortalama pH 7 ve optimal 37°C üremeleri için en iyi ortamdır. Buyyon gibi sıvı besiyerlerinde homojen bir bulanıklık ve dipte müköz bir çöküntü yaparak ürerler. Katı besiyerlerindeki kolonileri tipik mukoid nitelikte, büyük, sarımtırak gri renkte ve akıcı kolonilerdir. Uygunsuz koşullarda S ve R kolonilerine dönüşebilirler. Aerop ve fakültatif anaerop olup ürettiği ortama bol kapsül maddesi salarlar. Başta glikoz olmak üzere mannitol, salisin, adonitol, inozitol ve sorbitolden, çoğu kez de laktoz ve sukrozdan gaz yapmak suretiyle birçok şekeri parçalarlar. Nişastadan gaz oluşturmaları önemli bir özelliktir. Hidrojen sülfür (H<sub>2</sub>S) yapmazlar. *Klebsiellalar* fenilalanini deamine etmezler. Az bir kısmı dışında jelatinaz, ornitin dekarboksilaz oluşturmazlar (13). *Klebsiellalar* ısıya dayanıksızdırlar ve nemli ısıda 55°C’de yarım saatte ölürler. Ancak kuruluğa karşı oldukça dirençli olup özellikle organik maddeler içinde kurutulursa aylarca canlı kalabilirler. Oda ısısında tutulan kültürlerde haftalarca, +4°C’de soğukta aylarca canlı kalırlar. Antibiyotiklere karşı oldukça dirençlidirler ve bu dirençleri *E.coli*’ninkinden fazladır. Hastane ortamından izole edilen suşlarda dirençlilik düzeyi çok yüksektir. *Klebsiellalar*’da lipopolisakkarit yapısında K antijenleri bulunmakta olup bu bakterilerin serolojik tiplendirilmeleri K antijenlerine göre yapılmıştır. Bugün K antijenine bağlı tiplendirme daha kolay olması ve bulundukları taktirde O antijenlerinin tepkimelerini engellemeleri yüzünden ön planda uygulanmaktadır. Bu antijenlere karşı elde edilmiş antiserumlarla lam ve tüp aglütinasyonları, kültürden alınan ile presipitasyon ve Neufeld’in kapsül şişme reaksiyonları ile *Klebsiellalar* tiplendirilebilirler. Kapsül şişme reaksiyonunda aslında özgül serumlarla karşılaştırılan bakterilerin kapsül polisakkaritlerinde oluşan presipitasyon sonucunda kapsül etrafında opak bir hale

oluşmakta olup kapsül şişmiş gibi görülmektedir. Bu deneylerle *Klebsiellalar*'ın 82 K tipi antijeni gösterilmiştir (12).

Üst solunum yolu ve barsak florasında bulunabilen *Klebsiellalar*, uygun koşulların oluşması veya yerlerini değiştirerek diğer organ ve sistemlere geçtiklerinde, birçok hastalığa neden olabilirler. Lober pnömoni; diabetiklerde ve alkoliklerde, kronik obstruktif akciğer hastalığı olanlarda genellikle üst solunum yollarında kolonize olmuş bakterilerin aspirasyonu sonucu oluşur. Akciğerde apse ve kavite oluşumu, ampiyem, plevra yapışıklıkları sıktır. *Klebsiella* pnömonisi Gram negatif bakteri pnömonileri içinde daha seyrek görülür ancak ölüm oranı diğerlerine göre çok daha fazladır. Bazen bronkopnömoni ve bronşit olarak seyreden akciğer enfeksiyonlarına da rastlanır. Nozokomiyal idrar yolu, cerrahi yara enfeksiyonları ve bakteriyemiye neden olabilirler. Bakteriyemiye genellikle damar içi kateter uygulaması, bağırsaktan translokasyon veya akciğer enfeksiyonu neden olur. *K.pneumoniae* ile menenjit, kolesistit, çeşitli organlarda abse oluşumu gibi enfeksiyonlar da meydana gelir.

### 2.2.2. Antibiyotik Direnç Sorunu

*K.pneumoniae* antibiyotiklere çok dirençli bir bakteridir. Son zamanlarda özellikle hastane ortamlarında antibiyotiklere karşı direnç kazanmış suşların hastane enfeksiyonlarına neden olmaları bu bakterilerin önemini artırmıştır. *Klebsiella*'larda aminoglikozidleri modifiye eden enzimler ve bunun sonucu gentamisin, tobramisin, hatta amikasin gibi aminoglikozidlere de yüksek oranda direnç, Gram-negatif bakteri enfeksiyonlarında genişlemiş spektrumlu sefalosporinlerin (oksiiminosefalosporinler, üçüncü kuşak sefalosporinler) oldukça fazla kullanılması GSBL'nin üretilmesine neden olmuştur. İlk GSBL bir *K.pneumoniae* suşunda tanımlanmış ve SHV-2 adı verilmiştir (3).

## 2.3. BETA-LAKTAM ANTİBİYOTİKLER

Beta-laktam grubu antibiyotikler etkilerini peptidoglikan sentezinde görevli olan transpeptidaz ve karboksipeptidazları inhibe edip, hücre duvar sentezini durdurarak gösterir (15). Beta-laktam antibiyotikler yaygın olarak kullanılan bakterisid etkili ve toksisiteleri düşük olan ilaçlardır. Bu gruptaki antibiyotiklerin ortak özellikleri yapılarında beta-laktam adı verilen 4 atomlu halka taşımalarıdır (16).

Her grup beta laktam antibiyotiğin özelliği bu halkaya bağlanan başka halkalar ve yan zincirlerle belirlenir. Monobaktamlarda beta-laktam halkasına bağlanan başka halka bulunmamaktadır. Beta-laktam antibiyotikler 5 grupta toplanabilir (17).

a) Penisilinler b) Sefalosporinler c) Monobaktamlar d) Karbapenemler e) Beta-laktamaz inhibitörlü (klavulanat, sulbaktam, tazobaktam) beta-laktamlar

### 2.3.1. Penisilinler

Penisilinlerin temel yapısı, bir tiazolidin halkası, bir betalaktam halkası ve bir yan zincirden oluşmaktadır. Beta-laktam ve tiazolidin halkasının oluşturduğu yapı 6-aminopenisilanik asit (APA) adını alır ve esasen tüm penisilinler 6-APA türevidir. Antibakteriyel etkiyi beta-laktam halkası sağlar. Hücre duvarındaki peptid zincirleri arasında çapraz bağlar oluşturan transpeptidazlar, karboksipeptidazlar, endopeptidazlar olan penisilin bağlayan proteinlere (PBP) bağlanarak bakteri hücre duvar yapımının transpeptidasyon basamağını inhibe edip peptidoglikan çatının yapımını önlerler. Penisilin grubu antibiyotikler, antimikrobiyal aktivitelerine göre 5 grupta sınıflandırılabilir (17).

- a) **Doğal penisilinler:** Prokain penisilin G, penisilin G, benzatin penisilin G, kristalize penisilin G, penisilin V (Fenoksi metil penisilin).
- b) **Aminopenisilinler:** Ampisilin, amoksisilin, bakampisilin, siklasilin, episilin, pivampisilin.
- c) **Penisilinaza dayanıklı penisilinler:** Metisilin, nafsilin, izaksazolil penisilin, kloksasilin, dikloksasilin, flukloksasilin, oksasilin.
- d) **Üreidopenisilinler:** Karbenisilin, indanil karbenisilin (korindasilin), tikarsilin.
- e) **Geniş spektrumlu pseudomonaslara etkili penisilinler:** Azlosilin, mezlosilin, Piperasilin.

### 2.3.2. Sefalosporinler

Penisilinlerden beş üyeli tiazolidon halkası yerine, altı üyeli dihidrotiazin halkası (sefem çekirdeği)'nin olmasıyla ayrılır. Bu halka sefalosporinlerin beta-laktamazlara karşı daha stabil olmasını sağlar. PBP'lere bağlanarak hücre duvar sentezini önler ve bakterisidal aktivite gösterir. Sefalosporinlere direnç beta-laktamaz yapımı, bakteri

hücre duvar geçirgenliğinin azalması PBP'lerde modifikasyon olmak üzere başlıca 3 mekanizmayla gelişir. Sefalosporin direncine en sık yol açan mekanizma beta-laktamaz yapımıdır. Sefalosporinlerin beta-laktamazlara karşı stabilitesi farklılık gösterir. Sefalosporinler Gram negatif bakteri hücre duvarından protein yapısında porin adı verilen su dolu kanalları kullanarak geçer. Porinlerin sayısında veya çapında olan değişiklikler bakteriyel direnç ile sonuçlanır.

### **2.3.3. Monobaktamlar**

Monosiklik beta-laktam halkasından oluşur. Monobaktamlar içerisinde tek klinik kullanımı olan antibiyotik *Chromobacterium violaceum*'dan üretilen aztreonamdır. Aztreonam, sentetik ve yalnızca parenteral kullanılan, yalnızca Gram-negatif bakteriler üzerine etkisi olan bakterisid etkili monobaktam bir antibiyotiktir. Gram-negatif bakterilerin hücre zarından geçer ve PBP'lere bağlanarak etkisini gösterir. Plazmid ve kromozomal beta laktamazların çoğuna ve sınıf B enzimlerinin hidrolizine karşı dirençlidir. Üçüncü kuşak sefalosporinleri inaktive eden sınıf C beta laktamazlar tarafından inaktive edilir.

### **2.3.4. Karbapenemler**

En geniş spektruma sahip beta-laktam grubu antibiyotikler olup, tıbbi kullanıma girmeleri 1970'li yılların ortalarında tienamisinin bulunmasıyla başlamıştır. Karbapenemler diğer beta-laktamlar gibi hücre duvar sentezini inhibe eden antibiyotiklerdir. PBP'ler ile kovalan bağlanarak yaparlar. Karbapenemler başta PBP 2 olmak üzere, PBP 1A, PBP 1B, PBP 3, PBP 4 PBP 5'e de daha az olmak üzere bağlanır. Geniş etki spektrumları ile birlikte AmpC ve genişlemiş spektrumlu beta-laktamaz enzimlerine karşı dirençli olmaları ve indüklenmiş bakteri topluluklarında AmpC mutantlarının seçimine meydan vermemeleri önemli avantajlarıdır.

### **2.3.5. Beta-laktamaz inhibitörlü beta-laktamlar**

Beta-laktamaz inhibitörleri ile kombine edilmiş beta-laktam antibiyotiklerdir. Bunlar pratik olarak klavulanik asit ile kombine edilmiş amoksisilin ve tikarsilin, sulbaktam ile kombine edilmiş ampisilin ve sefoperazon, tazobaktam ile kombine edilmiş piperasilindir (ampisilin/sulbaktam, amoksisilin/klavulonat, tikarsilin/klavulonat, piperasilin/tazobaktam). Sık rastlanan toplum kökenli infeksiyonlarda beta laktamazlardan dolayı artan direncin aşılmasında tercih edilen bileşiklerdir.

## **2.4. BETA-LAKTAM ANTİBİYOTİKLERE DİRENÇ MEKANİZMALARI**

Beta-laktam grubu antibiyotikler, etkilerini hücre duvar sentezinin transpeptidasyon basamağında görev alan transpeptidaz ve karboksipeptidazları [penisilin bağlayan proteinler (PBP)] inhibe edip hücre duvar sentezini durdurarak gösterir (15, 18). Bir beta-laktam antibiyotiğin etki gösterebilmesi için, eğer varsa dış zardan ve periplazmik aralıktan geçmesi, hücre zarındaki PBP'lere etkin konsantrasyonda ulaşması ve bu enzimlere bağlanması gereklidir (15). Beta-laktamlara direnç gelişimine neden genel mekanizmalar, ilacın beta-laktamazlarca parçalanması, hedef PBP değişimleri ile ilacın hedefine etkin konsantrasyonda ulaşmasını engelleyen porin değişikliklerine bağlı geçirgenlik azalması ve/veya aktif pompa (efluks) sistemleridir. Bunlardan ilki ve sonuncusu Gram-negatif bakterilerde daha sık görülmektedir (15). Dirençli bakteriler bu basamakların her birinde beta-laktam ilaçlar için bir engel oluşturabilirler. Örneğin, Gram-negatif bakteriler porin kanallarını kapatarak geçişi zorlaştırabilir ve/veya periplazmik aralıktaki beta-laktamazlar beta-laktam antibiyotiği parçalayabilir, bazı bakteriler beta-laktamların iyi bağlanamadığı yeni veya değişmiş PBP'ler eksprese edebilir (15).

Bu mekanizmaları aşağıdaki gibi özetleyebiliriz:

### **2.4.1. İlacın Hedefine Etkin Konsantrasyonda Ulaşmasının Engellenmesi**

Bu durum, ilacın hücre içine alınmasındaki azalmadan veya hedefine ulaşmadan dışarı atılmasını sağlayan aktif pompa sistemlerinden kaynaklanabilir (15, 19).

#### **a. Dış membran porin değişimleri**

Küçük hidrofilik moleküller Gram negatif bakterilerin dış zarından ancak içi su dolu kanalcıklar olan porinler aracılığı ile geçebilir (17). Bu nedenle, porin proteinlerinin yapısında veya iyonik yükte meydana gelebilecek değişiklikler veya özel porinlerin kaybı, hidrofilik moleküllerin girişini engellemektedir. Antibiyotiklerin porinlerden geçişi; şekli, büyüklüğü, yükü ve hidrofilik özelliklerine bağlı olarak belirlenir. Dış membranın özel bir beta-laktama karşı geçirgenliğinin az olması o mikroorganizmanın doğal bir özelliğidir ancak geçirgenliğin antimikrobiyal tedavi sırasında azalması sonradan porin proteinlerinde bir değişim meydana geldiğini gösterir. Beta-laktam antibiyotiklerin çoğu hidrofilik yan zincirler içerdikleri için porin proteinlerdeki değişimlerden etkilenmektedir (15, 20). Dirençli suşlarda

genellikle porin kaybının yanısıra aktif pompa sistemleri veya beta-laktamazın aşırı üretimi gibi 2. bir mekanizmanın daha yer alır. Hem aktif pompa sistemleri hem de beta-laktamazlar dış membrandan az ve yavaş geçen substratları üzerinde daha kolay etki göstererek direnç düzeylerini arttıırırlar. Örneğin, sefoksitine dirençli *E.coli* suşlarının çoğunda, bu direncin OmpF kaybı ile AmpC tipi enzimlerin aşırı üretiminin sinerjik etkilerinden kaynaklandığı belirlenmiştir (21, 22). *K.pneumoniae* suşlarında da, moleküler sınıf A beta-laktamazların varlığı, bir dış membran porini olan OmpK35'in kaybı ile birlikte gitmektedir.

#### **b. Aktif pompa (efluks) sistemleri:**

Antibiyotiğin hücre dışına atılmasını sağlayan aktif pompa sistemleri beta-laktamların da aralarında bulunduğu birçok antibiyotik sınıfına karşı doğal veya kazanılmış dirençte önemli olduğu anlaşılmıştır. Hatta Gram-negatif bakterilerin çeşitli antibiyotiklere doğal direncindeki temel rolü eskiden sanıldığı gibi dış membranın değil, aktif pompa sistemlerinin oynadığı belirlenmiştir (15, 23). Bakterilerdeki pompa sistemleri, substratları olan ilaçlardan herhangi birinin kullanımı ile indüklenebilir ve tüm substratlara karşı direnç gelişimine neden olur. Örneğin, *P.aeruginosa* suşlarında, bir beta-laktam ile tedavi sırasında, MexAB-OprM ve/veya diğer 3 elemanlı pompa sistemlerini kontrol eden regülatör genlerdeki mutasyon ve pompa sistemlerinin aktivasyonu sonucunda, bu suşlar sadece beta-laktamlara değil aynı zamanda kinolonlar, kloramfenikol, tetrasiklinler, trimetoprim de dirençli hale gelmektedir (23).

#### **2.4.2. Penisilin Bağlayan Protein Değişimleri**

PBP'ler yapısal olarak beta-laktamazlara çok benzeyen D, D-transpeptidazlar ve D,D-karboksipeptidazlardır. Hedef PBP'lerin yapısındaki değişim sonucunda antibiyotiğin bağlanamaması beta-laktam antibiyotiklere dirençte önemli bir mekanizmadır (15). Aktif bölgelerinde bir serin aminoasiti bulunduğu için serin proteazlar arasında yer alırlar. PBP'ler moleküler ağırlıklarına göre 1-4 arası sayılar ile adlandırılırlar. Aynı molekül ağırlığında birden fazla PBP varsa o zaman sayıların yanına harfler eklenir (PBP 1a gibi). Değişik PBP'lerin farklı beta-laktamlara bağlanma afiniteleri ve etkilendikleri ilaç düzeyleri birbirinden farklıdır. Bu durum antibiyotiklerin etkinliklerinin birbirinden farklı olmasının nedenlerindendir. Enzimin aktif bölgesi periplazmik kısımda yer almaktadır. Beta-laktam ajanlar PBP'lerin

substrat analoglarıdır. N-asetil muramik asit-pentapeptid ünitesinin son kısmında yer alan Dalanil-Dalanin dipeptidine benzerler. Bu nedenle, PBP'ler aynen beta-laktamazlar gibi beta-laktamlara bağlanır ve çok yavaş bir şekilde hidrolize ederler ve olay geri dönüşümsüz bir açıl-enzim kompleksi oluşması, ilacın açıl türevinden ayrılamayan enzimin duvar sentezindeki görevini yapamaması, hücre duvar sentezinin durması ve yapım-yıkım dengesinin yıkım yönünde bozulması ile sonlanır. Beta-laktam antibiyotikleri eş zamanlı olarak birden fazla PBP'yi inaktive ederek etki gösterirler. Özellikle yüksek molekül ağırlıklı PBP'lerin inhibisyonu bakteri için ölümcüldür.

## **2.5. BETA-LAKTAMAZLAR:**

Beta-laktamazlar, beta-laktam halkasındaki siklik amid bağı, parçalayarak bu antibiyotikleri etkisiz hale getiren enzimlerdir. Beta-laktamaz yapımı başta *Enterobacteriaceae* üyeleri olmak üzere Gram-negatif bakterilerin beta-laktam direncindeki en önemli mekanizmadır. Bu enzimlerin genetik temeli kromozomlar, plazmidler veya transpozonlardır. Bu enzimler Gram-negatiflerde periplazmik aralıkta bulundukları için beta-laktamazlara bağlı dirençte sıklıkla ilaç geçirgenliği ile ilgili mekanizmalar rol almaktadır. Bugün bilinen 600 civarında klinik olarak farklı önemi olan, beta-laktamaz enzimi bulunmaktadır. Beta-laktamaz enzimlerinin bazı özelliklerine göre çeşitli sınıflandırmalar yapılmıştır. Bush beta laktamazları biyokimyasal (substrat profili) özelliklerine, Ambler, aminoasit ve nükleotit dizilerine (Moleküler Sınıflama), Sykes ve Richmond, izoelektrik noktalarına göre sınıflandırmışlardır. Günümüzde A, B, C ve D olmak üzere 4 çeşit beta-laktamaz enzimi bulunmaktadır (15, 24- 26).

### **2.5.1. Beta-Laktamazların İsimlendirilmesi**

Beta-laktamazların isimlendirilmesinde birden fazla yöntem ve/veya faktör kullanılmaktadır. Bazı enzimler, hedef substratlarına göre (CARB, FUR, IMP, OXA), bazıları biyokimyasal özelliklerine göre (SHV, NBC), bazıları içerdikleri genlere (Amp, CepA), bazıları izole edildikleri bakterilere (AER, PSE), suşlara (P99), hasta isimlerine (TEM, ROB), hastaneye (MIR, RHH), eyaletlere (OHIO), bazıları ise keşfeden kişilere göre (HMS) isimlendirilmiştir (14, 27). Ancak, bu isimlendirmelerden bazıları, günümüzde geçerliliklerini yitirmişlerdir. Örneğin;

SHV, sülfidril variabl'dan kısaltılmış bir isime sahipken, günümüzde SHV-1 enziminin aktif bölgesinin sülfidril değil, serin hidroksil olduğu açığa çıkmıştır. Benzer şekilde, ilk kez *Pseudomonas*'tan izole edilmiş olan PSE enziminin, artık enterobakterilerde de bulunduğu bilinmektedir. Günümüzde en yaygın olarak kullanılan sınıflandırma disiplinleri, Ambler ve Bush-Jacoby Mederios sınıflandırmalarıdır (28). Ambler,  $\beta$ -laktamazları nükleotid dizilerine göre moleküler olarak sınıflandırmıştır (Tablo 1).

**A Sınıfı:** Plazmid kontrolünde olan penisilinaz: Aktif bölgesinde serin aminoasiti taşırlar. Öncelikli olarak penisilinleri hidrolize ederler.

**B Sınıfı:** Aktivasyon için çinko veya bakır gibi divalan katyonlara gereksinim duyan metallo enzimlerdir. Klasik inhibitörlere dirençli olan bu enzimler, EDTA ve merkaptto bileşikler gibi metal şelatörleri ile inhibe olurlar. Karbapenemler başta olmak üzere hemen hemen tüm beta-laktam antibiyotiği hidrolize edebilme potansiyelleri vardır. Ülkemizde henüz çok az sayıda tanınmasına rağmen, izole edilen suşların hemen hemen tüm beta-laktam antibiyotiklere karşı dirençli olduğu bildirilmiştir (29).

