

**T.C.  
İSTANBUL ÜNİVERSİTESİ  
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**( YÜKSEK LİSANS TEZİ )**

**ESCHERICHIA COLI İZOLATLARINDA ERTAPENEM  
DİRENCİNİN ARAŞTIRILMASI**

**MAILİHABA AILIKEN**

**DANIŞMAN  
PROF. DR. GÖKHAN AYGÜN**

**TIBBİ MİKROBİYOLOJİ ANA BİLİM DALI  
MİKROBİYOLOJİ PROGRAMI**

**İSTANBUL-2012**

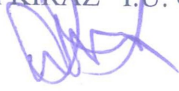
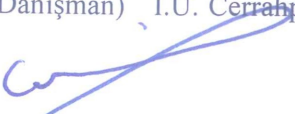


## TEZ ONAYI

İstanbul Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı Mikrobiyoloji Yüksek Lisans Programında Malıhaba AILIKEN tarafından hazırlanan Escherichia Coli İzolatlarında Ertapenem Direncinin Araştırılması başlıklı Yüksek Lisans tezi, yapılan tez sınavında Jürimiz tarafından başarılı bulunarak kabul edilmiştir.

19 / 07 / 2012

### Tez Sınav Jürisi

Ünvanı Adı Soyadı (Üniversitesi, Fakültesi, Anabilim Dalı) İmzası

1. Prof. Dr. Nuri KIRAZ İ.Ü. Cerrahpaşa Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı  

2. Prof. Dr. Gökhan AYGÜN (Danışman) İ.Ü. Cerrahpaşa Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı  

3. Prof. Dr. Ömer KÜÇÜKBASMACI İ.Ü. Cerrahpaşa Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı  

4. Doç. Dr. Hrisi BAHAR İ.Ü. Cerrahpaşa Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı
5. Yard. Doç. Dr. Hüseyin ÇAKAN İ.Ü. Cerrahpaşa Tıp Fakültesi, Adli Tıp Enstitüsü  


**BEYAN**

Bu tez çalışmasının kendi çalışmam olduğunu, tezin planlanmasından yazımına kadar bütün safhalarda etik dışı davranışımın olmadığını, bu tezdeki bütün bilgileri akademik ve etik kurallar içinde elde ettiğimi, bu tez çalışmayla elde edilmeyen bütün bilgi ve yorumlara kaynak gösterdiğimi ve bu kaynakları da kaynaklar listesine aldığımı, yine bu tezin çalışılması ve yazımı sırasında patent ve telif haklarını ihlal edici bir davranışımın olmadığı beyan ederim.

MAIL HABA İLİKEN



## İTHAF

Aileme ithaf ediyorum

## TEŞEKKÜR

Yüksek lisans öğrenimim süresince yardımlarını ve bilgilerini esirgemeyen İstanbul Üniversitesi Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı başkanı değerli hocam Prof. Dr. Nuri KİRAZ'a teşekkürlerimi sunarım.

Eğitimimin her aşamasında anlayışını, değerli vaktini, desteğini ve bilgilerini cömertçe sunan, yarattığı özgür çalışma ortamıyla bu zor süreçte bana yol gösteren değerli danışman hocam Prof. Dr. Gökhan AYGÜN'e sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Tez çalışmama verdikleri hem teorik hem de pratik bilimsel destek için Prof. Dr. Mustafa SAMASTI'ya, Prof. Dr. Müzeyyen MAMAL TORUN'a, Prof. Dr. Bekir KOCAZEYBEK'e, Prof. Dr. Arif KAYGUSUZ'a, Prof. Dr. Ömer KÜÇÜKBASMACI'ya, Prof. Dr. Nevriye GÖNÜLLÜ'ye, Prof. Dr. Murat HÖKELEK'e Doç. Dr. Hrisi BAHAR'a, Yrd. Doç. Dr. Erdal POLAT'a, teşekkürlerimi sunarım.

Çalışmanın Moleküler Biyoloji bölümünde son derece önemli katkıları olan, her çalışmada katkı ve yardımlarını aldığım hocam Doç. Dr. Kenan MİDİLLİ ve Dr. Mert KUŞKUCU başta olmak üzere tüm Moleküler Biyoloji laboratuvarı çalışanlarına teşekkür ederim.

Örneklerin toplanmasında katkılarını esirgemeyen Klinik Mikrobiyoloji ve Enfeksiyon Hastalıkları AD laboratuvarı çalışanlarına ve Anabilim Dalı Başkanı Prof. Dr. Fehmi TABAK ile laboratuvar sorumlusu Mik. Nur HONDUR'a teşekkür ederim.

Çalışmalarımın akademik gelişmelerinden zaman ayırarak bana yardımcı olan Doç. Dr. Suat SARIBAŞ, Doç. Dr. Fatma KÖKSAL, Doç. Dr. Mustafa ASLAN, Doç. Dr. Sevgi ERGİN'e teşekkür ederim.