**C Sınıfı:** Kromozom kontrolünde olup sefalosporinaz aktiviteleri olan beta laktamazlardır (24, 26).

**D Sınıfı:** Oksasilini hidrolize eden enzimlerdir.

A, C ve D grupları aktif bölgelerinde SERİN içerir. Buna karşılık olarak, B grubu ÇİNKO bulundurur.

Bush ve arkadaşları,  $\beta$ -laktamazları substrat profilleri ve  $\beta$ -laktamaz inhibitörlerine duyarlılık temeline göre 4 grupta toplamışlardır. Ancak bu grupların içerisinde bazı alt gruplar da yer almaktadır (Tablo 1) (28).

**Tablo1.** Beta-laktamaz sınıfları (27).

| Bush-Jacoby-Mederios sınıflaması                                     | Temel Gruplar | Ambler sınıflaması          | Temel özellikler/örnek enzimler                                                                                                                                                                                                                                                                               |
|----------------------------------------------------------------------|---------------|-----------------------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| <b>Grup 1</b><br>sefalosporinazlar                                   |               | C (sefalosporinazlar)       | Genellikle kromozomal (plazmid kökenli olanlar da vardır) karbapenemler hariç tüm beta-laktamlara dirençli; klavulanik asit ile inhibe olmaz. Gram-negatiflerin kromozomal beta-laktamazları ile plazmid kökenli CMY-2-CMY-13; LAT-1, MOX-1 ve MOX-2, FOX-1-FOX-6, ACT-1, MIR-1, DHA-1 ve DHA-2, ACC-1, CFE-1 |
| <b>Grup 2 penisilinazlar</b><br>(klavulanik asit ile inhibe olurlar) | 2a            | A (serin beta- laktamazlar) | Stafilokok penisilinazları                                                                                                                                                                                                                                                                                    |
|                                                                      | 2b            | A                           | Geniş spektrumlu enzimler (TEM-1, TEM-2, SHV-1)                                                                                                                                                                                                                                                               |
|                                                                      | 2be           | A                           | Genişletilmiş spektrumlu (TEM, SHV türevi enzimler, PER-1, PER-2, CTX-M 1-30, VEB-1, GES-1, IBC-1e)                                                                                                                                                                                                           |
|                                                                      | 2br           | A                           | İnhibitör dirençli TEM (IRT): TEM-30-TEM-41,44,45,51,54<br>İnhibitör dirençli GSBL: TEM-50,-68,-80                                                                                                                                                                                                            |
|                                                                      | 2c            | A                           | Karbenisilini hidrolize eden enzimler                                                                                                                                                                                                                                                                         |
|                                                                      | 2e            | A                           | Klavulanik asit ile inhibe olan sefalosporinazlar                                                                                                                                                                                                                                                             |
|                                                                      | 2f            | A                           | Klavulanik asit ile inhibe olan karbapenemazlar: NMC-A, SME-1-SME-3, IMI-1, KPC-1-KPC-3, GES-2, SHV-38                                                                                                                                                                                                        |
|                                                                      | 2d            | D                           | Oksasilin hidrolize eden enzimler: Dar spektrumlu OXA tipi enzimler<br>GSBL niteliğindeki oksasilinazlar: OXA-2 ve -10 türevleri, OXA-18, OXA-29-OXA-32, OXA-45<br>Karbapenem hidrolize edenler: OXA-23-OXA-27, -40, -48, -54                                                                                 |
| <b>Grup 3 metallo-beta-laktamazlar</b>                               | 3a            | B (metalloenzimler)         | Çinko-bağımlı karbapenemazlar                                                                                                                                                                                                                                                                                 |
|                                                                      | 3b            | B                           | Bc II, CCr A, L1                                                                                                                                                                                                                                                                                              |
|                                                                      | 3c            | B                           | Cph A/Imı S FEZ-1 Plazmid kökenliler: IMP-1-17, VIM-1-VIM-7, GIM-1, SPM-1                                                                                                                                                                                                                                     |
| <b>Grup 4</b>                                                        |               | Sınıflanmamış               | Dizileri bilinmeyen çeşitli enzimler; özellikle <i>B.cepacia</i> 'da bulunan penisilinazlar                                                                                                                                                                                                                   |

Tabloda görüldüğü gibi beta laktamazlar için yapılan sınıflandırmaya göre Gram negatif bakteriler arasında hızla yayılan, hasta sağlığı ve tedavi maliyetleri açısından ciddi olumsuzlukların gelişmesine neden olan GSBL'ler A grubu enzimlerdendir.

## 2.5.2. GSBL'lerin Tarihçesi

Beta-laktamazların tarihçesi, 1940 yılında Abraham ve Chain tarafından bir *E.coli* suşunda bu antibiyotiği parçalayabilen bir penisilinazın gösterilmesi ile başlamaktadır. 1944 yılında Kirby, *S.aureus* suşlarından benzer nitelikte bir enzim elde etmiştir. Penisilinin klinik tedaviye girmesini izleyen 20-25 yıl boyunca beta-laktamazların sayı ve çeşitleri oldukça kısıtlı kalmıştır. Bu dönemde Gram-negatif bakterilerin çoğunun TEM-1, *K.pneumoniae* suşlarının SHV-1 ürettiği görülmektedir. Ancak, 1978-1980 yıllarında, yeni beta-laktam antibiyotiklerin (sefamisinler, karbapenemler, sulfonlar, monobaktamlar) kullanılmaya başlamasıyla beta-laktamaz tiplerinin de hızla arttığı görülmektedir. Beta-laktam antibiyotiklerin yaygın kullanımı, beta-laktamazların evrimsel değişikliklere uğramasına, sayı ve etki spektrumlarının çok ciddi boyutta artmasına neden olmuştur. 1995-2000 yılları arasında grup 1, 2be, 2br, 2d ve 3'deki enzim sayıları neredeyse 2 katına çıkmıştır. Penisilin G'yi hidrolizleyen, beta-laktamaz (penisilinaz) üretimi ve plazmidle yayılmaktaydı. Gram negatiflere de etkili olan ampisilin gibi yarı sentetik penisilinler 1960'lı yıllarda, ardından da 1. kuşak sefalosporinler gündeme gelmiştir. Gram negatif bakterilerde 1963'lerin başlarından itibaren geniş spektrumlu beta-laktamazlar (TEM-1, TEM-2, SHV-1) yaygınlaşmaya başlamıştır. Bu plazmidik enzimler yoluyla temosilin dışında tüm penisilinler ve 1. kuşak sefalosporinler inaktive edilmiştir. Bununla birlikte, 1970 lerin sonunda ve 1980'li yılların başında önce sefamisinler ve 2. kuşak sefalosporinler bulunmuştur. Ardından, Gram negatiflere karşı daha etkili, 3. kuşak sefalosporinler kullanıma girmiştir. Geçen zamanla birlikte, gram negatif bakteriler beta-laktamazlarını modifiye etmiş, TEM-1, TEM-2, SHV-1 de bir veya birkaç aminoasidi değiştirerek bu enzimlerin etki spektrumlarını biraz daha genişletmiş ve genişlemiş etkili beta-laktamazları (GSBL) üretmeye başlamışlardır. En sonunda, ilk GSBL pozitif suş, *K.pneumoniae* olarak 1983'de Almanya'dan bildirilerek, literatürdeki yerini almıştır (15, 30).

İlk zamanlar GSBL pozitif bakteriler, Gram negatiflere etkili tüm penisilinleri, 3. kuşak başta olmak üzere sefalosporinleri ve monobaktamları inaktive etmişlerdir. Son 20 yıldır özellikle Gram-negatif bakterilerde sefalosporinlere dirençte öne çıkan mekanizma olan ve klinikte önemli bir sorun haline gelen GSBL'ler, *Klebsiella Spp.* ve *E.coli*'lerde daha sık bulunmakla birlikte *Salmonella spp.* ve *Shigella flexneri* de

dahil, birçok enterik bakteride bildirilmiştir. Özellikle *Klebsiella* türleri ve *E.coli* başta olmak üzere, GSBL üretimi ve patojen bakteriler arasında hızla yayılması son yıllarda ciddi sorunlar oluşturmaktadır (2). Bu enzimler bir iki aminoasit değişikliği ile dar spektrumlu beta laktamazlardan köken alırlar (31). Aktif bölgelerinde serin bulunan, sefuroksim, sefotaksim, seftriakson, seftizoksim, seftazidim, sefpirom ve sefepim gibi oksiiminosefalosporinleri hidroliz edebilen, klavulanik asit, sulbaktam veya tazobaktam gibi beta-laktamaz inhibitörleri ile inhibe olan beta laktamazlardır. Karbapenemler ve sefamisinler bunlara dayanıklıdır. GSBL üreten bakteriler her zaman aminopenisilinlere (ampisilin veya amoksisilin), karboksipenisilinlere (karbenisilin veya tikarsilin) ve üreidopenisilinlere (piperasilin, mezlosilin) dirençlidir. GSBL üreten mikroorganizmalar çoğu kez aminoglikozidler ve florokinolonlar gibi diğer gruptaki antibiyotiklere de dirençlidir.

Bugüne kadar 500-600 beta laktamaz enzimi tanımlanmıştır. Bunların 200-300 tanesi GSBL'lerdir (4). Tanımlanan ilk GSBL üreten suşun seftazidim ve sefotaksimi belirgin değerlerde hidrolize eden klasik SHV-1 beta-laktamazın bir mutant formu olduğu anlaşıldı. Bu sebeple bu enzime SHV-2 beta-laktamaz adı verildi. Daha sonra bunu TEM-2 beta-laktamazdan genetik olarak sadece iki aminoasit farklı olan Fransa'dan bir mutant enzim bildirisi takip etti (23). Bulunuşundan günümüze kadar GSBL'lerin sayısında ve çeşidinde hızlı bir artış dikkati çekmiştir. Bu enzimler enterik çomaklarda sınırlı kalmayarak *pseudomonas* ve *acinetobacter* gibi non-fermentatif etkenlere de yayılmışlardır. Ülkemizde 1992 yılından beri GSBL'ler araştırılmakta ve bildirilmektedir. TEM ve SHV tip beta-laktamazların mutant formu olan GSBL'ler, orijinal enzimlerin aksine geniş spektrumlu sefalosporinleri, aztreonamı ve diğer tüm penisilinleri hidrolize ederler. Ancak sefamisinler bu kuralın dışında kalır (4, 32, 33).

GSBL enzimleri hızla yayılmakta olup İngiltere, İspanya, Portekiz, İtalya Yunanistan, ABD, Kuzey Afrika, Güney Amerika, Japonya ve Çin başta olmak üzere hemen hemen tüm uzak doğu ülkelerinde tespit edilmiştir. SHV-2 ve SHV-5 Almanya'da, SHV-3, SHV-4 ve TEM-3 Fransa'da, ve SHV-5 ise Yunanistan'da daha yaygın enzimlerdir. Önceleri TEM ve SHV tüm dünyada yaygın iken, günümüzde CTX-M tipi daha yaygın hale gelmiştir (2, 4).

### 2.5.3. GSBL Tipleri

GSBL'lerin çoğunluğu TEM, SHV veya OXA enzimlerinden köken almışlardır. Günümüzde TEM türü beta laktamazların sayısı 130'u, SHV türü beta-laktamazlarınki 50'yi geçmiştir. Bu üç enzimin türevleri dışında son yıllarda bunlardan köken almayan (CTX-M, PER, VEB vs.) genişlemiş spektrumlu enzimlerde de büyük bir artış olmuştur (34- 36).

#### 2.5.3.1. TEM'den Köken Alan GSBL'ler

GSBL fenotipi gösteren ilk TEM türevi 1987 yılında bildirilen TEM- 3 'tür (30, 37). GSBL fenotipi TEM enziminde, belirli pozisyonlarda oluşan aminoasit değişiklikleri ile meydana gelmektedir. TEM grubu beta-laktamazlar *E.coli* ve *K.pneumoniae* başta olmak üzere *Enterobacter aerogenes*, *Morganella morganii*, *Proteus mirabilis*, *Proteus rettgeri* ve *Salmonella spp.* gibi *Enterobacteriaceae* üyelerinde sık bulunmaktadır (30). Plazmid kökenli bilinen en eski enzim olan TEM-1, Gram-negatif bakterilerde en sık bulunan enzimdir ve ampisiline dirençli *E. coli*'lerin % 90'ında dirençten sorumludur. TEM-1 ve TEM-2 enzimleri sıklıkla transpozonlar tarafından kodlanan dar spektrumlu enzimler olup, ampisilin, penisilin ve birinci kuşak sefalosporinlere karşı dirence neden olur. Ancak oksiiimino-sefalosporinlere karşı aktiviteleri yoktur. Bazı amoksisilin-klavulanik asite dirençli *E.coli*'lerin nükleotid dizilerinin incelenmesi ile TEM beta-laktamazlarındaki mutasyonlar sonucu, 1997 yılından itibaren beta laktamaz inhibitörlerine dirençli yeni varyantların oluştuğu belirlenmiştir. Bu enzimler IRT (inhibitör rezistan TEM) olarak isimlendirilmiş ancak daha sonra köken aldıkları TEM ya da SHV'de sıralamaya girmiştir.

#### 2.5.3.2. SHV'den Köken Alan GSBL'ler

SHV grubu enzimlerin köken aldığı SHV-1 enzimi en sık *K.pneumoniae* 'da bulunmaktadır ve sıklıkla kromozomal bir enzimdir. SHV kökenli GSBL'lerin sayısı TEM kökenli olanlara kıyasla daha azdır, ayrıca aminoasit değişikliği olan pozisyonlar daha azdır. GSBL fenotipi gösteren SHV türlerinin çoğunda karakteristik değişiklik, 238. pozisyonda glisin yerine serin girmesidir (38). Bugüne kadar aminosit yer değiştirmelerinin benzersiz kombinasyonları baz alınarak 50'den fazla SHV tanımlanmıştır. SHV-1 aminositlerinin % 68'i TEM-1 ile ortakdır. Avrupa ve Amerika'da SHV tip GSBL'lerin hakim olduğu bildirilmektedir. SHV-5 ve SHV-12

bu grubun içinde en yaygın görülenleridir. Ampisilin, tikarsilin ve piperasiline direnç oluşturmaktadır, oksiiiminocefalosporinlere karşı aktivitesi yoktur (30, 39).

#### 2.5.3.3. OXA'dan Köken Alan GSBL'ler

Oxasilini hidrolize edebilmelerinden dolayı bu ismi alırlar. OXA grubu enzimler genellikle *P.aeruginosa*'da bulunan GSBL'lerdir. Bu enzimleri taşıyan *Pseudomonas*'ların en önemli özelliği seftazidime yüksek direnç göstermeleridir. Fakat OXA-17 taşıyan suşlar seftazidimden daha fazla sefotaksim ve sefepime karşı direnç gösterir. OXA-1'den OXA-10'a kadar olanları dar spektrumlu enzimlerdir ve substrat oksasilin ve kloksasilindir. OXA-31 ise sefepime direnç oluştururken seftazidime duyarlıdır (30, 38, 40). Aminoasit dizilerindeki nokta mutasyonları sonucu oksiiiminocefalosporinleri hidroliz edebilen geniş spektrumlu enzimler haline gelmişlerdir (33). Birçok OXA tipi GSBL'ler klavulanik asit tarafından inhibisyona oldukça dirençlidir.

#### 2.5.3.4. CTX-M

Son yıllarda GSBL'lerin arasına yeni katılan bir gruptur. Bu enzimler TEM ve ailelerine üye olmayan en yaygın gruptur. Sefotaksimi seftazidime kıyasla çok daha iyi hidrolize edebilmelerinden dolayı CTX-M olarak adlandırılmıştır. Bazıları ise, seftazidimi sefotaksimden daha hızlı hidroliz ederler. Günümüzde 40'tan fazla CTX-M enzimi bilinmektedir. Sefalosporinleri hidroliz etme özellikleri aminoasit değişiklikleri sonucu değil, büyük olasılıkla enzimin omega halkasındaki ve beta ucundaki yapısal değişiklikler sonucudur. Bu enzimlerin önemli diğer bir özelliği de bunlara karşı tazobaktamın inhibitör etkisinin klavulanik aside ve sulbaktama göre daha fazla olmasıdır. İlk CTX-M beta-laktamaz enzimi 1989 yılında Almanya'dan *E. coli*'de bildirilmiş, o tarihten bugüne kadar *Salmonella spp.* başta olmak üzere birçok *Enterobacteriaceae* türünde saptanmıştır (30, 38-41). Günümüzde CTX-M ailesinde 40'tan fazla enzim bulunmaktadır ve bunlar aminoasit dizilerindeki benzerliklere göre beş gruba ayrılmıştır. CTX-M-14, CTX-M-3 ve CTX-M-2 en yaygın olan enzimlerdir. Yayılmaları hem plazmidlere hem de hareketli genetik elementlere (ISEcp1 gibi) bağlıdır. CTX-M enzimlerini üreten mikroorganizmaların çoğunlukla hastane infeksiyonlarından izole edilmelerine karşın SHV ve TEM enzimlerinden farklı olarak *Vibrio cholerae*, tifo dışı *Salmonella* ve *Shigella spp.* gibi toplumdaki infeksiyon etkenlerinde de bildirilmektedir. Sefotaksim ve seftriaksonun toplumda

yaygın kullanımının CTX-M enzimlerinin ortaya çıkışında rol oynadığı düşünülmektedir (42).

#### **2.5.3.5. Diğer Sınıf A GSBL'ler**

Diğer Sınıf A GSBL'ler yaygın değildir. Esas olarak *P.aeruginosa*'da ve nadir coğrafik bölgelerden rapor edilmiştir. Bunlardan PER-1 enzimi ülkemizde ilk kez *S.typhimurium* daha sonra *P.aeruginosa* ve *A.baumanii* suşlarında gösterilmiştir. Plazmid kontrolünde bir enzim olan PER-1 enzimi içeren *P.aeruginosa*'nın en belirgin özellikleri, izolatların seftazidime çok dirençli olmalarına karşın piperasilin için daha düşük bir direnç göstermeleridir. Bu enzimler klavulanik asit ve tazobaktama duyarlıdır.

#### **2.5.3.6. İnhibitör Dirençli Geniş Spektrumlu Beta-Laktamazlar**

Beta-laktamaz inhibitörlerine 1997 yılından itibaren bazı amoksisilin-klavulanik asite dirençli *E.coli*'ler bildirilmeye başlanmıştır. Nükleotid dizilerinin incelenmesi sonucu TEM beta-laktamazlarındaki mutasyonlar sonucu GSBL'lerde olduğu gibi yeni beta-laktamaz inhibitörlerine dirençli varyantların (IRT BL) olduğu belirlenmiştir. TEM-50 ve TEM-68 gibi nadir örnekler dışında IRT'ler 3. kuşak sefalosporinleri hidroliz etmemektedir. Bu enzimler önceleri IRT (inhibitör rezistan TEM) olarak isimlendirilmiş, ancak daha sonra köken aldıkları TEM yada SHV' de sıralamaya girmiştir. IRT'ler en sık olarak *E.coli*'de bulunmakla birlikte *K.pneumoniae*, *Klebsiella oxytoca*, *P.mirabilis* ve *Citrobacter freundii*'de de bildirilmektedir. İnhibitörlere dirençli TEM türevleri klavulanik asit ve sulbaktama ve bunların klinik kullanımda olan kombinasyonlarına dirençli, tazobaktam ve piperasilin-tazobaktam kombinasyonuna duyarlıdır (30).

#### **2.5.4. Güncel Önem Taşıyan Beta-Laktamaz Grupları:**

##### **2.5.4.1. Bush Grup 1 Kromozomal Enzimler (AmpC beta-laktamazlar)**

1., 2., 3. kuşak sefalosporinleri, penisilinleri ve monobaktamları hidrolize edebilen bu enzimler Gram-negatif basillerin çoğu tarafından üretilmektedir (43). Sefepim, bu enzimlerin etkilerine göreceli olarak dayanıklıdır. Karbapenemler üzerine etkileri son derece az olmasına karşın, bu enzimlerin aşırı üretimi dış membran porin değişiklikleri gibi bir diğer mekanizma ile birleştiğinde karbapenem direncine yol açabilmektedir. Bu enzimler, aktif bölgelerinin yapısal özellikleri nedeniyle

klavulanik asit ve sulfonların beta-laktam halkalarına bağlanamadıkları için beta-laktamaz inhibitörlerine dirençlidirler. Grup 1 enzimlerin çoğu indüklenebilir niteliktedir. *E.coli*'de AmpR bulunmadığı için bu türde indüklenebilir kromozomal enzimler görülmez.