Tüm eğitim sürecimde ve tez çalışmalarımın yardımlarını esirgemeyen kürsü çalışanlarına teşekkür ederim.

## İÇİNDEKİLER

TEZ ONAYI .....	İİ
BEYAN.....	İİİ
İTHAF .....	İV
TEŞEKKÜR.....	V
İÇİNDEKİLER .....	VI
TABLolar LİSTESİ.....	Vİİİ
ŞEKİLLER LİSTESİ.....	İX
SEMBOLLER / KISALTMALAR LİSTESİ .....	X
ÖZET .....	Xİ
ABSTRACT.....	Xİİ
1. GİRİŞ VE AMAÇ.....	1
2. GENEL BİLGİLER .....	3
2.1. Escherichia coli.....	3
2.1.1. Biyokimyasal özellikleri .....	3
2.2. Üriner Sistem İnfeksiyonları.....	4
2.3. Antibiyotikler.....	6
2.3.1. Beta-laktam antibiyotikler.....	7
2.3.1.1. Penisilinler.....	8
2.3.1.2. Sefalosporinler .....	8
2.3.1.3. Monobaktamlar .....	9
2.3.1.4. Karbapenemler .....	9
2.3.1.5. Ertapenem .....	10
2.4. Genişlemiş Spektrumlu Beta-laktamazlar (GSBL).....	10
2.4.1. TEM Grubu GSBL'ler .....	11
2.4.2. SHV grubu GSBL'ler.....	11
2.4.3. OXA grubu GSBL'ler .....	12
2.4.4. CTX-M grubu GSBL'ler.....	12
2.4.5. GSBL Tarama Testleri .....	13
2.4.6. GSBL Doğrulama Testleri .....	13
2.5. Karbapenemlere direnç: .....	14
2.5.1. Karbapenemazlar .....	14

3. GEREÇ VE YÖNTEM.....	16
3.1. Suşların Tanımlanması ve Saklanması .....	16
3.2. Disk Difüzyon Yöntemi .....	16
3.3. GSBL Doğrulanması.....	17
3.4. Karbapenem Direnci Araştırılması .....	17
3.5. Karbapenemlerin MİK Düzeylerinin Araştırılması: .....	17
3.6. Moleküler Yöntemler ile Betalaktamaz Genlerinin İncelenmesi (40-42).....	18
3.6.1. Bakteri Kökenlerinden DNA İzolasyonu:.....	18
3.6.2. Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PCR): .....	18
3.6.3. Agaroz Jel Elektroforezi: .....	19
3.6.4. Döngüsel DNA Dizi Analizi:.....	20
4. BULGULAR.....	21
5. SONUÇ VE TARTIŞMA .....	27
KAYNAKLAR .....	31
ETİK KURUL KARARI .....	38
ÖZGEÇMİŞ .....	39

**TABLolar LİSTESİ**

Tablo 2-1	Üriner sistem infeksiyon etkenleri .....	5
Tablo 2-2	Antibiyotiklerin ana sınıfları ve örnekleri.....	6
Tablo 2-3	Sefalosporinlerin sınıflandırılması .....	9
Tablo 2-4	GSBL'ler için tarama testi olarak önerilen inhibisyon zonu ve MİK değeri (CLSI 2011) .....	13
Tablo 2-5	Grup B Metalloenzimlerin substrat ve inhibitör profilleri .....	15
Tablo 2-6	Grup A karbapenemazlarda substrat ve inhibitör profilleri .....	15
Tablo 3-1	Polimeraz zincir reaksiyonu karışımı .....	18
Tablo 3-2	Polimeraz zincir reaksiyonu ısı profili .....	19
Tablo 3-3	Tez çalışmasında kullanılan primerler (40–44).....	19
Tablo 3-4	Döngüsel dizileme reaksiyonu karışımı .....	20
Tablo 3-5	Döngüsel dizileme ısı profili .....	20
Tablo 4-1	Karbapenem dirençli bulunan <i>E.coli</i> izolatlarının antibiyogram sonuçları*	21
Tablo 4-2	<i>E.coli</i> suşlarının E-Test MİK sonuçları.....	22
Tablo 4-3	Karbapenem direnci saptanan <i>E.coli</i> izolatlarında saptanan karbapenem direnciyle ilişkili beta-laktamaz genleri.....	23

**ŞEKİLLER LİSTESİ**

Şekil 2-1	Karbapenemazlar.....	14
Şekil 3-1	Çalışmamızda GSBL oluşturan suşlardan bir örnek .....	17
Şekil 4-1	bla-OXA 48 PCR jel elektroforez sonuçları .....	24
Şekil 4-2	bla-KPC PCR jel elektroforez sonuçları (3 ve 6. hat pozitif, 11. hat 100 baz çitlik boyut belirteci).....	24
Şekil 4-3	bla-CTXM PCR jel elektroforez sonuçları (1-10 pozitif 11. 11. hat 100 baz çitlik boyut belirteci).....	24
Şekil 4-4	bla KPC gen bankası analiz sonucu, DNA dizi analizi sonrası enzim bla KPC-2 ile %100 örtüşmüştür.....	25
Şekil 4-5	bla-CTXM DNA dizi analiz sonrası gen bankası analiz sonucu, dizi CTXM- 15 ile örtüşmüştür.....	26

**SEMBOLLER / KISALTMALAR LİSTESİ**

- AK:** Amikasin  
**AMC:** Amoksisilin-Klavulanik asit  
**AMP:** Ampisilin  
**CAZ:** Seftazidim  
**CIP:** Siprofloksasin  
**CLSI:** Clinical Laboratory Standards Institute  
**CTX:** Sefotaksim  
**CXM:** Sefuroksim  
**DNA:** Deoksiribonükleik asit  
**E.coli:** Escherichia coli  
**ETP:** Ertapenem  
**FEP:** Sefepim  
**GN:** Gentamisin  
**GSBL:** Genişlemiş Spektrumlu Beta-Laktamaz  
**İYİ:** İdrar Yolu İnfeksiyonu  
**İMP:** İmipenem  
**MEM:** Meropenem  
**MİK:** Minimal İnhibisyon Konsantrasyonu  
**MRSA:** Metisilin Dirençli S.aureus  
**NET:** Netilmisin  
**PBP:** Penisilin Bağlayan Protein  
**PZR:** Polimeraz Zincir Reaksiyonu  
**SXT:** Trimetoprim-Sulfametoksazol  
**TZP:** Piperasilin Tazobaktam  
**ÜSİ:** Üriner Sistem İnfeksiyonu

## ÖZET

Aılıken M, *Escherichia coli* İzolatlarında Ertapenem Direncinin Araştırılması. İstanbul Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Tıbbi Mikrobiyoloji Ana Bilim Dalı. Mikrobiyoloji Programı. Yüksek Lisans Tezi. İstanbul.2012.

*Escherichia coli*, başta üriner sistem infeksiyonları olarak birçok toplum ve hastane kaynaklı infeksiyonda etken olarak karşımıza çıkmaktadır. Son yıllarda bu etkende kinolon, ko-trimoksazol direnci dışında geniş spektrumlu beta-laktamaz (GSBL) varlığı da artmaktadır. Bu olgularda giderek artan karbapenem kullanımı karbapenem direnci sorununu gündeme getirmiştir. Biz bu çalışmada hastanemizde infeksiyon etkeni olan *Escherichia coli* izolatlarında ertapenem direnci sıklığını ve bu dirence neden olabilecek olası direnç mekanizmalarını belirlemeyi amaçladık.

Bu amaçla İÜ Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Mikrobiyoloji ve Enfeksiyon Hastalıkları ve Klinik Mikrobiyoloji AD Laboratuvarları'nda 2011 Mart-2012 Mayıs arasında etken olarak üretilen tüm *Escherichia coli* izolatları incelendi. CLSI önerileri ile GSBL taraması ve çift-disk difüzyon yöntemi ile doğrulama yapıldı. Ayrıca aynı rehber önerileri ile ertapenem diski kullanılarak direnç araştırıldı ve zonu 23 mm altındaki tüm *Escherichia coli* izolatları ileri incelemeye alındı. Bu bakterilerde E-test ile ertapenem, imipenem, meropenem minimal inhibitör konsantrasyonları (MİK) saptandı. Polimeraz zincir reaksiyonu ile VIM, IMP, KPC, CTX-M, OXA-48, NDM genleri araştırıldı.

Üretilen toplam 4052 *Escherichia coli* izolatında, 852 izolatta (%21) GSBL ve 22 (%0.54) izolatta ise disk difüzyonla ertapeneme direnç belirlendi. Bu bakterilerde ertapenem, imipenem, meropenem için MİK 90 değerleri sırasıyla 32, 3, 2 mg/L bulunmuştur. Bu karbapenem direncinden sorumlu tutulan olası direnç mekanizmaları olarak izolatların beşinde (%22) OXA-48, 19 izolatta (%86) CTX-M geni (beş izolatta diğer direnç genleriyle birlikte) varlığı saptanmıştır. Aynı hastaya ait iki farklı kan kültüründe üreyen *Escherichia coli* izolatında ise KPC-2 geni saptanmıştır. Bu enzim ülkemizde ilk kez tanımlanmıştır. VIM, IMP, NDM direnç genleri saptanmamıştır.

Sonuç olarak çalışmamızda infeksiyon etkeni *Escherichia coli* izolatlarında ertapenem direnci sorunu bulunmaktadır. Laboratuvarlar mutlaka ertapenem ile tarama çalışmaları yapmalıdır. Bu dirençten başlıca OXA-48, CTX enzimleri ve olasılıkla beraberinde dış membran protein defektleri sorumlu olabilir. NDM, VIM, IMP çalışmamızda saptanmasa da KPC-2'nin ilk kez saptanıyor olması ilerisi için kaygı vericidir.