#### 2.5.4.2. Plazmid Kökenli AmpC Tipi Beta-Laktamazlar

Plazmid kökenli aktarılabılır AmpC tipi beta-laktamazlar, kromozomal AmpC beta-laktamaz genlerinin plazmidlere transfer olması ile gelişip; *E. coli*, *K.pneumoniae*, *Salmonella spp.* *C. freundii*, *Enterobacter aerogenes*, *Proteus mirabilis* suşlarında bulunabilmektedir. Plazmid kökenli AmpC tipi enzimler indüklenebilir olmamaları ile diğer enzimlerden ayrılırlar. Bu enzimler geniş spektrumlarının yanısıra aktarılabılır olanları ile sorun oluşturmaktadır. Özellikle AmpC tipi enzimin aşırı üretimi dış membran porin kaybı veya bir diğer beta- laktamazın sentezi gibi ek bir mekanizma ile birleştiğinde enzimlerin etki spektrumları çok genişlemektedir. Örneğin, plazmid kökenli ACT-1 beta-laktamazını üreten *K.pneumoniae* suşlarında 42 kDa'lık bir dış membran proteinin kaybı, imipenem direncine yol açmaktadır. Sonuç olarak, AmpC tipi enzimlerin enterik bakteriler arasında yayılıyor olması tedavi seçeneklerinin daralmasına neden olduğundan sorun oluşturmaktadır. Bu tip bakterilerin seleksiyonu açısından en düşük riski sefepimin taşıdığı öne sürülmektedir fakat bu ilaçlarla yapılan tedavi sırasında porin kaybı olduğu bildirilmektedir. Ayrıca bu sefamisin grubu antibiyotiklerin ülkemizde satışı yapılmamaktadır. *E.coli* ve *K.pneumoniae* suşlarında, 3.kuşak sefalosporinlerin yanısıra sefoksitine ve beta-laktamaz inhibitörlerine direnç bulunması, AmpC tipi bir enzimin varlığını düşündürmelidir (44, 46).

#### 2.5.5. GSBL'lerin Epidemiyolojisi

GSBL fenotipleri ülkeler, şehirler ve hatta hastaneler arasında dahi farklılık gösterebilmektedir (26). Özellikle hastane kökenli *K.pneumoniae* infeksiyonlarında GSBL ciddi bir sorun olarak karşımıza çıkmaktadır (47). Plazmidlerle direnç genleri birçok farklı türe hızla aktarılabileceği için plazmid kaynaklı beta-laktamazlar en büyük tehdidi oluşturmaktadır (48).

## **2.5.6. GSBL Sentezleyen Bakterilerin Klinikte Neden Olduğu Sorunlar**

### **a) Direnç**

Bu enzimleri taşıyan plazmidler aynı zamanda pek çok beta-laktam dışı antibiyotiğe karşı genetik materyal taşıdığından GSBL üreten bakterilerde başta aminoglikozidler olmak üzere kinolon, tetrasiklin, kloramfenikol ve trimetoprim-sulfametoksazol direnci de eş zamanlı bulunabilmektedir.

### **b) Hastaların Kolonizasyonu**

GSBL sentezleyen bakterilerle kolonizasyon riskini artıran faktörler, uzun süreli antibiyotik kullanımı, uzun süreli yoğun bakımda kalma, huzur evinde kalıyor olma, altta yatan ciddi ve ağır hastalık varlığı, hastanede geniş spektrumlu sefalosporinlerin yaygın kullanımı, invaziv işlemler, düşük doğum ağırlığı olarak sayılabilir.

### **c) Enfeksiyonların Tedavisinde Zorluk**

Bu bakterilerle gelişen enfeksiyonlarda çoklu direnç gelişimi sık görüldüğünden tedavi seçenekleri çok kısıtlanmaktadır.

### **d) Morbidite ve Mortalite**

Pek çok retrospektif çalışmada GSBL varlığının mortalite ve morbiditeyi olumsuz etkilediği gösterilmiştir.

### **e) Laboratuvarda GSBL Saptanmasında Karşılaşılan Zorluklar**

GSBL sentezleyen bir bakteri, sentezlediği enzimin farklı sefalosporinlere affinitesinin değişik olması ve inokulum etkisi gibi nedenlerle 3.kuşak sefalosporinlere duyarlı gibi görünebilir. Örneğin TEM-26 taşıyan *K.pneumoniae* suşu in vitro seftazidime dirençli, sefotaksime duyarlı gibi görünebilir. TEM-26 düşük yoğunluklarda bile seftazidime yüksek afinite gösterir, buna karşın sefotaksime hidrolitik aktivite enfeksiyon ortamında olduğu üzere bakteri yoğunluğunun arttığı durumda ortaya çıkar. Bu nedenle sefotaksimle tedavi başarısızlıkla sonuçlanır. Seftazidime yüksek afinite gösteren GSBL'lerin sık rastlandığı bir yerde laboratuvarın rutin duyarlılık testlerinde kullanılan 3.kuşak sefalosporin olarak sefotaksim ve seftriaksonu tercih etmesi GSBL saptanmasını güçleştirecektir.

### **2.5.7. GSBL'lerin Laboratuvar Tanısı**

Üçüncü kuşak sefalosporinlere karşı direncin seviyesi farklı GSBL enzimleri arasında çok fazla değişkenlik göstermektedir. GSBL'yi araştırmanın en iyi yolu, başlangıçta sefpodoksim, sefotaksim, seftriakson, seftazidim veya aztreonama azalmış hassasiyetin araştırılması ve sonunda indikatör bir sefalosporinle bir beta-laktamaz inhibitörünün (genellikle klavulanik asit) arasındaki sinerjinin gösterildiği fenotipik doğrulama testinin yapılmasıdır (26). Bir örnekte, GSBL varlığını tespit etmek için şu yöntemler kullanılabilir:

- Çift Disk Sinerji (ÇDS) Testi
- Kombine Disk Yöntemi
- Üç boyutlu test
- Klavulanik asit kombinasyonlu mikrodilüsyon testi
- Klavulanik asit kombinasyonlu disk difüzyon testi
- E-test yöntemi
- Otomatize sistemler (Vitek, MicroScan, BD Phoenix)
- Moleküler teknikler (PCR, DNA problemleri, Nükleotid sekanslama)

#### **2.5.7.1. Çift Disk Sinerji Testi**

Bu disk difüzyon yönteminde bakteri süspansiyonu 0,5 McFarland yoğunluğunda olacak şekilde hazırlanır ve Mueller Hinton agar plağına yayılır. Plağın merkezine amoksisilin-klavulanik asit diski (AMC 10/20µg) yerleştirilir. Merkeze uzaklığı 20–25 mm olacak şekilde aztreonam (AZT 30µg), seftazidim (CAZ 30µg), sefotaksim (CTX 30µg) diskleri konulur. Plak , 35°C'de 18–20 saat inkübe edilir. Antibiyotiklere ait inhibisyon zonlarının klavulanik aside doğru genişlemesi veya iki inhibisyon zonu arasında bakteri üreyen alanda üremenin olmadığı bölge görülmesi GSBL pozitif (+) olarak yorumlanır (15).



**Şekil 1. Çift disk sinerji yöntemi.**

**Tablo 2.** GSBL'ler için önerilen inhibisyon zonları (49).

|             | Eski M100-S19 (2009) Disk difüzyon zon çapları (mm) |              |           | Yeni M100-S20 (2010) ) Disk difüzyon zon çapları (mm) |              |           |
|-------------|-----------------------------------------------------|--------------|-----------|-------------------------------------------------------|--------------|-----------|
|             | Duyarlı                                             | Orta Duyarlı | Dirençli  | Duyarlı                                               | Orta Duyarlı | Dirençli  |
| Sefazolin   | $\geq 18$                                           | 15-17        | $\leq 14$ | -                                                     | -            | -         |
| Sefotaksim  | $\geq 23$                                           | 15-22        | $\leq 14$ | $\geq 26$                                             | 23-25        | $\leq 22$ |
| Seftizoksım | $\geq 20$                                           | 15-19        | $\leq 14$ | $\geq 25$                                             | 22-24        | $\leq 21$ |
| Seftriakson | $\geq 21$                                           | 14-20        | $\leq 13$ | $\geq 23$                                             | 20-22        | $\leq 19$ |
| Seftazidim  | $\geq 18$                                           | 15-17        | $\leq 14$ | $\geq 21$                                             | 18-20        | $\leq 17$ |
| Aztreonam   | $\geq 22$                                           | 16-21        | $\leq 15$ | $\geq 21$                                             | 18-20        | $\leq 17$ |

Amerika'nın Klinik Laboratuarlar Standartları Enstitüsü (CLSI) önerilerine göre; Ceftazidim zon çapı 22 mm ve altındaysa, Aztreonam ve Sefotaksim zon çapı 27 mm

ve altındaysa, CRO zon çapı 25 mm ve altındaysa, CPD zon çapı 17 mm ve altındaysa; kesinlikle GSBL için doğrulama testi yapılmalıdır.

#### **2.5.7.2. Kombine Disk Yöntemi**

Kombine disk yönteminde sefotaksim (30 µg) veya seftazidim (30 µg) disklerine 1 µg klavulanik asit eklenir. McFarland 0,5 standardı yoğunluğunda olacak şekilde hazırlanan bakteri süspansiyonunun yayıldığı Mueller-Hinton Agar (MHA) plaklarına klavulanik asit içeren ve içermeyen sefotaksim ve seftazidim diskleri yerleştirilir. Bir gece 35°C’de inkübasyondan sonra kombinasyon diskleri etrafındaki zon, klavulanik asit içermeyen disk etrafındaki zona kıyasla  $\geq 5$  mm daha genişse izolat GSBL üretimi açısından pozitif kabul edilir (15).

#### **2.5.7.3. Üç Boyutlu Test**

Merkezde disklerden 30 mm uzaklıkta olacak şekilde besiyeri kesilerek bu yarığa  $10^9$  -  $10^{10}$  bakteri süspansiyonu ekilir. Seftazidim, sefotaksim, seftriakson ve aztreonam diskleri yerleştirilir. Bu disklere ait inhibisyon zonlarının dairesel biçiminde bozulma, kesintiye uğrama veya bakterinin inokule edildiği kesi çizgisi yakınında birbirinden ayrı kolonilerin üremesi, antibiyotiğin yoğun inokulasyon bölgesinden geçerken inaktive edildiğini gösterir ve GSBL pozitif olarak değerlendirilir (15).

#### **2.5.7.4. Dilüsyon Yöntemleri**

Sıvı mikrodilüsyonda, sefotaksim ve seftazidim tek başlarına ve 4 µg/ml klavulanik asit ile birlikte test edilir. Klavulanik asit ile kombine edilen ilacın MİK değeri tek başına olanla kıyaslandığında  $\geq 3$  dilüsyon azalma GSBL varlığını gösterir (15).

#### **2.5.7.5. E Test Yöntemi**

Test stripleri bir ucunda seftazidim (TZ), diğer ucunda seftazidim ve klavulonik asit (TZL) içerecek şekilde hazırlanmıştır. Benzer şekilde sefotaksim ve sefotaksim-klavulonik asit (CT-CTL) içeren E-test stripleri de bulunmaktadır. TZ ve TZL MİK değerleri birbirine oranlandığında MİK değerinde  $\geq 8$  kat fazla azalma olması GSBL varlığını gösterir. Özellikle CT-CTL striplerinde klavulonik asitin diğer tarafa da difüze olması nedeniyle stripin ortasında bir “fantom zon” görülebilmektedir. Bu zon GSBL göstergesi olarak kabul edilmektedir (15).

#### **2.5.7.6. Otomatize Sistemler**

Otomatize sistemler, bazı spektrofotometrik ve/veya başka bir dizi ölçüm yöntemi kullanılarak mikroorganizmaların tiplendirilmesini ve bazı sistemlerde, ayrıca ilaç dirençlilik profillerini görüntülemek için kullanılan sistemlerdir. Genel olarak, tiplendirilmek istenen mikroorganizmanın kolonilerinden belirli bir bulanıklıktaki (genellikle 0,5 Mc Farland) bakteri süspansiyonu sistem ile birlikte sağlanan kartuşlar üzerindeki belirli bölgelere uygulanmaktadır. Belirli bir ısıdaki inkübasyonun ardından, cihaz üzerine yerleştirilen kartuşların okunması ve sonuçların alınması ile tiplendirilme yapılmaktadır.

#### **2.5.8. GSBL Sentezleyen Bakterilerin Neden Olduğu Enfeksiyonların Tedavisi**

Dördüncü kuşak sefalosporin olan sefepim özellikle SHV kökenli GSBL'lere karşı etkilidir. Fakat bu antibiyotik artan beta- laktamaz yoğunluğu karşısında inokulum etkisine maruz kalıp inaktive edilmektedir. Ayrıca sefepim kullanımındaki artış GSBL üreten bakterilerle salgına neden olabilmektedir Kullanılacaksa yüksek dozlarda ve mümkünse etkili olabilecek diğer antibiyotiklerle (kinolon ya da aminoglikozidler) birlikte kullanılması önerilmektedir. Beta-laktam/beta-laktamaz inhibitörleri kullanılabilir. Bazı mikroorganizmalar birden çok beta-laktamızı birlikte sentezleyerek veya aynı beta-laktamızı yüksek miktarlarda üreterek beta- laktamaz inhibitörlerine karşı direnç gelişmesine neden olabilir. Günümüzde GSBL üreten Gram-negatif bakterilerin tedavisinde en fazla tercih edilen antibiyotiklerin başında karbapenem türevleri gelmektedir. Karbapenem türevleri hem plazmid hem kromozom aracılığıyla sentezlenen beta- laktamazlara etkilidir (1, 2).

#### **2.5.9. GSBL Üreten Bakteri Enfeksiyonlarının Önlenmesi**

İzolasyon önlemleri, çevresel dekontaminasyon ve antibiyotik kullanım paternlerinde değişiklik gibi enfeksiyon kontrol önlemleri sayılabilir. Pek çok çalışmada hastane içinde geniş spektrumlu sefalosporin kullanımının kısıtlanmasının GSBL üreten bakteri enfeksiyonlarında azalmaya ve salgınların kontrol alınmasına katkıda bulunduğu gösterilmiştir. Hastane içinde geniş spektrumlu sefalosporin kullanımı kısıtlanarak yerine karbapenem veya piperasilin-tazobaktam kullanımının sağlanmasının özellikle GSBL üreten *K.pneumoniae* enfeksiyonlarının önlenmesi açısından etkili olduğu gösterilmiştir (1, 2).

### 3. GEREÇ VE YÖNTEM

Bu çalışma, Ocak 2009 ile Ocak 2010 tarihleri arasında, Erciyes Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanelerinde servis ve yoğun bakım ünitelerindeki yatan hastaların gönderilen kan kültürlerinde üreyen 95'i *E.coli* ve 50'si *K.pneumoniae* olarak tanımlanmış toplam 145 suş ile çalışıldı.

1. Hastalardan gelen kan kültürleri BacT/Alert3D (bioMerieux, Fransa) otomatize kan kültürü sisteminde inkübe edildi. Üreme olduğu saptanan şişelerden uygun besiyerlerine alt kültürler yapıldı. *K.pneumoniae* ve *E.coli* olarak tanımlanan suşlar -70 °C'de saklandı.
2. İzole edilen *K.pneumoniae* ve *E.coli* suşlarının disk diffüzyon yöntemiyle amoksisilin-klavulanat, imipenem, meropenem, ertapenem, piperasilin-tazobaktam, amikasin, siprofloksasin, gentamisin, sefotaksim, trimetoprim-sülfometoksazol duyarlılıkları araştırıldı.
3. GSBL varlığının tespiti için ÇDST, KDT yöntemleri kullanıldı.

### 3.1. KULLANILAN BESİYERLERİ VE DİĞER MALZEMELER

#### 3.1.1. Kanlı Agar (Oxoid, İngiltere)

İçeriği (g/ l)

Spesifik Pepton ..... 10.0

Liver digest .....2.5

Yeast extract .....5

Sodium chloride .....5

Agar .....10

pH 7,3±0,2

Kanlı agar, genel üretim besiyeri olarak kullanıldı.

- a. Kanlı agar besiyeri, ticari toz besiyerinden üreticinin tarif ettiği şekilde hazırlandı.
- b. 40 gram toz 1 litre distile su içerisinde 5-10 dakika çalkalanarak tamamen çözünmesi sağlandı.
- c. Otoklavda (Nüve, SteamArt, 90 L) 121°C’de 15 dakika steril edildi.
- d. Besiyeri sıcaklığı 45-50°C’ ye düştükten sonra %5 steril defibrine insan kanı ilave edildi. Karıştırılarak homojenizasyon sağlandıktan sonra steril plaklara döküldü.
- e. Kullanılincaya kadar +4°C’ de muhafaza edildi.

### 3.1.2. Eozin Metilen Blue Agar (Oxoid, İngiltere)

İçeriği (g/ l)

|                                   |      |
|-----------------------------------|------|
| Pepton .....                      | 10.0 |
| Laktoz .....                      | 10.0 |
| Dipotassium hidrojen fosfat ..... | 2.0  |
| Eosin Y .....                     | 0.4  |
| Metilen blue .....                | 0.06 |
| Agar .....                        | 15.0 |

pH 6.8±0,2

Eozin Metilen Blue Agar (EMB), Gram negatif bakterilerin üremesinin sağlanması ve üreyen bakterilerin laktozu fermente etme özelliğinin belirlenmesi amacıyla kullanıldı.

- EMB, ticari toz besiyerinden üreticinin tarif ettiği şekilde hazırlandı.
- 37.5 gram toz, 3.75 gram bakteriyolojik agar 1 litre distile su içerisinde 5-10 dakika çalkalanarak tamamen çözünmesi sağlandı.
- Otoklavda 121°C’de 15 dakika steril edildikten sonra 20’şer ml steril plaklara döküldü.
- Kullanılincaya kadar +4°C’ de muhafaza edildi.

### 3.1.3. Mueller-Hinton Agar (Oxoid, İngiltere)

İçeriği (g/ l)

|                                 |       |
|---------------------------------|-------|
| Dehydrate infusion .....        | 300.0 |
| Casein hidrolisate-asidic ..... | 17.5  |
| Agar .....                      | 17.0  |
| Starch .....                    | 1.5   |
| Heart extract paste .....       | 5     |

pH 7,4

Mueller-Hinton Agar (MHA), antibiyotik duyarlılık testleri için kullanıldı.

- MHA besiyeri, ticari toz besiyerinden üreticinin tarif ettiği şekilde hazırlandı.
- Otoklavda 121°C'de 15 dakika steril edildi.
- Steril plaklara 4 mm kalınlıkta olacak şekilde döküldü.
- Kullanılincaya kadar + 4°C'de muhafaza edildi

#### 3.1.4. Triple Sugar Iron Agar (Acumedia, USA)

##### İçeriği (g/ l)

|                                      |       |
|--------------------------------------|-------|
| Kazein .....                         | 5     |
| Enzymatic digest of animal tissue... | 5     |
| Pepton .....                         | 10    |
| Dextroz .....                        | 1     |
| Laktoz .....                         | 10    |
| Sukroz .....                         | 10    |
| Ferrik amonium sitrat .....          | 0.2   |
| Sodyum Klorür .....                  | 5     |
| Sodyum Tiosulfat .....               | 0.3   |
| Fenol Red .....                      | 0.025 |
| Agar .....                           | 13.5  |
| pH:7.3 ±0,2                          |       |

Triple Sugar Iron (TSI) Agar, bakterilerin glukoz, laktoz ve sükroz şekerlerini fermente etme, gaz ve H<sub>2</sub>S oluşturma özelliklerinin belirlenmesi amacıyla kullanıldı.

- Temel besiyeri tartıldı, distile su içinde benmaride hafif ısıtılarak eritildi.
- pH: 7.4'e ayarlandı.
- Tüplere 5 ml miktarlarda dağıtıldı.
- Otoklavda 121°C'de 15 dakika steril edildi.

- e. Steril cam tüplere yaklaşık 3'er cm dip ve yatık bölüm oluşacak şekilde döküldü.
- f. Kullanılincaya kadar +4°C' de muhafaza edildi.

### **Testin Yapılışı**

- a. Tek koloniden iğne öze ile tüp tabanına 0.5 mm kalacak şekilde batırma ekimi yapıldı, koloni aynı zamanda yatık yüzeye de ekildi
- b. 37 °C'de etüvde 24 saat inkübe edildi.

### **3.1.5. Simmon's Sitrat Agar (Biolife, İtalya)**

İçeriği (g/ l)

|                              |      |
|------------------------------|------|
| Mononamonyum fosfat .....    | 0.2  |
| Sodyum Klorid .....          | 5.0  |
| Sodyum sitrat tribasic ..... | 2.0  |
| Magnesium sulfat .....       | 0.2  |
| Brom timol mavisi .....      | 0.08 |
| Agar .....                   | 15   |
| Sodyum amonium fosfat .....  | 0.8  |

Simmon's Sitrat Agar, bakterilerin karbon ve enerji kaynağı olarak sitratı kullanma özelliklerini belirlemek amacıyla kullanıldı.

- a. Ticari toz besiyerinden üreticinin tarif ettiği şekilde hazırlandı.
- b. pH: 6.9'a ayarlandı. Tüplere 5 ml miktarlarda dağıtıldı; ağızları pamuk tıkaç ile kapatıldı.
- c. Otoklavda 121°C'de 15 dakika steril edildi.
- d. Tüpler yatık durumda, yüzeyi eğimli olacak şekilde katılaştırıldı.
- e. Kullanılincaya kadar +4°C' de muhafaza edildi.

### Testin Yapılışı

- a. Tek koloniden iğne öze ile besiyeri yüzeyine ekim yapıldı.
- b. 37 °C'de etüvde 24 saat inkübe edildi.

### 3.1.6. MİL (Motility-indol-lysine) Besiyeri (HİMEDİA, Mumbai, Hindistan)

İçeriği (g/ l)

|                                      |      |
|--------------------------------------|------|
| Peptic digest of animal tissue ..... | 10.0 |
| Casein enzymatic hidrolisate .....   | 10.0 |
| Dextroz .....                        | 1.0  |
| Yeast extract .....                  | 3.0  |
| L-lysine hidroclorid .....           | 10.0 |
| Ferric amonium sitrat .....          | 0.5  |
| Brom cresol purple .....             | 0.02 |
| Agar .....                           | 2.0  |

MİL besiyeri, bakterilerin hareket karakteri, triptofandan indol ve indol asetik asit oluşturma ve lizin dekarboksilasyon özelliklerinin belirlenmesi amacıyla kullanıldı.

- a. Ticari toz besiyerinden üreticinin tarif ettiği şekilde hazırlandı.
- b. 36.5 gram toz 1 litre distile su içerisinde 5-10 dakika çalkalanarak tamamen çözünmesi sağlandı.
- c. Otoklavda 121°C'de 15 dakika steril edildi.
- d. Steril cam tüplere döküldü.
- e. Kullanılincaya kadar +4°C' de saklandı.

### Testin Yapılışı

- a. Tek koloniden iğne öze ile besiyerine batırma ekimi yapıldı.
- b. 37 °C'de etüvde 24 saat inkübe edildi.

### 3.1.7. MIO (Motility-indol-ornitin) Besiyeri (HİMEDİA, Mumbai, Hindistan)

İçeriği (g/ l)

Peptic digest of animal tissue ..... 10.0

Casein enzymatic hidrolisate ..... 10.0

Dextroz ..... 1.0

Yeast extract ..... 3.0

Ferric amonium sitrat ..... 0.5

Brom cresol purple ..... 0.02

L-ornitin hidroclorid ..... 5.0 g/l

Agar 2.0 g/l

MIO besiyeri, bakterilerin hareket karakteri, triptofandan indol ve indol asetik asit oluşturma ve ornitin dekarboksilasyon özelliklerinin belirlenmesi amacıyla kullanıldı.

- Ticari toz besiyerinden üreticinin tarif ettiği şekilde hazırlandı.
- 31 gram toz 1 litre distile su içerisinde 5-10 dakika çalkalanarak tamamen çözünmesi sağlandı.
- Otoklavda 121°C’de 15 dakika steril edildi.
- Steril cam tüplere döküldü.
- Kullanılincaya kadar +4°C’ de saklandı.

#### Testin Yapılışı

- Tek koloniden iğne öze ile besiyerine batırma ekimi yapıldı.
- 37 °C’de etüvde 24 saat inkübe edildi.

### **3.1.8. Kullanılan Antibiyotikler**

#### **a) Disk Diffüzyon Testinde Kullanılan Antibiyotikler**

- Amikasin (30 µg)
- Piperasilin/tazobaktam (100 µg /10 µg)
- İmipenem (10 µg)
- Meropenem (10 µg)
- Ertapenem (10 µg)
- Trimetoprim-sülfometoksazol (1.25 µg /23.75 µg)
- Siprofloksasin (5 µg)

#### **b. Çift Disk Sinerji Testinde Kullanılan Antibiyotikler**

- Amoksisilin/klavulanik asit (20 µg /10 µg)
- Aztreonam (30 µg)
- Seftriakson (30 µg)
- Seftazidim (30 µg)
- Sefotaksim (30 µg)
- Sefpodoksim (10 µg)

#### **c. Kombine Disk Testinde Kullanılan Antibiyotikler**

- Seftazidim (30 µg/ml)- seftazidim/klavulanik asit (30/10 µg)
- Sefotaksim (30 µg/ml)- sefotaksim/klavulanik asit (30/10 µg)

### **3.1.9. Kullanılan Diğer Gereçler**

- Kan kültür cihazı (BACT/ALERT 3D, bioMerieux, Fransa)
- Phoenix TM 100 (Becton Dickinson, USA)
- Gram boyama seti (kristal viyole, lügol, denatüre alkol, sulandırılmış fuksin)
- Mikroskop (Nicon, Japonya)
- Etüv (Memmert, LODİNG 100-800, Macherey Nagel)

- McFarland cihazı (Becton Dickinson, USA)
- Vortex wisemix (VM-10,Wisd, Almanya)
- Eküvyon
- Bek
- Plastik öze
- 2 ml.'lik steril tek kullanımlık kapaklı ependorf tüpleri
- Steril pudrasız tek kullanımlık eldiven

### 3.2. BAKTERİ İZOLASYONU VE TANIMLANMASI

Merkez laboratuvarımıza gelen kan kültürleri kan kültürü cihazında 5 gün boyunca inkübe edildi. Bu süre içinde pozitif üreme sinyali veren şişelerden kanlı ve EMB besiyerlerine ekim yapıldı. Üreyen kolonilerden Gram boyama yapıldı. Gram negatif kolonilerden laktoz pozitif olanlar biyoşimik testlerle, laktoz negatif olanlar Phoenix otomatize sistemiyle tanımlandı.



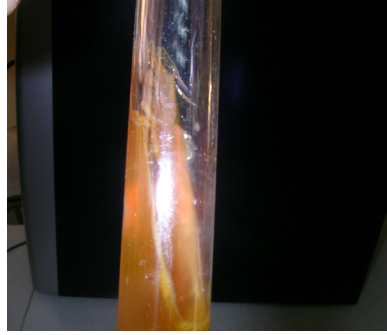
Şekil 2. Solda *K.pneumoniae*, Sağda *E.coli*

### 3.2.1. Biyoşimik Testlerle Tanımlama

EMB besiyerinde laktoz pozitif koloni özelliği gösteren bakteriler; TSI besiyerinde glukoz, laktoz ve sükroz kullanımı ile gaz ve H<sub>2</sub>S oluşturmaları, sitrat besiyerinde sodyum sitrat kullanımı, MİO ve MİL besiyerlerinde lizin ve ornitin dekarboksilaz reaksiyonları ile indol üretimi yönünden değerlendirildi.

#### TSI besiyerinin değerlendirilmesi:

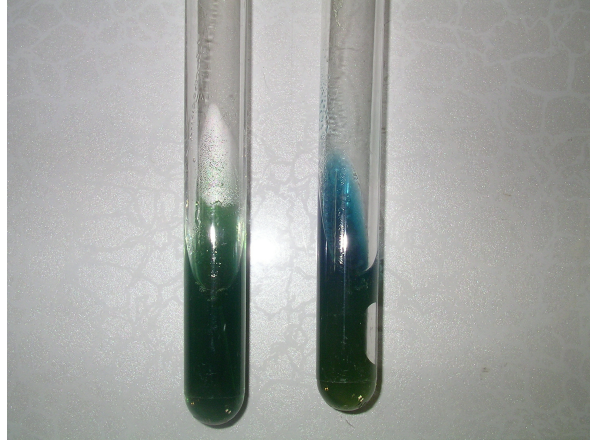
Hafif alkali ortamı olarak hazırlanan TSİ besiyeri, içerdiği fenol kırmızısı sayesinde alkali ortamda kırmızı görünümündedir. İnoküle edilen bakteri, TSİ ortamında bulunan karbonhidratları fermente ettiği takdirde ortamın pH'sı aside kaymakta ve asit ortamda fenol kırmızısı sarı bir renge dönüşmektedir. Eğer inoküle edilen bakteri karbonhidratlardan hiçbirini kullanmazsa ortamın pH'sı alkali kalmakta yani besiyerinin rengi kırmızı olarak devam etmektedir. Dip ve yatık kısımdaki renk değişimine göre bakterilerin karbonhidratları fermente edip etmediği değerlendirildi. Ayrıca siyah renk oluşumu bakterilerin H<sub>2</sub>S oluşturduğu, besiyerinde hava kabarcıkları veya çatlamların varlığı ise gaz oluşturduğu yönünde değerlendirildi (Şekil 3).



Şekil 3. TSI Besiyeri

#### Sitrat besiyerinin değerlendirilmesi:

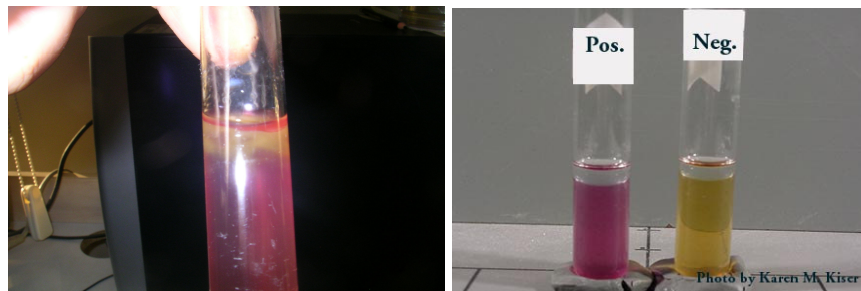
Bakteri sitratı karbon kaynağı olarak kullanıyorsa inkübasyon süresi sonunda, normal durumda koyu yeşil renkli olan sitrat besiyeri, Prusya mavisi rengine döner. Rengin maviye dönüşmesi pozitif reaksiyon, besiyeri renginin değişmemesi negatif reaksiyon olarak yorumlandı (Şekil 4).



**Şekil 4. Simon Sitrat Agar (Sol :Sitrat negatif Sağ: Sitrat pozitif )**

#### **MİL ve MİO besiyerlerinin değerlendirilmesi:**

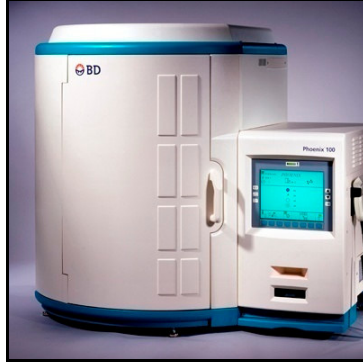
Bakteri inoküle edilmiş olan besiyerleri 37°C’de 16-20 saat inkübe edildikten sonra besiyeri üstüne kovaks ayırıcı damlatıldı. Normal durumda sarı renkli olan kovaks ayırıcı kırmızı-pembe bir renk değişimine uğrarsa pozitif reaksiyon, böyle bir renk değişimi gözlenmezse negatif reaksiyon olarak değerlendirildi. Mor olan besiyeri renginin değişmemesi bakterinin lizin ve ornitin dekarboksilaza sahip olduğunu, rengin sarıya dönüşümü bu enzimler yönünden negatif olduğunu gösterdi. Bakterinin sadece ekim çizgisi üzerinde üremesi hareketsiz, ekim çizgisi dışına doğru üreme ve besiyerinin bulanıklaşması hareketli olduğunu gösterdi. Laktoz pozitif kolonilere anlatılan biyoşimik testler uygulandı. TSİ besiyerinde laktozu fermente eden, sitrat testi negatif, indol reaksiyonu pozitif ve lizin dekarboksilaza sahip bakteriler *E.coli* olarak yorumlandı. TSİ besiyerinde laktozu fermente eden, sitrat testi pozitif, indol reaksiyonu negatif ve lizin dekarboksilaza sahip fakat ornitin dekarboksilazı olmayan bakteriler *K.pneumoniae* olarak yorumlandı.



**Şekil 5. Dekarboksilasyon besiyeri (ornitin-lizin-arjinin)**

### 3.2.2. Phoenix Otomatize Sistemi

EMB besiyerinde laktoz negatif koloni özelliği gösteren bakterilerin identifikasyonu ve antibiyotik duyarlılığının belirlenmesi Phoenix otomatize sistemi ile yapıldı. Üretici firmanın direktifleri doğrultusunda, plaklardan alınan yeterli miktardaki koloniler AST Broth solüsyon tüpünün içerisinde, türbidometre cihazı (BD, PhoenixSpec, Nephelometer, USA) kullanılarak son bulanıklığı 0.5 McFarland standard yoğunluğunda olacak şekilde süspanse edildi. Ardından, standardize ID Broth solüsyonundan 25 µl pipet yardımıyla, önceden hazırlanan AST Broth solüsyon tüpüne aktarıldı. Daha sonra, elde edilen solüsyonlar NMIC/ID-108 combo paneller içerisindeki uygun kuyucuklara inoküle edildi ve Phoenix cihazına dikkatlice yerleştirildi. İnkübasyon süresi sonunda identifikasyon ve antibiyogramları tamamlanan örneklerin değerlendirilmesi BD EpiCenter™ yazılımı kullanılarak yapıldı (Şekil 6).



Şekil 6 Phoenix® (Bekton Dickinson Diagnostics) Sistemi

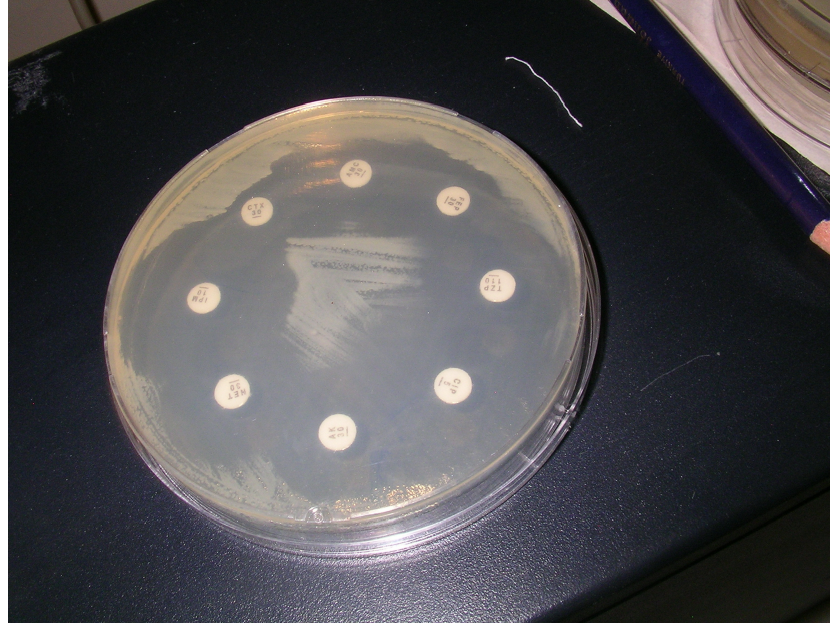
### 3.2.3. İzole Edilen Suşların Saklanması

- Suşları saklamak için % 15 gliserol eklenmiş triptik soy broth hazırlanıp 2 ml'lik steril endorff tüplerine aktarıldı.
- Kan kültüründe üreyen *K.pneumoniae* ve *E.coli* olarak tanımlanan suşlar hazırlanan broth içine süspanse edildi.
- Suşlar çalışılncaya kadar -70°C'de saklandı.

### 3.3. ANTİBİYOTİK DUYARLILIĞININ ARAŞTIRILMASI

#### 3.3.1. Disk Diffüzyon Testi:

- İnokulum, kültür plaklarında üremiş olan bakteri kolonilerinden bir miktar alınarak steril serum fizyolojik içerisinde 0.5 McFarland standart bulanıklıkta olacak şekilde hazırlandı.
- Bu süspansiyon steril eküvyon yardımıyla MHA besiyeri yüzeyine inoküle edildi.
- Plakların kuruması beklendikten sonra üzerlerine antibiyotik emdirilmiş kağıt diskler yerleştirildi.
- 35 C°'de 18-24 saatlik inkübasyonu takiben antibiyotik disklerinin etrafında oluşan inhibisyon zon çapları ölçüldü.
- CLSI kriterlerine göre elde edilen sonuçlar yorumlandı (49).



**Şekil 7. Disk Diffüzyon Testi:**

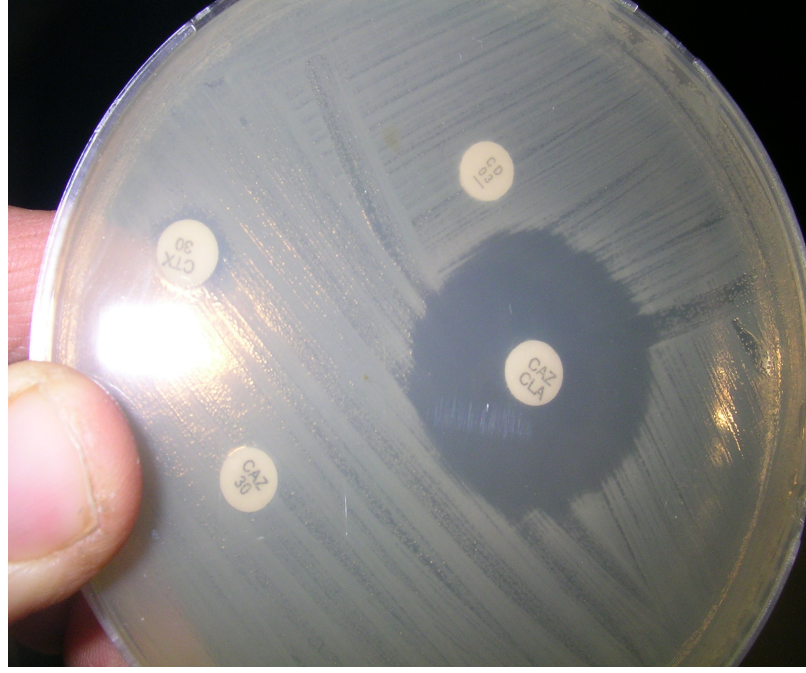
### **3.4. GSBL VARLIĞININ ARAŞTIRILMASI**

#### **3.4.1. Çift Disk Sinerji Testi:**

- a. İnokulum, kültür plaklarında üremiş olan bakteri kolonilerinden bir miktar alınarak steril serum fizyolojik içerisinde 0.5 McFarland standart bulanıklıkta olacak şekilde hazırlandı.
- b. Bu süspansiyon steril eküvyon yardımıyla MHA besiyeri yüzeyine inoküle edildi.
- c. Ortada amoksisilin-klavulanik asit diski; çevresine sefotaksim, seftazidim, seftriakson, sefpodoksim, aztreonam diskleri merkezden merkeze 24 mm mesafe olacak şekilde yerleştirildi.
- d. Hazırlanan plaklar 37 °C’de 18-20 saat süre ile inkübe edildi.
- e. İnkübasyon süresi sonunda besiyerleri incelendiğinde, aztreonam, sefotaksim, seftriakson, seftazidime ait inhibisyon zonlarının klavulanik asit diski karşısında bozularak genişlemesi, arada hayali bir zon oluşması ya da iki inhibisyon zonu arasındaki bakteri üreyen alanda üreme olmayan bir bölgenin görülmesi durumunda o suşun GSBL ürettiğine karar verildi.

#### **3.4.2. Kombine Disk Testi:**

- a. İnokulum, kültür plaklarında üremiş olan bakteri kolonilerinden bir miktar alınarak steril serum fizyolojik içerisinde 0.5 McFarland standart bulanıklıkta olacak şekilde hazırlandı.
- b. Bu süspansiyon steril eküvyon yardımıyla MHA besiyeri yüzeyine inoküle edildi.
- c. Bu besiyeri üzerine seftazidim ile seftazidim/klavulanik asit ve sefotaksim ile sefotaksim/klavulanik asit diskleri karşılıklı olarak yerleştirildi.
- d. Kombine disklerin zon çapının tek başına seftazidim ile sefotaksim zon çaplarına göre  $\geq 5$  mm artması durumunda GSBL pozitifliğine karar verildi.



**Şekil 8. Kombine Disk Testi**



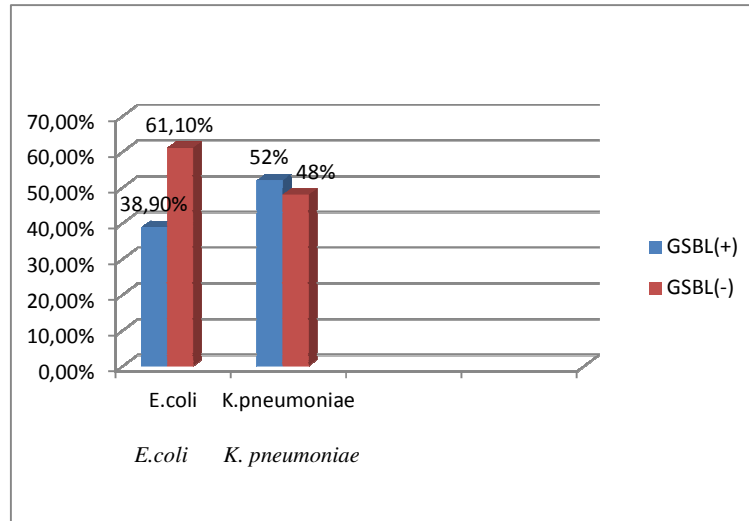
**Şekil 9. Solda ÇDST, sağda ise KDT ile GSBL pozitif olan bir örnek**

### **3.5. İSTATİSTİKSEL ANALİZ**

Tüm istatistiksel analizler ‘Windows ‘‘Statistical Package For Social Sciences (SPSS)’’ (versiyon 15.0; SPSS, Chicago, IL) programı kullanılarak yapıldı. Karşılaştırmalar için, kıkare testi uygulandı. İstatistiksel olarak p değeri 0.05’ den küçük olanlar anlamlı olarak kabul edildi.