**Anahtar Kelimeler:** *Escherichia coli*, antibiyotik direnci, ertapenem, KPC-2, OXA-48  
Bu çalışma, İstanbul Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birim tarafından desteklenmiştir. Proje No: 17546/2012

## ABSTRACT

Aılıken M, Evaluation of the Resistance to Ertapenem in the *Escherichia coli* Isolates Strains. İstanbul University, Institute of Health Science, Medical microbiology Department. Master thesis. İstanbul. 2012.

The *Escherichia coli* particularly cause the urinary tract infection that provide from society and nosocomial infection as an agent appears to be. In the recent years out of the resistance to the quinolone and co-trimoxazole the broad-spectrum of the beta-lactamase (ESBL) production resistance is also increasing. The increase of carbapenem uses in *E.coli* infection the resistance of it are increase and the problem are raises. In the fact the use of carbapenem continue to increase the question of the resistance to carbapenem is stil on the daily schedule.

In this study they aim to determined the frequency of the resistance to Ertapenem and the possibly different sort of carbapenemase in cause of this resistance in the infectious agent *E.coli* isolated in the Cerrahpasa Medical Faculty. For this purpose we studied the whole isolates strains of the *E.coli* that isolated from the İstanbul University Cerrahpasa Medical faculty Medical Microbiology and Infectious Disease laboratories during the period from March 2011 to May 2012. The confirmation of the test it is done according to the CLSI recommendation ESBL screening was made with double –disc diffusion method. In addition, resistance was investigated using the same guidelines CLSI and with the recommendations of ertapenem disk zone, 23 mm at the bottom of all *E.coli* isolates were examined further. The Minimal Inhibitory Concentration (MIC) was determined using Ertapenem, Imipenem and Meropenem E-test.

By using the polymerase Chain Reaction (PCR) VİM, İMP, KPC, CTX-M, OXA-48 and NDM genes were determined. A total of 4052 isolates of *E.coli*, 852 isolates (%21) produced. ESBL, 22 (%0.54) isolates resistance to ertapenem was determined. Ertapenem, Imipenem, Meropenem MIC<sub>90</sub> values respectively were 32, 3, 2 microgr/L. Among possible mechanisms causing resistance to carbapenem within this result five out of isolates specimens (%22) OXA-48, 19 isolates specimens (%86) CTX-M gene ( five isolates with other genes of resistance together) asset was detected. In the *E.coli* isolates specimens grown by two different blood culture from the same patient KPC-2 enzyme was detected. This enzyme was identified for the first time in Turkey. VİM, İMP, NDM genes no detected.

The Ertapenem resistance of *E.coli* isolates have the problem and the laboratories should necessarily make the screening with Ertapenem. OXA-48, CTX enzymes mainly and possibly together with outer membranes protein defects should be responsible of that resistance. In this study out of the detection of NDM, VİM, İMP, the detection of KPC-2 for the first time was in concern.

**Key words :** *Escherichia coli*, Resistance to antibiotic, Ertapenem, KPC-2, OXA-4

The present work was supported by the Research Fund of İstanbul University. Project No. 17546/2012

## 1. GİRİŞ VE AMAÇ

Antibiyotiklerin klinik kullanıma girmesinden kısa bir süre sonra bakterilerde direnç ortaya çıkmıştır. Geliştirilen her yeni antibiyotikle birlikte bakterilerde de yeni direnç mekanizmaları tanımlanmıştır. Bugün çok iyi bilinmektedir ki antibiyotiklerin bilinçsiz kullanılması dirençli bakterilerin hızla yaygınlaşmasına yol açan en önemli faktördür(1). Bakterilerdeki plazmide bağlı antibiyotik dirençliliğinin kromozomal dirençlilikten çok daha yaygın ve önemli olduğu kanıtlanmıştır. Plazmid ve transpozonlardaki genler kromozomdaki genlerden çok daha hareketlidirler. Bu yapılar aracılığı ile bu genler tür içi, türler arası ve cinsler arasında taşınmaktadır(2).

Ertapenem, Türkiye’de erişkin hastalarda duyarlı mikroorganizmaların neden olduğu orta ve şiddetli infeksiyonların tedavisinde, ayrıca etken mikroorganizma bilinene kadar komplike intraabdominal infeksiyon, komplike deri ve yumuşak doku infeksiyonları, osteomyelit dışı diyabetik ayak infeksiyonları, komplike idrar yolları infeksiyonları, akut pelvik infeksiyonlar ve toplum kökenli pnömonilerin ampirik tedavisinde endikasyon almış ve kullanımda olan bir antibiyotiktir(3).