#### 4. BULGULAR

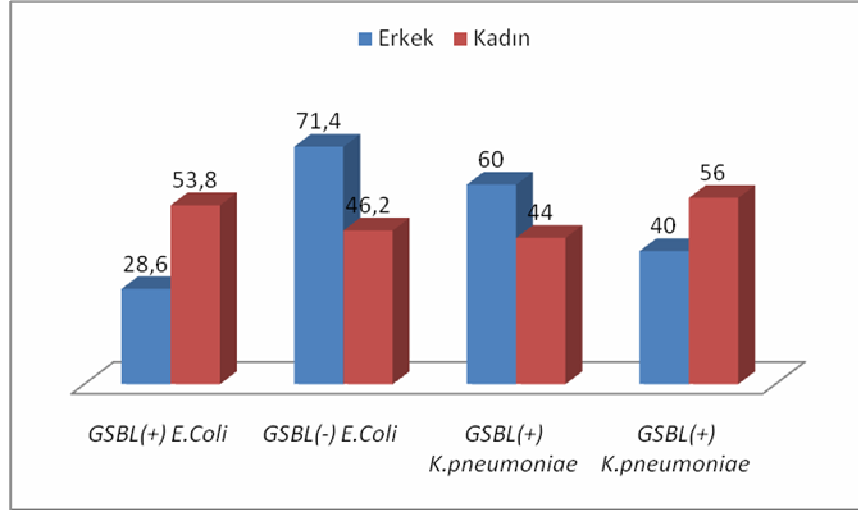
Bu çalışmaya 2009 Ocak-Aralık tarihleri arasında Erciyes Üniversitesi Tıp Fakültesi Bakteriyoloji Laboratuvarı'na gönderilen kan kültürü örneklerinden izole edilen 145 suş dahil edildi. Bu suşların 95'i *E.coli* 50'si *K.pneumoniae* olarak identifiye edildi. *E.coli* suşlarının 37'sinde (% 38.9) ve *K.pneumoniae* suşlarının 26'sında (% 52) GSBL üretimi saptandı Şekil 10'da özetlendi.



Şekil 10. *E.coli* ve *K.pneumoniae* GSBL pozitifliği

Çalışmaya alınan 145 olgunun 81'i (% 55.9 ) erkek, 64'ü ( % 44.1) kadın olup, kadınlardan izole edilen *E.coli* suşlarında GSBL görülme sıklığı (% 53.8), erkeklere

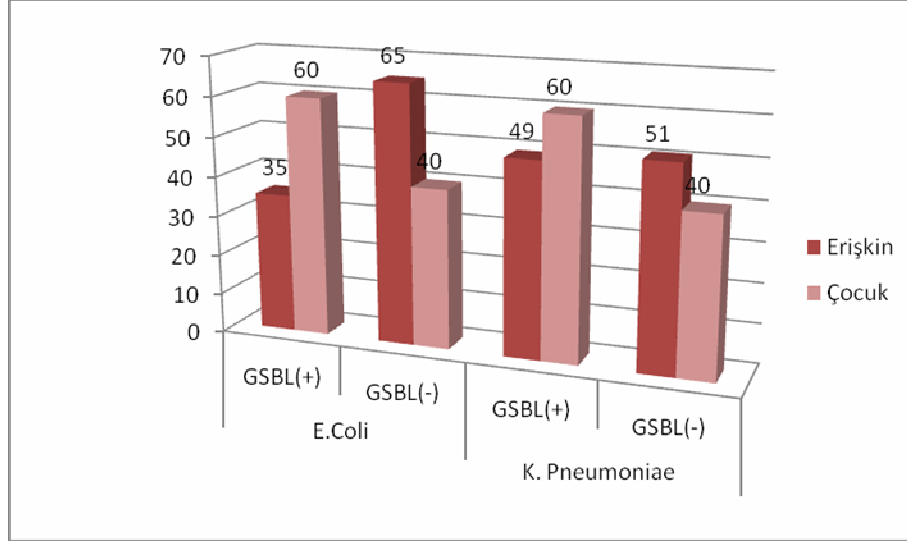
(% 28.6) göre istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde yüksek bulundu ( $p < 0.05$ ). *K.pneumoniae* suşlarındaki GSBL sıklığı erkeklerde (% 60), kadınlara (% 44) göre yüksek olmakla birlikte fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmadı ( $p > 0.05$ ) (Şekil 11).



**Şekil 11. Cinsiyetlere göre GSBL pozitifliği**

(*E. coli*  $p < 0.05$ ; *K. pneumoniae* ,  $p > 0.05$ )

Hastaların 115'i (% 79 ) erişkin, 30'u (% 21 ) çocuktur. Erişkin ve çocuk hastalardan izole edilen *E. coli* sıklığı sırasıyla % 84 - % 16 iken, *K. pneumoniae* için bu oran % 70 - % 30 olarak bulundu. Çocuk hastalardan izole edilen *E. coli* ve *K. pneumoniae* suşlarında GSBL görülme sıklığı (sırasıyla % 60, % 60), erişkin hastalardakine (sırasıyla % 35, % 48.6) göre yüksek bulundu. Fark istatistiksel olarak anlamlı idi ( $p < 0.05$ ) (Şekil 12).

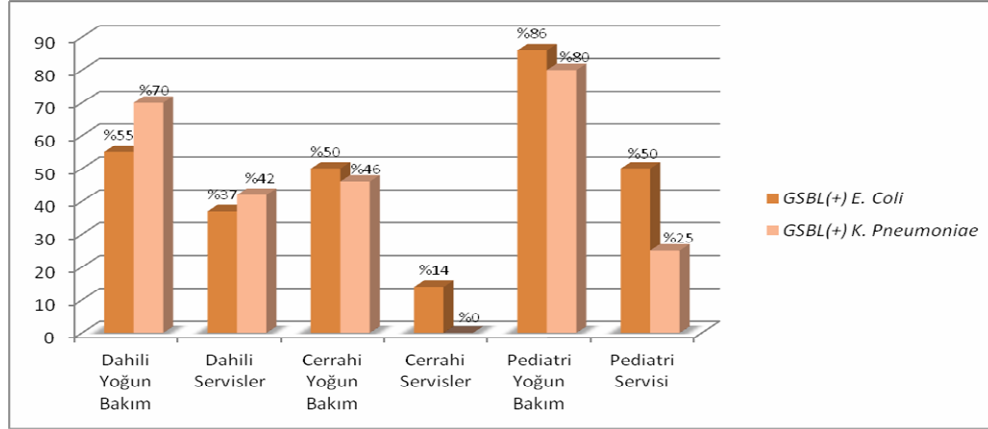


**Şekil 12. Çocuk ve erişkin yaş grubuna göre GSBL pozitifliği**

(*E coli*,  $p < 0.05$ ; *K.pneumoniae*, ( $p > 0.05$ ))

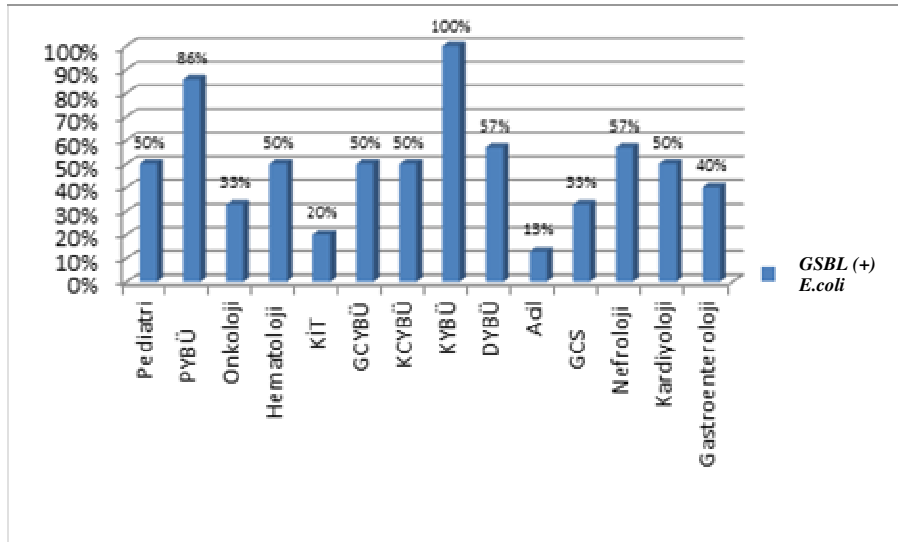
GSBL üreten suşların servislere göre dağılımı Şekil 4 ve 5'te özetlendi. Bütün yoğun bakım üniteleri (YBÜ)'leri dikkate alındığında GSBL üreten *E coli* suşlarının oranı % 63.8 iken servislere bu oran % 31.5 olarak bulundu. Buna göre YBÜ'ndeki GSBL pozitifliği servislere göre istatistiksel olarak anlamlı derecede daha yüksekti ( $p < 0.05$ ). Dahiliye yoğun bakım ünitesi (DYBÜ) ile cerrahi yoğun bakım ünitesi (CYBÜ) arasında GSBL üreten suşlar açısından istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmazken, bu oran dahili servislere cerrahi servislere göre anlamlı derecede daha yüksek idi ( $p < 0.05$ ) (Şekil 13). YBÜ'lerinde GSBL üreten *K.pneumoniae* suşlarının oranı % 64.5 iken servislere bu oran % 31.5 olarak bulundu. *K.pneumoniae* 'da da YBÜ'ndeki GSBL pozitifliği servislere göre istatistiksel olarak anlamlı derecede daha yüksekti ( $p < 0.05$ ) (Şekil 13).

GSBL üreten her iki bakteri türü için DYBÜ ile dahili servislere, CYBÜ ile cerrahi servislere ve pediatri yoğun bakım ünitesi (PYBÜ) ile pediatrik servislere kendi içlerinde ayrı ayrı değerlendirildiğinde, her üç grupta da yoğun bakımlardaki GSBL pozitifliği istatistiksel olarak anlamlı derecede daha yüksek bulundu ( $p < 0.05$ ). En fazla GSBL üretimi PYBÜ'nden izole edilen suşlarda gösterildi.

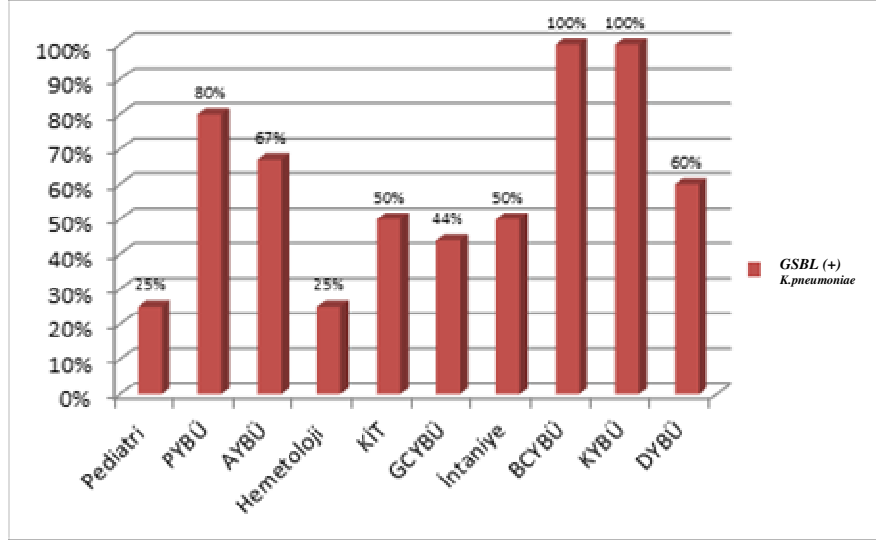


**Şekil 13. GSBL pozitif *E. coli* ve *K. pneumoniae* suşlarının yoğun bakım üniteleri ve servislere göre dağılımı**

*E. coli* ve *K. pneumoniae* suşlarının GSBL pozitiflik oranlarının kliniklere göre dağılımı sırasıyla Şekil 14 - 15’de özetlendi.



**Şekil 14. *E. coli* suşlarının GSBL pozitiflik oranlarının kliniklere göre dağılımı**  
(KİT: Kemik İliği Transplantasyon Ünitesi, PYBÜ: Pediatri yoğun bakım ünitesi, GCVBÜ: Genel cerrahi, KCVBÜ: Kalp cerrahi yoğun bakım ünitesi , KYBÜ: Kardiyoloji yoğun bakım ünitesi , DYBÜ: Dahiliye yoğun bakım ünitesi , GCS: Genel cerrahi servisi) *E. coli* p > 0.05



**Şekil 15. *K.pneumoniae* suşlarının GSBL pozitiflik oranlarının kliniklere göre dağılımı** (KİT: Kemik İliği Transplantasyon Ünitesi, PYBÜ: Pediatri yoğun bakım ünitesi, AYBÜ: Anestezi yoğun bakım ünitesi GGYBÜ: Genel cerrahi, KCYBÜ: Kalp cerrahi yoğun bakım ünitesi, KYBÜ: Kardiyoloji yoğun bakım ünitesi, DYBÜ: Dahiliye yoğun bakım ünitesi, GCS: Genel cerrahi servisi)

Erişkin ve çocuk hastalardan izole edilen *E.coli* ve *K.pneumoniae* suşlarının antibiyotiklere olan direnç durumu Tablo 3 ve 4’de özetlenmiştir. Buna göre *E.coli* suşlarının amikasin ve gentamisin direnci çocuklarda, piperasilin-tazobaktam direnci erişkin hastalarda istatistiksel olarak daha yüksek idi. *K.pneumoniae* suşlarında ise amikasin direnci çocuklarda, siprofloksasin direnci erişkinde istatistiksel olarak daha yüksek bulundu ( $p < 0.05$ ).

**Tablo 3. Erişkin ve çocuk hastalardan izole edilen *E.coli* suşlarında antibiyotiklere direnç oranları**

| <i>E.coli</i><br>Antibiyotikler         | Direnç: Erişkin<br>n (%) | Direnç: Çocuk<br>n (%) |
|-----------------------------------------|--------------------------|------------------------|
| <b>Ampisilin</b>                        | 22 (% 62.9)              | 12 (% 80)              |
| <b>Amoksisilin+<br/>klavulanik asit</b> | 23 (% 65.7)              | 13 (% 86.7)            |
| <b>Piperasilin+<br/>Tazobaktam*</b>     | 21 (% 60)                | 6 (% 40)               |
| <b>İmipenem</b>                         | 0                        | 0                      |
| <b>Meropenem</b>                        | 0                        | 0                      |
| <b>Ertapenem</b>                        | 0                        | 0                      |
| <b>Siprofloksasin</b>                   | 21 (% 60)                | 1 (% 6.7)              |
| <b>Gentamisin*</b>                      | 11 (% 13.8)              | 8 (% 53.8)             |
| <b>Amikasin*</b>                        | 2 (% 2.5)                | 2 (% 13.3)             |
| <b>Ko-trimoksazol</b>                   | 18 (% 51.4)              | 6 (% 40)               |

\*p ≤ 0.05

**Tablo 4. Erişkin ve çocuk hastalardan izole edilen *K.pneumoniae* suşlarında antibiyotiklere direnç oranları**

| <i>K.pneumoniae</i><br>Antibiyotikler | Direnç: Erişkin<br>n (%) | Direnç: Çocuk<br>n (%) |
|---------------------------------------|--------------------------|------------------------|
| Ampisilin                             | 22 (%62.9)               | 12 (%80)               |
| Amoksisilin+<br>klavulanik asit       | 23 (%65.7)               | 13 (%86.7)             |
| Piperasilin+<br>tazobaktam            | 21 (%60)                 | 6 (%40)                |
| İmipenem                              | 0                        | 0                      |
| Meropenem                             | 0                        | 0                      |
| Ertapenem                             | 0                        | 0                      |
| Siprofloksasin*                       | 21 (%60)                 | 1 (%6.7)               |
| Gentamisin                            | 14 (%40)                 | 4 (%26.7)              |
| Amikasin*                             | 3 (%8.6)                 | 5 (%33.3)              |
| Ko-trimoksazol                        | 18 (%51.4)               | 6 (%40)                |

\*  $p \leq 0.05$

GSBL üreten ve üretmeyen suşların çeşitli antibiyotiklere direnç durumu Tablo 5 ve 6'da özetlenmiştir. Hiçbir suшта imipenem, meropenem ve ertapeneme direnç

görülmedi. GSBL üreten *E.coli* suşlarında tüm antibiyotiklere karşı direnç oranları, GSBL üretmeyenlere göre istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek bulundu ( $p < 0.05$ ). Erişkin hastalarda GSBL üreten suşlarda siprofloksasin direncinde GSBL üretmeyenlere göre istatistiksel olarak anlamlı fark varken, pediatrik hastalardan izole edilen suşlarda fark görülmedi.

GSBL üreten *K.pneumoniae* suşlarında ampsilin ve amoksisilin-klavulanik asit direnci GSBL üretmeyenlere göre istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek bulundu ( $p < 0.05$ ).

**Tablo 5. GSBL üreten ve üretmeyen *E.coli* suşlarında antibiyotik direnç oranları**

| <i>E.coli</i><br>Antibiyotikler  | Direnç GSBL(+)<br>n (%) | Direnç GSBL(-)<br>n (%) |
|----------------------------------|-------------------------|-------------------------|
| Ampisilin*                       | 36 (%97.3)              | 15 (%25.9)              |
| Amoksisilin+<br>klavulanik asit* | 33 (%89.2)              | 12 (%20.7)              |
| Piperasilin+<br>Tazobaktam*      | 22 (%59.5)              | 7 (%12.1)               |
| İmipenem*                        | 0                       | 0                       |
| Meropenem*                       | 0                       | 0                       |
| Ertapenem*                       | 0                       | 0                       |
| Siprofloksasin*                  | 26 (%70.3)              | 19 (%32.8)              |
| Gentamisin*                      | 17 (%45.9)              | 2 (%3.4)                |
| Amikasin*                        | 4 (%10.8)               | 0                       |
| Ko-trimoksazol*                  | 21 (%56.8)              | 15 (%25.9)              |

\*p≤ 0.05

**Tablo 6. GSBL Üreten ve Üretmeyen *K.pneumoniae* Suşlarında Antibiyotik Direnç Paternleri**

| <i>K.pneumoniae</i><br>Antibiyotikler | Direnç GSBL(+)<br>n (%) | Direnç GSBL(-)<br>n (%) |
|---------------------------------------|-------------------------|-------------------------|
| Ampisilin*                            | 22 (%84.6)              | 12 (%50)                |
| Amoksisilin+<br>klavulanik asit*      | 24 (%92.3)              | 12 (%50)                |
| Piperasilin+<br>Tazobaktam            | 13 (%50)                | 14 (%58.3)              |
| İmipenem                              | 0                       | 0                       |
| Meropenem                             | 0                       | 0                       |
| Ertapenem                             | 0                       | 0                       |
| Siprofloksasin                        | 14 (%53.8)              | 8 (%33.3)               |
| Gentamisin                            | 9 (%34.6)               | 9 (%37.5)               |
| Amikasin                              | 5 (%19.2)               | 3 (%12.5)               |
| Ko-trimoksazol                        | 15 (%57.7)              | 9 (%37.5)               |

\*  $p \leq 0.05$

145 suшта CLSI'nın önerdiği fenotipik doğrulama testi olan kombine disk (modifiye) sinerji testi ile % 61,8 GSBL varlığı belirlenmiştir. Bu izolatların hepsinde ÇDST ile GSBL varlığı saptanmıştır.

Tek başına seftazidim- seftazidim klavulanik asit (CAZ-CAZ KLAV) diski ile 8 suşta GSBL tespit edilebilirken; sadece sefotaksim- sefotaksim klavulanik asit (CTX-CTX KLAV) diski ile 1 suşta GSBL saptanmıştır. Hepsinde KDT pozitif bulundu. GSBL'yi saptama açısından değerlendirildiğinde; tüm suşların % 43,4'ü seftazidim-klavulanat, %37,9'i sefotaksim-klavulanat ile tespit edilmiştir.

**Tablo 7. GSBL pozitiflik oranının yöntemlere göre dağılımı**

| Yöntem                             | GSBL (+) |      | GSBL (-) |      |
|------------------------------------|----------|------|----------|------|
|                                    | n        | %    | n        | %    |
| KDT                                | 63       | 43.4 | 82       | 56.5 |
| ÇDST                               | 51       | 35.1 | 94       | 64.8 |
| KDT (CTX CTX-KLAV)                 | 1        | 1.5  | 144      | 99.3 |
| KDT (CAZ CAZ-KLAV)                 | 8        | 12.6 | 137      | 94.4 |
| KDT (CAZ CAZ-KLAV<br>CTX CTX-KLAV) | 54       | 85.7 | 91       | 62.7 |

KDT: Kombine disk testi

ÇDST: Çift disk sinerji testi

CTX-KLAV: Sefotaksim-Klavulanik Asit

CAZ-KLAV: Seftazidim- Klavulanik Asit

## 5. TARTIŞMA

Üçüncü kuşak sefalosporinler başta olmak üzere geniş spektrumlu beta-laktam antibiyotiklerin yaygın ve uygunsuz kullanımı, GSBL'lerin ortaya çıkması ile sonuçlanmıştır (28). GSBL ilk olarak 1981 yılında Avrupa'dan, daha sonra dünyanın her yerinden bildirilmeye başlanmıştır (50). Türkiye'de ise GSBL sentezleyen izolatlar ilk kez 1992 yılında bildirilmiştir (51). En sık GSBL oluşturan bakteriler *Enterobacteriaceae* ailesinden *Klebsiella* spp. ve *E.coli*'dir. GSBL enzimleri, 2000 yılına kadar en sık TEM ve SHV türevleri olarak *K.pneumoniae* suşlarında saptanmakta iken, bu yıldan sonra kan kültürlerinden izole edilen *E.coli* suşlarında yaygınlaşan CTX-M enziminden dolayı daha yüksek oranda saptanmaya başlamıştır (28, 52-55). Klinik izolatlarda bugüne kadar 500-600 tip beta-laktamaz bulunmuştur (4). Günümüzde tanımlanan GSBL'lerin sayısı ise farklı türlerde (TEM, SHV, CTX-M, PER, OXA gibi) olmak üzere iki yüzü aşmıştır.

GSBL üreten bakteri infeksiyonlarında, tedavide birçok antibiyotiğin etkisiz kalabilmesi; hastanede yatış süresinin uzaması, artan morbidite ve mortalite oranları ve ciddi ekonomik kayıplar nedeniyle etkenin GSBL oluşturup oluşturmadığı bilinmelidir (53, 54, 56). GSBL üreten bakteriler, bu enzimleri plazmidler yoluyla türler arasında aktararak, hastanelerde salgınlar oluşturabilmektedir. Plazmidlerle aktarılabilen GSBL'ler karbapenemler dışındaki beta-laktam antibiyotikleri hidrolizle etkisizleştirebilmektedir. Bu direnç giderek yaygınlaşmakta ve sorun giderek büyümektedir.

Günümüze kadar yapılan çalışmalarda GSBL oranının ülkeye, bölgeye hatta kliniklere göre farklılık gösterdiği ve % 1-74 arasında değiştiği rapor edilmiştir.

Ekonomik düzeyi ve sağlık hizmet kalitesi daha düşük ÷lkelerde GSBL oranının daha y÷ksek olduğu bildirilmektedir. T÷rkiye’de de, hastane izolatlarında GSBL sıklığının merkezler arasında farklılıklar g÷sterdiği ve % 45-80 arasında değiştiği bildirilmiştir. T÷rkiye’de yapılan çeşitli çalışmalarda kan k÷lt÷rlerinden izole edilen *E.coli* ve *K.pneumoniae* suşlarındaki GSBL sıklığı sırasıyla % 22.5-36.8 ve % 24.4- % 63.7 arasında rapor edilmiştir (6-9). 2005 yılında tamamlanan ve T÷rkiye’nin değişik b÷lgelerinden altı merkezin katılımı ile gerçekleştirilen bir s÷rveyans çalışması olan HİTİT çalışmasına g÷re, kan örneklerinden izole edilen *E.coli* suşlarında GSBL oranı % 31.7 iken *K.pneumoniae* ’da bu oran % 33.3 olarak bulunmuştur. Bu çalışmada iki merkez dışında t÷m÷nde GSBL oranı *K.pneumoniae*’da daha y÷ksek olarak bildirilmiştir (57). T÷rkiye’de hastane izolatu Gram negatif bakteriler ile yapılan bir başka çok merkezli çalışma olan Meropenem Yearly Susceptibility Test Information Collection (MYSTIC) alışmasında, *K.pneumoniae* ’ların % 40.5’inde, *E.coli*’lerin ise % 15.3’÷nde GSBL varlığı saptanmıştır. Aynı alışmada GSBL ÷rettiği g÷sterilen kandan izole edilen *E.coli* ve *K.pneumoniae* suşlarında en fazla CTX-M (% 71.4) t÷revi enzimler saptanmış, bunu TEM (% 49.4) ve SHV’den k÷ken alan enzimler (% 46.7) izlemiştir (58). MYSTIC çalışmasının 2003 yılı sonuçlarında ise GSBL oranı *E.coli* suşlarında % 31, *K.pneumoniae* suşlarında % 48 olarak bildirilmiştir (59). ÷lkemizde yapılmış olan bir başka çok merkezli çalışmada (HITIT-2) GSBL sıklığı hastane kaynaklı *E.coli* suşlarında % 42.0 iken *K.pneumoniae* suşlarında % 41.4 olarak bulunmuştur (60).

÷lkemizde kan k÷lt÷r÷nde ÷reyen *K.pneumoniae* ve *E.coli* suşlarında GSBL sıklığını araştıran çeşitli araştırmaların sonuçları Tablo 8’de g÷sterilmiştir.

**Tablo 8. Ülkemizde kan kültüründe üreyen *K.pneumoniae* ve *E.coli* suşlarında GSBL sıklığını araştıran çeşitli araştırmalar**

| Araştırmacı                 | Çalışma yılı | GSBL üretimi   |                     |
|-----------------------------|--------------|----------------|---------------------|
|                             |              | <i>E. coli</i> | <i>K.pneumoniae</i> |
| Gülay ve ark.(59).          | 2003-2005    | % 17           | % 45                |
| Bülüç ve ark.(61).          | 2000-2002    | % 14           | % 48                |
| İpek ve ark.(62).           |              | % 20           | % 44                |
| Uyanık ve ark.(46).         | 2008-2010    | % 44           | % 44                |
| Kiremitçi ve ark.(63).      |              | % 23           | % 42                |
| Yetkin ve ark.(64).         | 2005-2006    | %34.5          |                     |
| Yakupoğulları ve ark. (65). |              |                | % 62.5              |
| Köksal ve ark.(66).         | 8 yıllık     | % 38.5         | % 44                |
| Kızırgil ve ark.(67).       |              |                | % 61                |
| Çelebi ve ark.(68).         | 2003-2007    |                | % 57                |
| Işık ve ark.(9).            | 2005-2006    |                | % 63.7              |
| Çolakoğlu ve ark.(8).       | 2005-2007    | % 36.8         | % 31.2              |
| Küçükbasımacı ve ark.(69)   | 2006-2007    | % 37-40        | % 29-38             |
| Nazik ve ark.(70).          | 2006-2007    | % 22.5         | % 54.3              |

GSBL prevalansı dünya çapında önemli bir problemdir ve merkezden merkeze değişim göstermektedir. Prevalansın, Latin Amerika’da % 45, Batı Pasifik bölgesi ve Avrupa’da % 25 olduğu ve yıllar içerisinde dramatik olarak arttığı bildirilmektedir (71-73). Çin’de hastane kaynaklı izolatların incelendiği geniş kapsamlı bir çalışmada, *E.coli* ve *Klebsiella* spp. suşlarında GSBL üretimi sırasıyla % 35 ve % 46 olarak saptanırken aynı ülkeden bildirilen bir başka çalışmada *E.coli* suşlarının %11’inde,

*Klebsiella* suşlarının ise % 13'ünde GSBL üretimi rapor edilmiştir (74, 75). Suudi Arabistan'da kan kültüründen izole edilen Gram negatif enterik basillerde % 16 oranında GSBL üretimi bildirilmiştir. Suşların büyük bir çoğunluğunu (% 49) *Klebsiella* spp.'nin oluşturduğu görülmüştür (76). Kore'de yapılan bir çalışmada, kan örneklerinden izole edilen *E.coli* suşlarında % 8.4 ve *K.pneumoniae* suşlarında % 14.8 oranlarında GSBL üretimi tespit edilmiştir (77). Edelstein ve ark.'nın (78) Rusya'da yaptıkları çok merkezli bir çalışmada, *K.pneumoniae* suşlarının % 60.8'inde GSBL saptanmıştır. Japonya'dan 196 farklı merkezin katıldığı bir çalışmada ise *E.coli* için < % 0.1 ve *K.pneumoniae* için < % 0.3 oranında GSBL üretimi saptanmış olup diğer Asya ülkeleri olan Kore, Tayvan ve Hong Kong için bu oranın % 4.8 ile % 12 arasında değiştiği bildirilmektedir (30). Avrupa'da Enterobacteriaceae izolatları arasında GSBL üretim sıklığı ülkeden ülkeye büyük farklılıklar göstermektedir. Hollanda'da yapılan çok merkezli bir çalışmada *E.coli* ve *K.pneumoniae* suşlarının %1'inden daha azının GSBL ürettiği gösterilmesine karşın, Fransa'da bu oranın *K.pneumoniae* suşlarında %40 olduğu bildirilmiştir (30). Avrupa kökenli çok merkezli bir başka çalışmada, yoğun bakım ünitelerinden izole edilen *K.pneumoniae* suşlarında GSBL üretim sıklığının Portekiz'de % 49, Belçika'da % 31, Fransa'da % 24, İtalya'da % 17, Almanya'da % 9 ve Türkiye'de % 59 olduğu bildirilmiştir (33).

Çalışmamızdaki GSBL oranı *E.coli* suşlarında % **38.9** *K.pneumoniae* suşlarında % **52** olarak tespit edilmiş olup, bu oran Türkiye'de 2003 ve sonrasını içeren çalışmalardaki GSBL oranları ile benzer, Latin Amerika'ya göre düşük, Avrupa, Batı Pasifik ve Kore'ye göre yüksek çıkmıştır.

Bakterilerde GSBL üretimi ve risk faktörlerinin araştırıldığı çalışmalarda bazı araştırmacılar yaş-cinsiyet farklılığı ile GSBL üreten suşların sıklığı arasında anlamlı bir ilişki saptamazken, bazıları GSBL üreten suşların erkeklerde kadınlara oranla daha yüksek olduğunu bildirmiştir (79-81). Çalışmamızda GSBL üreten *E.coli* ve *K.pneumoniae* suşlarının oranı erişkin hastalarda sırasıyla % **35** ve % **49**, pediatrik hastalarda ise her iki bakteri için % **60** olarak belirlenmiş olup, bu fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur. GSBL üreten *E.coli* ve *K.pneumoniae* suşlarının sıklığının cinsiyete göre dağılımına bakıldığında kadınlarda sırasıyla % **53.8** ve

%44; erkek hastalarda % 28.6 ve %60 olarak belirlenmiş olup kadınlarda *E.coli* suşlarındaki GSBL sıklığı erkeklere göre anlamlı olarak yüksek bulunmuştur.

Peña ve ark. (82). GSBL üreten *E.coli*'ye bağılı hastane infeksiyonlarında yaş ve cinsiyetin erken mortalite üzerinde etkisinin olmadığını tespit etmişlerdir. Çelebi ve ark.(68). çocuklarda yaptıkları bir çalışmada kan kültürlerinden izole edilen *K.pneumoniae* suşlarında GSBL oranını %57 olarak bildirmişlerdir. Aynı araştırmacılar GSBL üreten *Klebsiella* spp. infeksiyonlu hastalarda mortaliteyi % 35.7, GSBL üretmeyenlerde ise %14.3 olarak rapor etmişlerdir. 2004-2008 yıllarını kapsayan bu çalışmada, çocuk kliniğinden izole edilen *E.coli* suşlarının % 54'ünün GSBL ürettiği saptanmış, GSBL üretmeyen *E.coli* infeksiyonlarında mortalite % 8 iken, GSBL üreten *E.coli* infeksiyonlarında mortalite % 24.3 olarak bildirilmiş ve bu sonuç istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur. Aynı çalışmada GSBL üretiminin dağılımı kliniklere göre; hematoloji-onkoloji ünitesinde % 41.8, PYBÜ'sinde % 39.1, çocuk kliniğinde % 12.1, YDYBÜ'nde % 6.7 olarak belirlenmiştir. Bu veriler ışığında GSBL üretimi için risk faktörleri olarak, pediatri yoğun bakım ünitesinde yatışı, geniş spektrumlu ve uzamış antibiyotik alımını, hastanede uzamış yatışı, immünsupresif tedavi alımını, kan transfüzyonu uygulamasını ve santral venöz kateter varlığını belirtmişlerdir (83).

Yapılan araştırmalarda hastane suşlarında GSBL oluşturma sıklığının toplumdan izole edilen suşlara göre daha yüksek olduğu rapor edilmektedir. Hastanelerde de yoğun bakım ünitesinden izole edilen suşların daha yüksek oranda GSBL oluşturduğu bildirilmektedir. Yoğun bakımda bulunan hastalar klinik durumları ağır, altta yatan ciddi hastalıkları nedeniyle dirençleri oldukça düşük, kateter kullanımı gibi birçok invaziv işlemlerin uygulandığı hastalardır. Antibiyotiklerin kullanımı, yoğun bakımlarda çok fazla olduğundan, özellikle çoğul dirençli etkenlerle infeksiyon riskleri diğer servislere oranla çok fazladır (51).

Villegas ve ark.'a (84) göre 2003 yılında Colombia'da yaptıkları çalışmada yoğun bakım ve diğer ünitelerden izole edilen *K.pneumoniae* suşlarında GSBL üretimini sırasıyla % 32.6 ve % 29.8, *E.coli* suşlarında % 11.8 ve % 8.4 olarak bildirmişlerdir. Türkiye'de yapılan çalışmalar bu veriyi desteklemektedir. Yılmaz ve ark.(85) 2008 yılında İzmir'de yoğun bakımlarda yaptıkları çalışmada hastane infeksiyonu etkeni olan *E.coli* ve *Klebsiella* spp. suşlarında GSBL oranlarını sırasıyla % 56 ve % 63

olarak bildirirken hastane infeksiyonu etkeni olmayan suşlarda bu oranları % 43 ve % 45 olarak saptamışlardır. Çukurova Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi YBÜ'sinde yatan hastalarda gelişen nozokomiyal bakteriyemi etkenleri ile ilgili 2004 yılında yapılan çalışmada, *Klebsiella* izolatlarının %75'i ve *E.coli* izolatlarının % 50'si GSBL pozitif bulunmuştur (86). Adana'da yapılan bir çalışmada hematoloji-onkoloji servisi yoğun bakımlarında yatan hastaların 2005-2007 yıllarını kapsayan üç yıllık bakteriyemi verilerine göre GSBL üretim oranı her yıl için sırasıyla % 70, % 40 ve % 79 olarak bildirilmiştir (87). İstanbul'da 2005-2006 tarihleri arasında GSBL üretimini artıran risk faktörlerinin araştırıldığı bir çalışmada, YBÜ'sinde yatan hastalardan izole edilen suşlarda GSBL üretiminin istatistiksel olarak anlamlı yüksek olduğu bildirilmiştir (% 0'a karşılık % 11.8) (88). Bizim çalışmamızda tüm yoğun bakımlar dikkate alındığında *E.coli* ve *K.pneumoniae* için GSBL sıklığı sırasıyla % 63.8 ve % 64.5 olarak bulunmuştur. Bu oran yoğun bakım ünitelerinde yatan erişkin hastalarda sırasıyla % 53 ve % 57; pediatri yoğun bakım ünitelerinde ise % 85.7 ve % 80 olarak bulunmuştur. Bu verilere göre özellikle pediatri hastalarında gelişen Gram negatif bakteriyemilerde beta-laktam grubu antibiyotiklerin ampirik kullanımında dikkatli olunması gerektiği ortaya çıkmıştır.

GSBL sıklığının servislere göre dağılımını inceleyen çalışmalar da mevcuttur. Cerrahpaşa Tıp Fakültesi'nde 2007-2008 yıllarında bu konuyla ilgili yapılan bir çalışmada, GSBL üreten bakterilerin % 47'sinin dahili, % 33'ünün cerrahi ve % 10'unun yoğun bakım servislerinde bulunan hastalardan izole edildiği bildirilmiştir (89). İnönü Üniversitesi'nde yapılan bir çalışmada kan kültüründe GSBL üreten *E.coli* suşlarının % 17'sinin gastroenteroloji servisinde yatan hastalardan, % 37'sinin yoğun bakım hastalarından izole edildiği bildirilirken, endokrinoloji, genel cerrahi ve üroloji servislerinin her biri için bu oran % 10.5, acil ve onkoloji servisleri için % 5 olarak tespit edilmiştir. Aynı çalışmada Yetkin ve ark.(64) GSBL üreten suşların en çok acil servisten (%14,5) gelen kan kültürlerinden izole edildiğini tespit etmişler, bunu sırasıyla anestezi reanimasyon, yoğun bakım ve gastroenteroloji servisinin (%7.2) izlediğini bildirmişlerdir. Yakupoğulları ve ark.'nın (65) çalışmasına göre GSBL üreten 35 *K.pneumoniae* suşunun 13'ü yoğun bakım, 9'u çeşitli cerrahi klinikler, 8'i pediatri kliniği ve geri kalanı çeşitli dahili kliniklerdeki hastaların kan kültürlerinden izole edilmiştir. İzolatların yaklaşık yarısının (%43) ciddi boyutta beta-laktam antibiyotik kullanımı olan yoğun bakım ünitelerinden izole edilmesinin,

saptanılan yüksek direnç oranlarının başlıca nedeni olabileceği düşünülmüştür. Akyar ve ark.(90) ise GSBL üreten *E.coli* suşlarının yüksek oranda izole edildiği klinikleri, yoğun bakım, genel cerrahi, gastroenteroloji, ortopedi ve kardiyovaküler cerrahi; *Klebsiella* spp. suşlarının ise yoğun bakım, kardiyovaküler cerrahi, iç hastalıkları, genel cerrahi ve göğüs hastalıkları olarak bildirmişlerdir.

Çalışmamızda da yoğun bakımlardaki GSBL pozitifliği servislere göre istatistiksel olarak anlamlı yüksek bulunmuştur. GSBL üreten suşlar; DYBÜ'leri ile dahili servisler; CYBÜ'leri ile cerrahi servisler ve PYBÜ'leri ile pediatri servisler kendi içlerinde ayrı ayrı değerlendirildiğinde her üç grupta da yoğun bakım ünitelerinde istatistiksel olarak yüksek olduğu saptanmıştır. DYBÜ'leri ile CYBÜ'leri arasında GSBL üreten suşlar açısından istatistiksel olarak bir fark saptanmazken, bu fark dahili servislerde cerrahi servislere göre istatistiksel olarak anlamlı yüksek bulunmuştur. Oranlar arasında gözlenen farkın; klinikler arasındaki hasta profili, hastaya uygulanan geniş spektrumlu antibiyotik tedavisi ve süresi, invaziv işlemler ve kateterizasyon uygulanması gibi faktörlerden kaynaklanabileceği düşünülmüştür.

Yapılan çalışmalar GSBL üreten *E.coli* ve *K.pneumoniae* suşlarında antibiyotik direnç oranların GSBL üretmeyen suşlara göre oldukça yüksek olduğunu göstermektedir. GSBL üretiminden sorumlu genlerle diğer direnç genlerinin aynı plazmidlerle taşınmasına bağlı olarak GSBL üreten suşlar aynı zamanda, aminoglikozidler, trimetoprim-sülfametoksazol, kloramfenikol ve tetrasiklin gibi antibiyotiklere de dirençli bulunabilmektedir (53, 56).

Ülkemizde ve yurt dışında yapılan çeşitli çalışmalarda GSBL üreten *E.coli* ve *K.pneumoniae* suşlarında kinolon direncinin GSBL üretmeyenlere göre çok daha yüksek oranda olduğu saptanmıştır. Ayrıca ampisilin, amoksisilin ve trimetoprim-sülfametoksazole karşı direncin de hızla artmakta olduğu görülmekte ve buna antibiyotiklerin yaygın ve yanlış kullanımlarının neden olduğu düşünülmektedir (92). Türk MYSTIC 2007 çalışmasında GSBL üreten *K.pneumoniae* suşlarında siprofloksasine direnç oranı % 40 olarak bildirilmiştir (92). Güdücüoğlu ve ark.(93) yaptıkları çalışmada; GSBL üreten *E.coli* suşlarında siprofloksasin direncini % 77, GSBL üretmeyenlerde % 28; *K.pneumoniae* suşlarında ise aynı sıra ile direnç oranlarını % 16 ve % 12 olarak bildirmişlerdir. Taiwan'da yapılan bir çalışmada GSBL üretmeyen *E.coli* suşlarında siprofloksasin direnci % 26.7, GSBL üreten

suşlarda ise bu oran % 84.6 olarak bildirilmiştir. Aynı çalışmada GSBL üretmeyen *Klebsiella* suşlarında siprofloksasine direnç saptanmamış buna karşın, GSBL üreten suşlardaki direnç % 50 olarak saptanmıştır (94). İtalya’da yapılan bir çalışmada ise GSBL üreten *E.coli* suşlarında kinolon direnci % 92.3, GSBL üretmeyen suşlarda ise bu oran % 41.7 olarak bulunmuştur (95).

Bizim verilerimiz de bu çalışmaları desteklemektedir. Erişkin hastalardan izole edilen GSBL üreten *E.coli* suşlarında siprofloksasin direnci % **82.1** iken GSBL üretmeyenlerde % **28.8**, *K.pneumoniae* suşlarında ise direnç oranları aynı sıra ile %**82.4** ve % **38.9** olarak bulunmuştur. Erişkin hastalarda siprofloksasin direnci, GSBL üreten ve üretmeyen suşlar arasında istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur. Çocuk hastalarda muhtemelen kinolon kullanmamaya bağlı olarak kinolon direnci GSBL üreten *K.pneumoniae* suşlarında görülmemiş olup, GSBL üretmeyenlerde % **16.7** olarak bulunmuştur. Ayrıca GSBL üreten ve üretmeyen *E.coli* suşlarında bu direnç % **33.3** olarak tespit edilmiştir. Erişkinlerden izole edilen suşları ile çocuklardan izole edilen suşlardaki kinolon direnci arasındaki fark da istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur.

GSBL genlerine sahip bakterilerin birçoğunda eş zamanlı olarak aminoglikozid direnç genleri de bulunabildiğinden GSBL üreten bakterilerin sebep olduğu infeksiyonların tedavisinde amionoglikozidler in-vitro duyarlı bulunsa da tek başına kullanılması önerilmemektedir (96). Çalışmamızda erişkin hastalardan izole edilen GSBL üreten *E.coli* ve *K.pneumoniae* suşlarında gentamisin direnci sırasıyla % **28.6** ve % **41.2** olarak belirlenmiş olup GSBL üretmeyen suşlar için bu oranlar sırasıyla %**3.8** ve %**33.3** olarak bulunmuştur. Çocuklardan izole edilen GSBL üreten *E.coli* suşlarındaki gentamisin direnci % **88.9** iken, GSBL üretmeyen suşlarda bu antibiyotiğe karşı direncin olmadığı görülmüştür. Erişkinlerden izole edilen *E.coli* suşları ile çocuklardan izole edilen *E.coli* suşlarındaki gentamisin direnci arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur.