Ertapenemin Gram-negatif ve Gram-pozitif bakteriler ile anaeroplara dahil geniş bir etki spektrumu bulunmaktadır. Ertapenem, metallo- $\beta$ -laktamaz ve bazı diğer karbapenemazlar hariç geniş spektrumlu  $\beta$ -laktamaz (GSBL) ve ampC tipi  $\beta$ -laktamaz üretenler de dahil olmak üzere betalaktamaz üreten Gram-negatif bakterilere oldukça etkili bulunmuştur(4,5).

GSBL üreten bakteriler karbapenemlere karşı nadiren direnç gösterirler. Klinik uygulamada ampirik olarak aşırı ve uygunsuz karbapenem kullanımı olabilmekte, bunun sonucunda tedavi maliyeti artmakta ve bakteriler karbapenemlere dirençli hale gelebilmektedir. GSBL üreten suşlar ile gelişen infeksiyonların tedavisinde karbapenemler dışında beta-laktam/beta-laktamaz inhibitör kombinasyonları, aminoglikozidler, sulfonamidler ve kinolonlar da kullanılabilir. Ancak plazmid aracılıklı GSBL üreten suşlar aminoglikozidlere, sulfonamidlere ve kinolonlara karşı da direnç geliştirebilir(6,7).

*Escherichia coli* izolatlarında ertapenem direnci konusunda veriler oldukça kısıtlıdır. Her ne kadar ülkemizde özellikle *Klebsiella* spp. izolatlarında OXA-48 ile gelişen karbapenem direnci konusunda veriler olsa da (8) ertapeneme dirençli *E.coli* izolatlarında direnç mekanizması konusunda yeterince bilgi bulunmamaktadır.

Çalışmamızda İstanbul Üniversitesi Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Mikrobiyoloji ve İnfeksiyon Hastalıkları Anabilim Dalı Laboratuvarı'nda saptanan infeksiyon etkeni *Escherichia coli* bakterileri karbapenem direnci varlığı yönünden araştırılmıştır. Amacımız bu direncin sıklığı ve mekanizmaları konusunda bilgi edinip, mücadele, tedavi seçenekleri konusunda yeni öneriler oluşturabilimektir.

## 2. GENEL BİLGİLER

### 2.1. Escherichia coli

#### 2.1.1. Biyokimyasal özellikleri

*Escherichia* cinsinde tıbbi önemi olan *E.coli* bütün insan ve hayvanların bağırsaklarında (dışkılarında) kommensal olarak bulunur. Gram negatif, sporsuz, hareketli ve bazı suşları kapsüllüdür. Laktozu fermente eder. Hemen bütün besi yerlerinde ve fakültatif olarak ürer (9,10).

*E.coli*'nin O, H, K antijenleri ve fimbria antijenleri vardır. O ve K antijenleri bazı bağırsak patojeni *E.coli*'lerin belirlenmesi için önemlidir. Çeşitli K ve fimbria antijenleri bakterinin bağırsakta kolonize olması veya idrar yollarında epitele yapışıp yerleşebilmesini sağlayarak, özellikle K antijenleri sistemik hastalıklara neden olabilmesi yönünden önemlidir(10). Hücre duvarındaki endotoksin septik şoka neden olur. İki enterotoksin üretilir. Isıya dayanıksız toksin (LT) ADP-ribozilyasyonla adenilat siklazı uyarır. Artan c-AMP, klor iyonları ve suyun aşırı dış akımına neden olarak ishal yapar. Isıya dirençli toksin (ST), olasılıkla guanilat siklazı uyararak ishale neden olur. Virülans faktörleri arasında mukozal yüzeylere tutunmada kullanılan pilumlar ve fagositozu önleyen bir kapsül bulunur. Verotoksin (Shiga benzeri toksin), O157: H7 serotipi *E.coli* suşları tarafından üretilen bir enterotoksindir. Bu toksin az pişmiş et yenmesine eşlik eden kanlı ishaller ve hemolitik- üremik sendroma neden olur. Verotoksin, insan ribozomlarının 28S rRNA'sından adenin koparak protein sentezini inhibe eder(9,11). Mannoza dirençli *E.coli*'lerde üst üriner sistem infeksiyonu, mannoza duyarlı *E.coli*'lerde alt üriner sistem infeksiyonu gelişmektedir. Bakteriyel adezyonu bozan bazı üriner maddeler de vardır. Üromukoid bunlardan en önemlisi olup üriner sistemin infeksiyona direnç sisteminde önemli bir yere sahiptir. Bakterilerin epitelyal tutulmalarında özel kan grubu antijenleri sorumludur. Üriner infeksiyon yapan *E.coli* fimbriaları tutunma bakımından fekal *E.coli* fimbriyasına oranla 8-10 kat daha fazladır. Üriner infeksiyonunun değişik anatomik lokalizasyonuna göre *E.coli* fimbriya (P-pili) oranları şöyledir: Akut piyelonefrit %92-100, sistit %19 ve asemptomatik bakteriüri %14'dir(11).