GSBL üreten ve üretmeyen *E.coli* ve *K.pneumoniae* suşlarında piperasillin/tazobaktam direnç durumuna bakıldığında diğer antibiyotiklerde olduğu gibi yüksek direnç oranları görülmektedir. Bununla ilgili olarak yapılan yurt dışı ve yurt içi çalışmaların sonuçlarına göre piperasilin-tazobaktam duyarlılığı % 50-90, amoksisilin klavulanat duyarlılığı %24-85 aralığında bildirilmiştir (65, 91, 97).

Araştırmacılar MYSTIC çalışmalarında GSBL oluşturan *K.pneumoniae* suşlarında piperasillin/tazobaktam direncini Avrupa’da % 61.4 ve Amerika Birleşik Devletleri’nde % 57.9 olarak saptamışlardır. Bu oranlar GSBL oluşturan *E.coli* suşları için Avrupa’da % 27.5 Amerika Birleşik Devletleri’nde % 20 olarak tespit edilmiş ve *K.pneumoniae* ’daki direncin daha yüksek olduğuna dikkat çekilmiştir (101). Türk MYSTIC çalışmasında ise GSBL üreten *E.coli* ve *K.pneumoniae* suşlarında piperasillin-tazobaktama direnç oranları sırasıyla % 21.6 ve % 48 olarak bildirilmiştir (99). Bu sonuçlar GSBL üreten *K.pneumoniae* suşlarındaki piperasillin-tazobaktama direnç oranının bizim ülkemizde bazı ülkelere göre daha düşük olduğunu göstermektedir. Yakupoğulları ve ark.’nın (65) çalışmalarında GSBL üreten *Klebsiella* suşlarına ait en yüksek duyarlılık oranına sahip antibiyotiğin piperasillin-tazobaktam, en düşük aktiviteye sahip olan antibiyotiğin ise ampisilin-sulbaktam olduğu belirlenmiştir. Gioia ve ark. (98) GSBL üreten *Klebsiella* suşlarında piperasillin-tazobaktam kombinasyonunun etkinliğinin çok değişken olduğunu ve duyarlılık oranlarının tazobaktam komponentinin konsantrasyonuna göre değiştiğini tespit etmişlerdir. Çalışmamızda erişkinlerden izole edilen GSBL üreten ve üretmeyen *E.coli* suşlarında piperasillin-tazobaktam direnci sırasıyla % 25 ve % 9.6 olarak bulunmuştur. Çocuklarda GSBL üreten *E.coli* suşlarındaki direnç % 66.7 iken GSBL üretmeyen *E.coli* suşlarında piperasillin-tazobaktam direncine rastlanmamıştır. Erişkin hastalardan izole edilen GSBL üreten ve GSBL üretmeyen *K.pneumoniae* suşlarında piperasillin/tazobaktam direnci sırasıyla % 47.1 ve % 44.4 olarak bulunmuş olup bu sonuçlara göre *K.pneumoniae* suşlarında direncin *E.coli* suşlarına göre belirgin olarak daha yüksek olduğu görülmektedir.

Yetkin ve ark.(64) çalışmalarında GSBL üreten *E.coli* suşlarının duyarlılık oranlarını; imipenem ve amikasin için % 100, piperasillin-tazobaktam için % 46.6 gentamisin için % 70.5 ve trimetoprim-sülfametoksazol için % 58.8 olarak bulduklarını bildirmişlerdir. Amerika Birleşik Devletleri ve diğer ülkelerdeki MYSTIC, Antimicrobial Surveillance Program (SENTRY), Tracking Resistance in the United States Today (TRUST) ve The Surveillance Network (TSN) gibi çalışmalar GSBL üreten *E.coli* ve *K.pneumoniae* ’ye karşı en aktif antibiyotiklerin meropenem ve imipenem olduğunu göstermektedir (91). Fakat son zamanlarda bu gruptaki antibiyotiklerin sık kullanılmalarına bağlı olarak karbapenemlere karşı dirençler de bildirilmeye başlanmıştır (97). Bu konuyla ilgili Türkiye’de yapılan

Çalışmalarda imipeneme karşı direnç oranları GSBL üreten *E.coli* suşları için % 0-1; *Klebsiella* suşları için % 0-6 arasında rapor edilmiştir (30, 89, 99, 100, 103). Karaoğlan ve ark. (101) GSBL üreten *E.coli* ve *Klebsiella* suşlarında, imipeneme karşı direnç oranlarını sırasıyla % 1 ve % 3, ertapeneme karşı % 4 ve % 3 olarak bildirmişlerdir. Hindistan’da yapılan bir çalışmada ertapenem direnci, GSBL üreten *E.coli* suşlarında % 3.2, *K.pneumoniae* suşlarında ise % 5.5 oranında saptanmıştır (102). Karbapenem dirençli *E.coli* ve *K.pneumoniae* suşları bildirilmeye başlanmasına rağmen çalışmamızda izole edilen suşların karbapenemlere duyarlı bulunması hastanemiz açısından sevindirici bir sonuçtur.

Uyanık ve ark.(46) alışmalarında, GSBL üreten *E.coli* ve *K.pneumoniae* suşlarına in-vitro en etkili antibiyotiklerin imipenem ve ertapenem (% 100) olduğunu, ayrıca bu suşları trimetoprim-sulfametoksazole sırasıyla % 77 ve % 80 oranında dirençli bulduklarını bildirmişlerdir. Çalışmamızda GSBL üreten *E.coli* suşlarında, gentamisin, siprofloksasin, trimetoprim-sulfametoksazol direnci, GSBL üretmeyen suşlara göre istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek bulunmuştur. GSBL’ler genellikle tazobaktam, klavulanik asit ve sulbaktam gibi beta laktamaz inhibitörleri ile inhiye olurlar. Bu sebeple GSBL üreten infeksiyonların tedavisinde piperasilin-tazobaktam, amoksisilin-klavulanat, tikarsilin-klavulanat ve sefoperazon-sulbaktam gibi beta laktamaz inhibitör kombinasyonları kullanılabilir. Yapılan çalışmalarda özellikle TEM ve SHV kökenli suşlarda piperasilin-tazobaktam ve sefaperazon-sulbaktamın başarılı bir şekilde kullanılabilirliği bildirilirken, bazı çalışmalarda GSBL üreten bakterilerle oluşan infeksiyonların beta-laktam/beta-laktamaz inhibitör kombinasyonları ile tedavisinde başarısızlıklarla karşılaşıldığı rapor edilmektedir (104, 105). Çalışmamızda GSBL üreten ve üretmeyen *E.coli* suşlarına, beta-laktamaz inhibitörü içeren kombine antibiyotiklerden en etkini olarak piperasilin-tazobaktam bulunmuştur. Çocuk hastalardan izole edilen bu suşlarda, çalışılan her iki beta-laktamaz inhibitörü (tazobaktam, klavulanik asit) içeren antibiyotiğe karşı direnç yüksek çıkmıştır. GSBL üreten ve üretmeyen *K.pneumoniae* suşlarında ise piperasilin-tazobaktam duyarlılığı sırasıyla % 50 ve % 41.7 olarak bulunmuştur.

Tüm bu sonuçlar, GSBL üreten mikroorganizmalarda kullanılabilir pek çok antibiyotik için direnç sorununun olduğunu ortaya koymaktadır. Buna bağlı olarak

GSBL üreten bakteri infeksiyonlarının ampirik tedavisinde kullanılacak antibiyotiğe karar vermek zorlaşmıştır. Bu nedenle ulusal, hastane ve toplumun direnç paternini bilmek önemlidir ve böylece dirençli bakteriler öngörülebilir. Ayrıca bir ilacın in-vitro aktivitesi klinikte her zaman in-vivo aktivitesi ile uyumlu olmayabilir. Bu uyumsuzluk özellikle sefalosporinler, beta-laktamaz inhibitörlü beta-laktamlar (örn piperasilin-tazobaktam ve daha az olarak amoksisilin-klavulanat) ve daha az olarak florokinolonlarda görülmektedir. Bu nedenle ciddi GSBL üreten Enterobacteriaceae infeksiyonlarında karbapenemler, ilk seçilecek antibiyotikler olarak karşımıza çıkmaktadır. Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) (49)'ya göre, GSBL üreten *E.coli*, *K.pneumoniae*, *K.oxytoca* ve *Proteus mirabilis*'i in-vitro duyarlılık verilerine bakılmaksızın penisilinler, sefalosporinler ve monobaktamlara hatta sıklıkla duyarlı görülen dördüncü kuşak sefalosporinlere (sefepim) de dirençli olarak rapor edilmesini önermektedir. Tedavi yönetimi için GSBL üreten Enterobacteriaceae'lerin beta-laktam olmayan antibiyotiklere (florokinolon, aminoglikozid, tetrasiklin, kotrimoksazol vb) direnç durumu her ülke, her şehir hatta hastane için izlenmelidir (3).

Gökahmetoğlu S. ve ark. (106), üç boyutlu yöntem, ÇDST ve E test yöntemlerinin karşılaştırması ile ilgili yaptıkları çalışmada; üç boyutlu yöntem ve ÇDST ile GSBL oranını *K.pneumoniae* ve *E.coli* suşları için sırasıyla % 58 ve % 13, E test yöntemi ile % 58 ve % 9 olarak bulmuşlardır.

GSBL'lerin tanımlanmasında en sık çift disk sinerji ve kombine disk sinerji testi kullanılmaktadır. Steward ve ark (107), 139 GSBL pozitif *K.pneumoniae* suşundan 117'sini (% 84) kombine disk sinerji yöntemiyle pozitif bulmuşlardır. Bunların 104'ünde (% 89) hem sefotaksim hem de seftazidim GSBL'yi belirlemekte, 11'inde (% 9) sadece seftazidim ve 2'sinde (%2) sefotaksimin GSBL'yi belirlemede etkili olduğunu ifade etmişlerdir. Çalışmamızdaki GSBL tanımlanmasında hem ÇDST hem de KDT kullanılmıştır, KDT'inde GSBL pozitif suşların %12.6'i sadece seftazidim / seftazidim-klavulanik asit (CAZ-CAZ KLAV) diski ile tespit edilirken; % 1.5'i sadece sefotaksim / sefotaksim-klavulanik asit (CTX-CTX KLAV) diski ile belirlenmiştir. Çalışmamızda CTX-CTX KLAV da ve CAZ-CAZ KLAV disklerinin birlikte kullanılmasıyla GSBL saptanma oranının arttığı görülmüştür.

## 6. SONUÇLAR

1. Çalışmaya kan kültürü örneklerinden izole edilen **95'i *E.coli* 50'si *K.pneumoniae*** olmak üzere toplam **145** suş dahil edildi. GSBL oranı *E.coli* suşlarında **% 38.9**, *K.pneumoniae* suşlarında **% 52** olarak tespit edildi.
2. Erişkin hastalarda GSBL üreten *E.coli* suşlarının oranı **% 35**, *K.pneumoniae* suşlarının oranı **% 49** olarak bulundu. Pediatrik hastalarda ise her iki bakteri için bu oran **% 60** olarak tespit edildi ve bu fark istatistiksel olarak anlamlı bulundu (**p < 0.05**).
3. Kadınlardan izole edilen *E.coli* suşlarında GSBL görülme sıklığı (**% 53.8**), erkeklere (**% 28.6**) göre istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde yüksek bulundu (**p < 0.05**). *K.pneumoniae* suşlarındaki GSBL sıklığı erkeklerde (**% 60**), kadınlara (**% 44**) göre yüksek olmakla birlikte fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmadı (**p > 0.05**).
4. Çocuk hastalardan izole edilen *E.coli* ve *K.pneumoniae* suşlarında GSBL görülme sıklığı (sırasıyla **% 60**, **% 60**), erişkin hastalardakine (sırasıyla **% 35**, **% 48.6**) göre istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde yüksek bulundu (**p < 0.05**).
5. Yoğun bakım ünitelerinde GSBL üreten *E coli* ve *K.pneumoniae* suşlarının oranı sırasıyla **% 63.8** ve **% 64.5** iken servislerde bu oran her iki bakteri için **% 31.5** olarak bulundu. Fark istatistiksel olarak anlamlı idi (**p < 0.05**). Dahili yoğun bakım üniteleri ile cerrahi yoğun bakım üniteleri arasında GSBL üreten suş oranı açısından istatistiksel olarak bir fark saptanmazken, dahili

servislerde cerrahi servislere göre bu oran istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde yüksek bulundu ( $p < 0.05$ ). Oranlar arasında gözlenen farkın; klinikler arasındaki hasta profili, hastaya uygulanan geniş spektrumlu antibiyotik tedavisi ve süresi, invaziv işlemler ve kateterizasyon uygulanması gibi faktörlerden kaynaklanabileceği düşünüldü.

6. GSBL üreten *E.coli* suşlarında, gentamisin (% 45.9'a karşın % 3.4), siprofloksasin (% 70.3'e karşın % 32.8), trimetoprim-sulfametoksazol (% 56.8'e karşın % 25.9) direnci, GSBL üretmeyen suşlara göre istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek bulundu. GSBL üreten *K.pneumoniae* suşlarında ampisilin (% 84.6'ya karşın % 50) ve amoksisilin-klavulanik asit (% 92.3'e karşın % 50) direnci GSBL üretmeyenlere göre istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek bulundu. Erişkin hastalardan izole edilen GSBL üreten *E.coli* suşlarında siprofloksasin direnci % 82.1 iken GSBL üretmeyenlerde % 28.8; *K.pneumoniae* suşlarında ise direnç oranları aynı sıra ile % 82.4 ve % 38.9 olarak bulundu. Erişkin hastalarda siprofloksasin için, GSBL üreten ve üretmeyen suşlar arasındaki direnç farkı istatistiksel olarak anlamlı bulundu. Çocuk hastalarda kinolon direnci GSBL üreten *K.pneumoniae* suşlarında görülmezken, GSBL üretmeyenlerde % 16.7 olarak bulundu. Ayrıca çocuklarda GSBL üreten ve üretmeyen *E.coli* suşlarında bu direnç % 33.3 olarak tespit edildi. Erişkinlerden ve çocuklardan izole edilen suşlardaki kinolon direnci arasındaki fark da istatistiksel olarak anlamlı bulundu.
7. GSBL üreten ve üretmeyen *E.coli* suşlarında, beta-laktamaz inhibitörü içeren kombine antibiyotiklerden piperasilin-tazobaktam direnci (sırasıyla % 59.5-% 12.1), amoksisilin- klavulanik asite (sırasıyla % 89.2-% 20.7) göre daha düşük oranda bulundu.
8. Suşların hepsi karbapenemlere (imipenem, meropenem, ertapenem) duyarlı bulundu.

9. Kombine disk sinerji testinde GSBL pozitif suşların % 12.6'sı sadece seftazidim / seftazidim-klavulanik asit (CAZ-CAZ KLAV) diski ile tespit edilirken; % 1.5'i sadece sefotaksim / sefotaksim-klavulanik asit (CTX-CTX KLAV) diski ile saptandı. CTX-CTX KLAV da ve CAZ-CAZ KLAV disklerinin birlikte kullanılmasıyla GSBL saptama oranının arttığı görüldü.

Bu sonuçlara göre hastanemizde etkili sürveyans çalışmalarının planlanması, özellikle risk altındaki hastane bölümlerinde daha dikkatli ve ayrıntılı sürveyans çalışmalarının yapılması, geniş spektrumlu beta laktam antibiyotiklerin dikkatli kullanılması, kolonize veya infekte hastaların izolasyon önlemlerinde daha titiz olunması gerektiğini düşünmekteyiz.

## KAYNAKLAR

1. Akova M. Dikkat: Genişlemiş spektrumlu beta-laktamaz (GSBL) var, ANKEM Derg 2004; 18 (Ek 2): 98-103.
2. Taşova Y. Gram negatif enterik bakteri infeksiyonlarının yönetimi, ANKEM Derg 2011;25(Ek 2):34-44.
3. Sanders CC.  $\beta$ -Lactamases of Gram-negative bacteria: New challenges for new drugs, Clin Infect Dis 1992; 14 (5):1089-99.
4. Falagas ME, Karageorgopoulos DE. Extended-spectrum beta-lactamase-producing organisms, J Hosp Infect 2009;73(4):345-54.
5. Bush K. New  $\beta$ -lactamases in Gram-negative bacteria: Diversity and impact on the selection of antimicrobial therapy. Clin Infect Dis 2001; 32 (7):1085-89.
6. Demirdağ K, Kizirgil A, Özden M, Kalkan A, Felek S, Toraman ZA. Hastane ve toplum kökenli Klebsiella pneumoniae ve Escherichia coli suşlarında genişletilmiş spektrumlu beta-laktamaz sıklığının araştırılması, ANKEM Derg 2001;15 (4):748-52.
7. Durmaz R, Durmaz B, Koroglu M, Tekerekoglu MS. Detection and typing of extended-spectrum beta-lactamases in a clinical isolates of family *Enterobacteriaceae* in a medical center in Turkey, Microb Drug Resist 2001; 7 (2): 171-5.
8. Çolakoğlu Ş, Turunç T, Alışkan H, Demiroğlu YZ, Timurkaynak F, Arslan H. Kan kültürlerinden izole edilen E.coli ve K.pneumoniae suşlarında antibiyotik duyarlılığı, “Gür D (ed): 8. Antimikrobik Kemoterapi Günleri” Program ve Özet Kitabı s.220-1, Türk Mikrobiyol Cem. No: 57, İstanbul 2008.
9. Işık F, Arslan U, Tuncer İ. Kan kültürlerinden izole edilen Klebsiella pneumoniae suşlarında genişlemiş spektrumlu beta-laktamaz üretimi ve antibiyotiklere duyarlılıkları, Mikrobiyol Bült 2008; 42(1):131-36.

10. Paterson DL, Bonomo RA Extended-spectrum beta lactamases: A clinical update. Clin Microbiol Rev 2005; 218: 657-86.
11. Ang JY, Ezike E, Asmar BI. Antibacterial resistance, Indian J Pediatr 2004; 71(3): 229-39.
12. Murray PR, Manuel of Clinical Microbiology, 9th ed. Washington , 2007, 670-98.
13. Bilgehan H. Enterobacteriaceae Familyası. Klinik Mikrobiyoloji Özel Bakteriyoloji ve Bakteri Enfeksiyonları Kitabı, Bilgehan H.İzmir, 2000, 1-103.
14. Mederios AA. Beta-lactamases. Br Med Bull 1984; 40 (1) :18-27.
15. Gülay Z. ESBL'lerin tanı yöntemleri. Ünal S, Vahaboğlu H, Leblebicioğlu H, Öztürk R, Köksal İ.(eds). Yeni ve Yeniden Gündeme Gelen Enfeksiyonlar Genişlemiş spektrumlu beta-laktamazlar. Ankara: Bilimsel Tıp Yayınevi; 2004; syf.13-26.
16. Durupınar B. Antibiyotiklere dirençte yeni eğilimler. Klimik Derg; 2001;14 (1): 47-55.
17. Leblebicioğlu H, Usluer G, Ulusoy S, Güncel Bilgiler Işığında Antibiyotikler, Bilimsel Tıp Yayınevi, Ankara 2008; 285-329.
18. Essack SY.The development of beta-lactam antibiotics in response to the evolution of beta-lactamases, Pharmaceutical Research 2001;18 (10):1391-399.
19. Nikaido H. Crossing the envelope; how cephalosporins reach their targets, Clin Microbiol Infect 2000; 6(Suppl 3):22-6.
20. Hancock REW. Resistance mechanisms in pseudomonas aeruginosa and other nonfermentative gram-negative bacteria, Clin Infect Dis 1998;27(Suppl 1): 93-9.
21. Mederios AA. Cooperative evolution of mechanisms of  $\beta$ -lactam resistance. Clin Microbiol Infect 2000; 6(Suppl 3):3-5.
22. Martine Martinez L, Conejo MC, Pascual A et al. Activities of imipenem and cephalosporins against clonally related strains of Escherichia coli hyperproducing chromosomal beta-lactamase and showing altered porin profiles, Antimicrob Agents Chemother 2000;44 (9):2534-36.

23. Poole K. Efflux mediated multiresistance in gram-negative bacteria Clin Microbiol Infect 2004;10 (1):12-26.
24. Opal SM, Mayer KH, Medeiros AA. Mechanisms of antibiotic resistance, In: Mandell GL, Bennett JE, Dolin R, eds. Principles and Practice of Infectious Diseases. 5th ed. New York: Churchill Livingstone. 2000:236- 52.
25. Cornaglia G, Mazzariol A, Fontana R. The astonishing complexity of antibiotic resistance, Clin Microbiol Infect 2000; 6(Suppl 3):93-4.
26. Özsoy MF, Öncül O, Yıldırım A, Pahsa A. Genişlemiş spektrumlu betalaktamazlar: Klinik önemi ve getirdiği sorunlar, Flora 2001;6(Ek 1): 3-23.
27. Bush K, Jacoby G. Nomenclature of TEM  $\beta$ -lactamase, J Antimicrob Chemoter 1997; 39 (1):1-3.
28. Livermore DM, Canton R, Gniadkowski M et al. CTX-M: Changing the face of ESBLs in Europe, J Antimicrob Chemoter 2007; 59(2):165-74.
29. Poirel L, Nordman P. Acquired carbapenem hydrolysing beta-lactamases and their genetic support, Curr Pharm Biotechnol 2002; 3 (2):117-27.
30. Bradford PA. Extended spectrum beta-lactamases in the 21st century. Characterization, epidemiology and detection of this important resistance threat, Clin Microbiol Rev 2001; 14 (4):933-51.
31. Akçam FZ, Gönen İ, Kaya O ve ark. Hastane infeksiyonu etkeni *Pseudomonas aeruginosa*' larda çeşitli antibiyotiklere direnç ve İBL yapımının araştırılması, Klimik Derg 2004; 17(1): 47-9.
32. Günseren F, Mamikoğlu L, Öztürk S, et al. A surveillance study of antimicrobial resistance of gram-negative bacteria isolated from intensive care units in eight hospitals in Turkey, J Antimicrob Chemoter 1999; 43 (4):373-78.
33. Livermore DM. Of pseudomonas, porins, pumps and carbapenems. J Antimicrob Chemoter 2001; 47 (3):247-50.
34. Jacoby GA, Walsh KE, Walker VJ. Identification of extended-spectrum, AmpC, and carbapenem- hydrolyzing beta-lactamases in *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae* by disk tests, Journal of Clin Microbiol 2006;44(6): 1971-76.