Kalın bağırsak florasında daima bulunan *E.coli* başta idrar yolları olmak üzere çeşitli doku ve organlarda lokal ve genel infeksiyon yapabildikleri gibi bazı suşları

bağırsak hastalıklarına yol açar. *E.coli* en çok idrar yolu infeksiyonlarına neden olur. Toplumda rastlanan idrar yolu infeksiyonlarının %70-80'inde etken *E.coli*'dir(10,12).

İdrar yolu infeksiyonları (İYİ) sepsis, ameliyat yarası infeksiyonları, apse, sinüzit gibi infeksiyonlar, neonatal menenjit ve "turist/seyyah ishali" en sık rastlanılanlarıdır.

Ortamı insan kolonudur; vajen ve üretrayı kolonize eder. Üretradan yukarı doğru tırmanıp idrar yolu infeksiyonlarına neden olur. Neonatal menenjit doğum sırasında alınır; ishalde, dışkı-ağız yolu söz konusudur(11).

Laboratuvar tanısı: Gram boyalı yayma ve kültür. EMB veya MacConkey agarda laktoz- fermente eden koloniler. Epidemiyolojik araştırmalar için organizma, bilinen anti-serumlar kullanılarak O ve H antijenlerine göre tiplendirilir. Hasta serumundaki antikorlara yönelik serolojik testler yetersizdir.

Tedavi: İdrar yolu infeksiyonlarında ampisilin veya sülfonamidler. Menenjit ve sepsis için 3.kuşak sefalosporinler. Seyyah ishalinde, kaybolan sıvının yerine konması etkilidir; trimetoprim-sülfametoksazol belirtilerin süresini kısaltabilir. Antibiyotik direnci bu uygulamada da sorun oluşturabilecek boyutlara gelmektedir.

Korunma: İdrar yolu infeksiyonlarından korunma, idrar kateterizasyonun süre ve sıklığını kısıtlamayı içerir. Sepsisten korunma, damar içi uygulamalarda işleme hemen son verme veya farklı bölgeleri kullanma ile sağlanır. Seyyah ishalinden, bazı ülkelerde sadece iyi pişmiş yemek yeme ve kaynamış su içme ile korunulur. Profilaktik doksisisiklin veya Pepto-Bismol seyyah ishalini önleyebilir. *E.coli*'nin neden olduğu hastalıklardan herhangi birisini önleyecek bir aşı bulunmamaktadır (9-11).

## 2.2. Üriner Sistem İnfeksiyonları

Üriner sistem infeksiyonları (ÜSİ) hekimlerin en sık karşılaştıkları, ciddi maliyetlere neden olan bakteriyel infeksiyonlardır. ÜSİ erişkinlerde bakteriyel infeksiyonların en sık görülen sebebi olup her iki cins ve tüm yaş gruplarında görülebilmektedir. Bu infeksiyonlar kadınlarda hayat boyu erkeklerden daha sık görülmekte ve kadınların yaklaşık %10-35'i yaşamının her hangi bir döneminde ÜSİ geçirmektedir. Bir kez ÜSİ geçiren kadınların yaklaşık %50'sinde infeksiyon yenilenmektedir(12). ÜSİ komplike eden durumlar olmadığında genellikle hızlı tedaviye yanıt veren infeksiyondur. Komplike üriner sistem infeksiyon denildiğinde üriner sistemde darlık, tümör, katater varlığı ya da idrar akımının yeterince olmayışı,

rezidü idrar kalışı anlaşılır. Ayrıca erkeklerde, genelde çocukluk çağında gelişen ÜSİ komplike olgular olarak tanımlanır. Bunların dışında diabet, immunsupresyon, gebelik, altta yatan kronik hastalıklar da komplike edici faktör olarak tanımlanır(13,14).

Üroloji polikliniği özellikle komplike ÜSİ'nin sık görüldüğü ve bunların tedavi sorunlarının yaşandığı birimlerin başındadır. Antibiyotik direnci tedavi sorununu daha da karmaşık hale getirmektedir(15). ÜSİ'de etken çoğunlukla bakterilerdir. Bu infeksiyonların %95 ten fazlası tek bir bakteri ile gelişmektedir. Ancak hastane kökenli olgularda pek çok mikroorganizma etken olabilmektedir. Komplike olmayan sistit ve piyelonefritlerin %80'inden fazlasında *Escherichia coli* etkindir. Koagülaz negatif stafilokoklar genellikle kontaminan olarak kabul edilmekle birlikte, *Staphylococcus saprophyticus* özellikle genç kadınlarda etken olabilmektedir. Komplike üriner sistem infeksiyonlarında enterokoklar, *Pseudomonas* spp. ve diğer gram-negatif bakterilerin sıklığının artmasına karşın, bu grupta *Escherichia coli*'ye en sık rastlanır(13). (Tablo 2-1)

**Tablo 2-1 Üriner sistem infeksiyon etkenleri**

Bakteriler	Komplike	Komplike olmayan
<i>Escherichia coli</i>	%30	%80
<i>Pseudomonas</i> spp	%20	
<i>Enterococcus</i> spp	%20	
<i>Koagülaz negatif stafilokoklar</i>	%15	
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	%5	%3
<i>Proteus mirabilis</i>	%4	%2
<i>Staphylococcus saprophyticus</i>		%10-15

### 2.3. Antibiyotikler

Antibiyotikler kullanıma girmelerinden günümüze kadar uzun bir süreç geçmemesine rağmen bu ilaçlar ile ilgili gelişmeler hızla artmış aynı zamanda kullanımları sırasında ve sonrasında ortaya çıkan önemli sorunlar da gündeme gelmiştir. Bu sorunların başında ise antibiyotiklere karşı gelişen bakteriyel direnç yer almaktadır(16).

Antibiyotikleri çeşitli kriterlere göre sınıflandırmak mümkündür. Antibiyotikler, mikroorganizmalar üzerindeki etki derecelerine, etki mekanizmalarına, kimyasal yapılarına ve farmakokinetik özelliklerine göre olmak üzere çeşitli şekillerde sınıflandırılabilirler. Vücut sıvılarında oluşturdukları konsantrasyonlarda, mikroorganizmalar üzerindeki etki derecelerine göre bakteriyostatikler ve bakterisidler olmak üzere iki şekilde sınıflandırılırlar(17,18). (Tablo 2-2)

**Tablo 2-2 Antibiyotiklerin ana sınıfları ve örnekleri**

<b>Hücre Duvar Sentezini İnhibe Edenler</b>	<b><math>\beta</math> –laktamlar</b>	<b>Glikopeptidler</b>			
	Penisilinler				
	Sefalosporinler				
	Krbapenemler				
<b>Protein Sentezini İnhibe Edenler</b>	<b>Aminoglikozidler</b>	<b>Tetrasiklinler</b>	<b>Makrolidler</b>	<b>Streptograminler</b>	<b>Kloramfenkol</b>
	Streptomisin	Klortetrasiklin	Eritromisin	Virginamisin	
	Neomisin	Oksitetrasiklin	Azitromisin	Quinupristin-	
	Kanamisin		Klaritromisin	Dalfopristin	
	Gentamisin			Pristinamisin	
<b>Nükleik Asit Sentezini İnhibe Edenler</b>	<b>Kinolonlar</b>	<b>Sülfonamidler</b>	<b>Rifamisin</b>		
	Siprofloksasin	Sülfamethoksazol			
	Norfloksasin	-Trimetoprim			

### 2.3.1. Beta-laktam antibiyotikler

Beta-laktam antibiyotikler yan etkilerinin azlığı ve bakterisid olmaları nedeniyle günümüzde en sık kullanılan antibiyotik grubudur. Bakterilerin peptidoglikan tabakasının sentezini bozarak etki ederler. Bakterilerin hücre duvarında yer alan peptidoglikan (müreïn) tabakası mikroorganizmanın yapısını ve bütünlüğünü sağlar. Bu tabaka çapraz bağlanan kısa peptid zincirleri ile sağlamlaşır(19). Antibiyotiklerin klinik kullanıma girmesinden kısa bir süre sonra bakterilerde direnç ortaya çıkmıştır. Geliştirilen her yeni antibiyotikle birlikte bakterilerde de yeni direnç mekanizmaları tanımlanmıştır. Bugün çok iyi bilinmektedir ki antibiyotiklerin bilinçsiz kullanılması dirençli bakterilerin hızla yaygınlaşmasına yol açan en önemli faktördür(1,18). Günümüzde özellikle hastane infeksiyonlarının tedavisinde en sık kullanılan antibakteriyel ajanlar beta-laktam grubu antibiyotiklerdir. Ancak bu durum bu gruba karşı gelişen direnci de arttırmaktadır. Bakteri hücre duvarının yapısında bulunan peptidoglikan tabakası mikroorganizmaya şekil verir ve bütünlüğünü sağlar. Beta-laktam antibiyotikler yapılarında bir beta-laktam halkası taşıyan ve hücre duvar sentezini engelleyen bakterisidal ajanlardır. Peptidoglikan zincirindeki pentapeptidlerin terminalinde yer alan D-alanil D-alanine yapısal benzerlikleri nedeniyle transpeptidasyon işlemini yürüten enzimlere (Penisilin bağlayan protein (PBP)-(transpeptidaz ve karboksipeptidaz)) bağlanarak bakteri hücre duvarında transpeptidasyonu engeller, böylece peptidoglikan sentezini inhibe ederler. Beta-laktam antibiyotiklerin PBP ile reaksiyona girmelerinin nedeni kimyasal yapılarının D-alanil D-alanin molekülüne çok benzemesidir. D-alanil D-alanin molekülünün yerini alarak transpeptidasyonu engellemeleri sonucunda peptidoglikan sentezi bozulan bakteri ozmotik direnç kaybına uğrayarak ölür (20,21).