35. Turner PJ, Extended-Spectrum b-Lactamase, Clin Infect Dis 2005; 41(Suppl 4):273-75.
36. Lavigne, J. P., H. Marchandin, J. Delmas, N. et al. qnrA in CTX-M-producing *Escherichia coli* from France, Antimicrob Agents Chemother 2006; 50 (12):4224–228.
37. Saladin, M., V. T. Cao, T. Lambert, J. et al. Diversity of CTX-M -lactamases and their promoter regions from *Enterobacteriaceae* isolated in three Parisian hospital, FEMS Microbiol. Lett, 2002; 209(2):161–68.
38. Ünal S, Vahaboğlu H, Leblebicioğlu H, Öztürk R, Köksal İ.(eds). ESBL’lerin genel özellikleri ve ESBL tipleri. In: Yeni ve yeniden gündeme gelen enfeksiyonlar; Genişlemiş spektrumlu beta-laktamazlar. Ankara: Bilimsel Tıp Yayınevi; 2004:syf. 5-13.
39. Stürenburg E, Mack D. Extended spectrum beta lactamases: Implications for the clinical microbiology laboratory, therapy and infection control, Journal of Infect Dis 2003; 47(4): 279-59.
40. Aubert D, Poirel L, Chevalier J, et al. Oxacillinase-mediated resistance to cefepime and susceptibility to ceftazidime in *Pseudomonas aeruginosa*, Antimicrobial Agents Chemother 2001; 45(9): 2615-620.
41. Ângela N, Rafael C, Teresa M, et al. Mutational events in cefotaximase extended-spectrum  $\beta$ -lactamases of the CTX-M-1 cluster involved in ceftazidime resistance, Antimicrob Agents Chemother. 2008; 52(7): 2377–82.
42. Bonnet R. Minireview: Growing group of extended-spectrum  $\beta$ -lactamases: The CTX-M enzymes, Antimicrob Agents Chemother 2004; 48 (1):1-14.
43. Medeiros AA.  $\beta$ - lactamases: Quality and resistance, Clin Microbiol Infect 1997; 3(Suppl 4):452-59.
44. Negri MC, Morrossini MI, Blazquez J, Bacquero F. Antibiotic resistance in hospital infections: The role of newer cephalosporins, Clin Microb Infect 2000; 6(Suppl 3):95-7.

45. Bradford PA, Urban C, Mariano N, Projak SJ, Rahal JJ, Bush K. Imipenem resistance in *Klebsiella pneumoniae* is associated with the combination of ACT-1 a plasmid mediated AmpC beta-lactamase and the loss of an outer membrane porin, Antimicrob Agents Chemother 1997;41 (3):563-9.
46. Uyanık M H, Hancı H, Yazgı H, Karameşe M. Kan kültürlerinden soyutlanan *Escherichia coli* ve *Klebsiella pneumoniae* suşlarında GSBL sıklığı ve ertapenem dahil çeşitli antibiyotiklere in-vitro duyarlılıkları, ANKEM Derg 2010; 24(2):86-91.
47. Pfaller MA, Jones RN, Biedenbach DJ. Antimicrobial resistance trends in medical centers using carbapenems: Report of 1999 and 2000 results from the MYSTIC program, Diagn Microbiol Infect Dis 2001; 41(4):177-82.
48. Philippon A, Arlet G, Lagrange PH. Origin and impact of plasmid mediated extended-spectrum beta-lactamases, Eur J Clin Microbiol Infect Dis 1994;13(Suppl 1): 17-29.
49. Clinical and Laboratory Standards Institute. Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing; Eighteenth Informational Supplement (M 100-S18), CLSI, Wayne PA, 2008.
50. Rodriguez-Bano J, Navarro MD, Romero L et al. Bacteremia due to extended-spectrum b-lactamase producing *Escherichia coli* in the CTX-M era: A new clinical challenge, Clin Infect Dis 2006; 43(11):1407-414.
51. Aydemir H, Yalçı A, Pişkin N ve ark. *Escherichia coli* ve *Klebsiella pneumoniae* suşlarının genişlemiş spektrumlu beta-laktamaz üretme ve antibiyotik direnç oranları , Klimik Derg 2006; 19 (2):63-8.
52. Moland ES, Kim SY, Hong SG, Thomson KS. Newer b-lactamases: Clinical and laboratory implications, Part I, Clin Microbiol Newslett 2008; 30(10):71-7.
53. Pitout JD, Laupland KB. Extended-spectrum beta-lactamase-producing *Enterobacteriaceae*: An emerging public-health concern, Lancet Infect Dis 2008; 8(3):159-66.
54. Moland ES, Kim SY, Hong SG, Thomson KS. Newer b-lactamases: Clinical and laboratory implications, Part II, Clin Microbiol Newslett 2008; 30(11):79-85.

55. Rossolini GM, D'Andrea MM, Mugnaioli C. The spread of CTX-M-type extended-spectrum beta-lactamases, Clin Microbiol Infect 2008; 14(Suppl1):33-41.
56. Koçoğlu E, Karabay O, Koç-İnce N, Özkardeş F, Yıldırım R. Toplum kaynaklı üriner sistem infeksiyonlarından izole edilen *Escherichia coli* suşlarında genişlemiş spektrumlu beta-laktamaz ve bazı antibiyotiklere direnç sıklığının araştırılması, ANKEM Derg 2007; 21(1):5-9.
57. Gür D, Gülay Z, Arıkan Akan Ö, Aktaş Z, Bal Kayacan Ç, Çakıcı Ö, Eraç B, Gültekin M, Ögünç D, Söyletir G, Ünal N, Uysal S. Türkiye’de hastane izolatu gram-negatif bakterilerde yeni beta-laktam antibiyotiklere direnç ve gsbl tipleri: Çok merkezli HİTİT süveyansının sonuçları, Mikrobiyol Bul 2008; 42 (4): 537-44.
58. Eraksoy H, Başustaoglu A, Korten V, et al. Susceptibility of bacterial isolates from Turkey. A report from the Meropenem Yearly Susceptibility Test Information Collection (MYSTIC) program, J Chemother 2007; 19 (6): 650-57
59. Gülay Z. Gram negatif basillerde antibiyotik direnci. 2003-2005 yılında ülkemizdeki durum, "Gür D, Köksal İ, Başustaoğlu AC, Gülay Z (eds): 7. Antimikrobik Kemoterapi Günleri, Program ve Özet Kitabı", s.161-76, Türk Mikrobiyoloji Cemiyeti Yayını No.54, İstanbul, 2006.
60. Gür D, Haşçelik G, Aydın N et al. Antimicrobial resistance in Gram-negative hospital isolates: Results of the Turkish HITIT-2 surveillance study of 2007, J Chemother 2009; 21(4):383-9.
61. Bülüş M., Gürol Y., Bal Ç. Genişlemiş spektrumlu beta-laktamaz oranları:2000-2002 ,TürkMikrobiyol Cem. Derg 2003;33 (1): 31-4.
62. Mumcuoğlu İ, Gündüz T, Baydur H. *Escherichia*, *Klebsiella*, ve *Proteus* suşlarında genişlemiş spektrumlu beta-laktamaz varlığı ve çeşitli antibiyotiklere direnç durumu, ANKEM Derg 2004; 18(1):9-11.
63. Kiremitçi A. Durmaz G., Aybey A., Us T., Akgün Y.,*Escherichia coli* ve *Klebsiella* suşlarında NCCLS tarama ve fenotipik doğrulama yöntemleriyle genişlemiş spektrumlu beta-laktamaz (GSBL) varlığının araştırılması, XXXI. Türk Mikrobiyoloji Kongresi, Kuşadası, 340, 2004.

64. Yetkin G, Kuzucu Ç, Çalışkan A, Ay S. Kan kültürlerinde üreyen *Escherichia coli*'lerin antibiyotik duyarlılıkları, GSBL oranları ve hastane birimlerine göre dağılımı, İÜTF Derg 2006; 13(3): 147-50.
65. Yakupoğulları Y, Toraman ZA, Kızırıl A. Genişlemiş spektrumlu beta-laktamaz üreten kan izolatu klebsiella suşlarına karşı beta-laktamaz inhibitörlü antibiyotiklerin in-vitro etkinliği, ANKEM Derg 2004;18(2):109-12.
66. Köksal F, Sirekbasan S, Ak K, Küçükbasmacı Ö, Samastı M. Kan kültürlerinden izole edilen genişlemiş spektrumlu beta-laktamaz oluşturan *Escherichia coli* ve *Klebsiella pneumoniae* kökenlerinin prevalansı ve antimikrobiyal direnç patternleri, Türk Mikrobiyoloji Cem Derg 2009; 39 (1-2):31-5.
67. Kızırıl A, Yakupoğulları Y, Şenol FŞ, Toraman ZA. Kan kültürü örneklerinde genişlemiş spektrumlu beta-laktamaz üreten enterik basillerin prevalansı ve antibiyotik duyarlılıklarının araştırılması, İnf Derg 2005; 19 (1): 111-14.
68. Çelebi S, Tuncer E, Hacımustafaoğlu M, Özkaya G. Çocuklarda genişlemiş spektrumlu laktamaz üreten *Klebsiella* kan akımı enfeksiyonunda risk faktörleri ve klinik sonuçları: Beş yıllık çalışma, Çocuk Enf Derg 2008; 2 (3) : 84-9.
69. Küçükbasmacı O, Algingil RC, Hamanca O ve ark.: Kan örneklerinden üretilen Gram negatif çomakların antibiyotiklere duyarlılıkları, Türk Mikrobiyol Cem Derg 2007; 37(4):201-3.
70. Nazik H, Oksuz L, Aktaş Gokalp A, Karayay S, Bal Kayacan C, Gürler N: İstanbul Tıp Fakültesi Mikrobiyoloji Laboratuvarı'nda kan kültüründen izole edilen mikroorganizmalar ve antibiyotik duyarlılıkları, "Gür D (ed): 8. Antimikrobik Kemoterapi Günleri" Program ve Özet Kitabı s. 224-5, Türk Mikrobiol Cem yayını No: 57, İstanbul, 2008.
71. Jones RN, Biedenbach DJ, Gales AC. Sustained activity and spectrum of selected extended-spectrum beta-lactams (carbapenems and cefepime) against *Enterobacter spp.* and ESBL-producing *Klebsiella spp.* : Report from the SENTRY antimicrobial surveillance program (USA, 1997 -2000), Int J Antimicrob Agents, 2003; 21(1):1-7.

72. Winokur PL, Canton R, Casellas JM, Legakis N. Variations in the prevalence of strains expressing an extended-spectrum beta-lactamase phenotype and characterization of isolates from Europe, the Americas, and the Western Pacific region, Clin Infect Dis 2001; 32(suppl 2): 94–103.
73. Meyer KS, Urban C, Eagan JA, Berger BJ, Rahal JJ. Nosocomial outbreak of *Klebsiella* infection resistant to late-generation cephalosporins, Ann Intern Med 1993; 119 (5): 353–58.
74. Geng SN, Rui YY, Wang Q, Mou CH, Zhou XH, Zhang J. Analysis of drug resistance spectrum and its mechanism in 1017 clinical bacterial isolates, Di Yi Jun Yi Da Xue Xue Bao 2005;25 (12):1529-532.
75. Ho PI, Tsang DN, Que TL, Ho M, Yuen KY, Comparison of screening methods for detection of extended spectrum beta-lactamases and their prevalence among *E.coli* and *Klebsiella* species in Hong Kong, APMIS 2000;108 (3) :237-40.
76. El-Khizzi NA, Bakheshwain SM. Prevalence of extended –spectrum beta-lactamases among *Enterobacteriaceae* isolated from blood culture in a tertiary care hospital, Saudi Med J 2006; 27(1):37 40.
77. Ko KS, Lee MY, Song JH et al. Prevalence and characterization of extended-spectrum beta-lactamase-producing *Enterobacteriaceae* isolated in Korean hospitals, Diagn Microbiol Infect Dis 2008;61(4):453-9.
78. Edelstein M, Pimkin M, Palagin I, et al. Prevalence and molecular epidemiology of CTX-M extended-spectrum  $\beta$ -lactamase-producing *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae* in Russian hospitals, Antimicrob Agents Chemother 2003; 47 (12) : 3724-32.
79. Hyle EP, Lipworth AD, Zaoutis TE et al. Risk factors for increasing multidrug resistance among extended-spectrum beta-lactamase-producing *Escherichia coli* and *Klebsiella species*, Clin Infect Dis 2005; 40(9):1317-24.
80. Calbo E, Romani V, Xercavins M et al. Risk factors for community-onset urinary tract infections due to *Escherichia coli* harbouring extended-spectrum beta-lactamases, J Antimicrob Chemother 2006; 57(4):780-3.

81. Mendelson G, Hait V, Ben-Israel J, Gronich D, Granot E, Raz R. Prevalence and risk factors of extended-spectrum beta-lactamase-producing *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae* in an Israeli long-term care facility, Eur J Clin Microbiol Infect Dis 2005; 24(1):17-22
82. Pena C, Gudiol C, Tubau F, et al. Risk factors for acquisition of extended spectrum beta-lactamase-producing *E.coli* among hospitalized patients. Clin Microbiol Infect 2006; 12: 279-84.
83. Çelebi S, Yüce N, Çakır D, Hacımustafaoğlu M, Özkaya G: Çocuklarda genişlemiş spektrumlu beta-laktamaz üreten *E.coli* infeksiyonlarında risk faktörleri ve klinik sonuçları; beş yıllık çalışma, Çocuk Enf Derg 2009; 3(1):5-10
84. Villegas MV, Correa A, Perez F, Miranda MC, Zuluaga T, Quinn JP. Prevalence and characterization of extended-spectrum beta-lactamases in *Klebsiella pneumoniae* and *Escherichia coli* isolates from Colombian hospitals, Diagn Microbiol Infect Dis 2004; 49(3):217-22.
85. Yılmaz N, Köse Ş, Ağuş N, Ece G, Akkoçlu G, Kıraklı C. Yoğun bakım ünitesinde yatan hastaların kan kültürlerinde üreyen mikroorganizmalar, antibiyotik duyarlılıkları ve nozokomiyal bakteriyemi etkenleri, ANKEM Derg 2010;24(1):12-9.
86. Candevir A, Hastanemiz yoğun bakımlarında gelişen bakteriyemilerde etkenler ve antibiyotik duyarlılıkları, uzmanlık tezi Çukurova üniversitesi 2004.
87. Kurtaran B, Candevir A, Tasova Y, Kibar F. Hospital-acquired bloodstream Infections in cancer patients between 2005-2007 in a Turkish university hospital, Archives of Clinical Microbiology 2010; 1(2):4-8.
88. Demir N, Gram Negatif Bakterilerde Genişlemiş Spektrumlu Beta-Laktamaz (GSBL) Üretimine Katkıda Bulunan Çeşitli Risk Faktörlerinin Araştırılması, uzmanlık tezi Kartal Eğitim Ve Araştırma Hastanesi, İstanbul 2006.
89. Al-Muhtaseb M, Kaygusuz A, Kan kültürlerinden izole edilen *E. coli* ve *K.pneumoniae* suşlarında GSBL sıklığı, ANKEM Derg 2008; 22(4):175-82.

90. Akyar I, Kocagöz S, Kocagöz T, Sar NS ve ark. Beş yılda izole edilen 15434 *Escherichia coli* ve 3178 *Klebsiella spp.* suşunda genişlemiş spektrumlu beta-laktamaz üretiminin yıllara, kliniklere ve örnek türlerine göre dağılımı, ANKEM Derg 2010; 24(1):34-41.
91. Tolun V, Küçükbasmacı Ö, Törümküney D, Çatal C, Anğ M. Relationship between ciprofloxacin resistance and extended spectrum beta-lactamase-production in *E.coli* and *Klebsiella strains*, Clin Microb Infect 2004; 10(1): 72-5.
92. Korten V, Ulusoy S, Zarakolu P, Mete B. Turkish MYSTIC Study Group. Antibiotic resistance surveillance over a 4-year period (2000–2003) in Turkey: Results of the MYSTIC program, Diagn Microbiol Infect Dis 2007; 59 (4 ):453-7.
93. Gündüçüoğlu H, Baykal S, İzci H, Berktaş M. Genişlemiş spektrumlu beta-laktamaz (GSBL) üreten *Escherichia coli* ve *Klebsiella pneumoniae* suşlarının antibiyotiklere direnci, ANKEM Derg 2007; 21(3):155-60.
94. Chen WY, Jang TN, Huang CH, Hsueh PR. In vitro susceptibilities of aerobic and facultative anaerobic Gram-negative bacilli isolated from patients with intra-abdominal infections at a medical center in Taiwan: Results of the Study for Monitoring Antimicrobial Resistance Trends (SMART) 2002-2006, J Microbiol Immunol Infect 2009; 42(4):317-23
95. Trecarichi EM, Tumbarello M, Spanu T et al. Incidence and clinical impact of extended-spectrum-beta-lactamase (ESBL) production and fluoroquinolone resistance in bloodstream infections caused by *Escherichia coli* in patients with hematological malignancies, J Infect 2009; 58(4): 299-307.
96. Paterson DL. Recommendation for treatment of severe infections caused by *Enterobacteriaceae* producing extended-spectrum beta-lactamases (ESBLs), Clin Microbiol Infect 2000; 6(9):460-63.
97. Goossens H, Grabeinb B. Prevalence and antimicrobial susceptibility data for extended-spectrum beta-lactamase and AmpC-producing *Enterobacteriaceae* from the MYSTIC Program in Europe and the United States (1997–2004), Diag. Microbiol Infec Dis 2005; 53 (4): 257–64.

98. Gioia SB, Yuan M, Hall LMC, Livermore DM. Variable susceptibility to piperacillin-tazobactam amongst *Klebsiella spp.* with extended spectrum beta-lactamases, J Antimicrob Chemother 2003;51 (3):605-12.
99. Güler Ö, Aktaş O, Uslu H. Klinik örneklerden izole edilen bakterilerde beta-laktamaz varlığının ve çeşitli antibiyotik gruplarına karşı duyarlılıklarının araştırılması, ANKEM Derg 2008; 22(2):72-8.
100. Tunçcan ÖG, Ketten DT, Dizbay M, Hızal K. Hastane kaynaklı *Escherichia coli* ve *Klebsiella* suşlarının ertapenem ve diğer antibiyotiklere duyarlılığı, ANKEM Derg 2008; 22(4):188-92.
101. Karaoğlu İ, Zer Y, Süner A, Namıduru M. Bazı *Enterobacteriaceae* türlerine ertapenemin in-vitro etkinliği, ANKEM Derg 2008; 22(4):183-87.
102. Behera B, Mathur P, Das A, Kapil A. Ertapenem susceptibility of extended spectrum beta-lactamase-producing *Enterobacteriaceae* at a tertiary care centre in India, Singapore Med J 2009; 50(6):628-32
103. Köksal F, Samastı M. Kan kültürlerinden izole edilen enterik bakterilerin antibiyotiklere direnç durumu, Klimik Dergisi 2002;15(1) :25-8.
104. Joumana N, Kfoury S, Kanj S.S and Araj G.F. In vitro activity of antimicrobial agents against extended-spectrum beta-lactamase producing *E.coli* and *K.pneumoniae* at a tertiary care center in Lebanon, Am J Infect Control 2005;33 (3):134-36.
105. Pai H. Clinical implications of ESBLs. International Symposium on Antimicrobial Agents and Resistance (ISAAR), p.49-51, 2003.
106. Gökahmetoğlu S, Eşel D, Karaca N. ve ark., *Klebsiella* ve *E.coli* suşlarında Genişlemiş spektrumlu beta-laktamazların belirlenmesinde üç boyutlu yöntem ,çift disk sinerji ve E test yöntemlerinin karşılaştırılması, ANKEM Derg 2001; 15(1):98-102.
107. Steward CD, Rasheed JK, Hubert SK, et al. Characterization of clinical isolates of *Klebsiella pneumoniae* from 19 laboratories using the National Committee for Clinical Laboratory Standards extended-spectrum beta-lactamase detection methods, J Clin Microbiol 2001; 39 (8): 2864-72.

**T.C.**  
**ERCIYES ÜNİVERSİTESİ**  
**TIP FAKÜLTESİ DEKANLIĞI'NA**

..... ait “Kayseri .....”adlı çalışma,  
jürimiz tarafından Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı’nda Tıpta Uzmanlık Tezi  
olarak kabul edilmiştir.

Tarih:

İmza

Başkan:

İmza

Üye:

İmza

Üye:

İmza

Üye

İmza

Üye:

İmza