Beta-laktam antibiotikler başlıca 5 grupta toplanırlar:

1. Penisilinler
2. Sefalosporinler
3. Monobaktamlar
4. Karbapenemler
5. Beta-laktamaz inhibitörleri (klavulonat, sulbaktam, tazobaktam)

### 2.3.1.1. Penisilinler

Penisilinlerin temel yapısı bir beta-laktam halkası, bir tiazolidin halkası ve bir yan zincir içerir (6-aminopenisilanik). Yapılarında bulunan beta-laktam halkası nedeniyle beta-laktam antibiyotikler olarak adlandırılırlar. Bakterilerde hücre duvarı sentezini seçici olarak inhibe ederler. Penisilinler en yüksek etkiyi aktif olarak çoğalan bakteriler üzerinde gösterirler. Bölünmeyen bakterilerde etkileri ya çok azdır ya da hiç yoktur. Bakterisid etkilidirler. Temel yapıya farklı yan zincirlerin eklenmesi sonucu antibakteriyal etki alanları ve farmakolojik özellikleri farklı birçok penisilin türevi elde edilir. Penisilinler beş grupta incelenir(22).

1. Doğal penisilinler (penisilin G, penisilin V)
2. Aminopenisilinler (ampisilin, amoksisilin, bakampisilin)
3. Karboksipenisilinler (tikarsilin, karbenisilin)
4. Üreidopenisilinler (azlosilin, piperasilin, mezlosilin)
5. Penisilinaza drençli penisilinler (metisilin, oksasilin, nafsilin)

### 2.3.1.2. Sefalosporinler

Sefalosporinler, *Cephalosporicum acremonium* isimli bir mantardan elde edilen sürekli geliştirilerek antibakteriyel tedavide yaygın kullanılan antibiyotik türlerinden biridir(18, 23). Beta-laktam halkası yanında penisilindeki beş üyeli tiazolidin halkası yerine sefalosporinlerde altı üyeli bir dihidrotiazin halkası içeren bileşiklerdir. Bu halkada fazladan bulunan karbon atomu nedeniyle üçüncü pozisyona yeni yan dalların eklenmesi yoluyla değişik türevler elde edilebilmiştir. Sefalosporinler de bakteri hücre duvarının peptidoglikan sentezini inhibe ederek bakterisidal etki gösterirler. Bunlar, bazı bakteriler tarafından üretilen beta-laktamaz enzimlerinin inaktive edici etkilerine karşı daha dayanıklıdır. Sefalosporinler birinci, ikinci, üçüncü ve dördüncü kuşak olarak sınıflandırılırlar(20,23). (Tablo 2-3)

Ayrıca son yıllarda özellikle metisiline dirençli *S.aureus* (MRSA) etkinliği nedeniyle bazı sefalosporinler beşinci kuşak olartak tanımlanmaktadır. Seftobiprol ve seftarolin bu gruptaki başlıca antibiyotiklerdir (24).

**Tablo 2-3 Sefalosporinlerin sınıflandırılması**

<b>SEFALOSPORİNLER</b>			
<b>1. kuşak</b>	<b>2. kuşak</b>	<b>3. kuşak</b>	<b>4. kuşak</b>
Sefalotin	Sefuroksim	Sefotaksim	Sefepim
Sefazolin	Sefoksitin	Seftizoksım	Sefpirom
Sefaloridin	Sefamandol	Sefoperazon	
Sefaleksın	Sefonısıd	Seftriakson	
Sefapırın	Sefonarid	Moksolaktam	
Sefradın	Sefaklor	Seftazıdım	
Sefadroksıl	Sefotıam	Sefsulodın	
Sefasetrıl	Sefmetazol	Sefmenoksım	
Seftezol	Sefotetan	Sefpiramıd	

### 2.3.1.3. Monobaktamlar

Aztreonam klinik kullarımdakı tek monobaktamdır. Dığer beta-laktam antibiyotıklerden farklı olarak yapısında beta-laktam halkasına ekli başka bır halka bulunmaz. Sadece Gram-negatıf bakterılere karşı etkınlığı vardır. PBP3'e bağlanarak hücre duvar sentezını inhibe eder. Ancak Gram-pozıtif ve anaerobık bakterılere karşı etkısızdır. Dar spektrumundan dolayı polımıkrobiyal enfeksiyonlarda tek başına kullarılmamalıdır(20,23).

### 2.3.1.4. Karbapenemler

Beta-laktam grubu antibiyotıkler içerisinde en geniş etki spektrumlu grubu olan karbapenemler de PBP'lere bağlanarak hücre duvarı sentezını engellerler. Klinik olarak önemli birçok Gram-negatıf ve Gram-pozıtif, aerob ve anaerob bakterıye karşı etkilidirler. Klinik kullarımda bulunan iki üyesi imipenem, meropenemdir. Karbapenemler sentetik beta-laktam antibiyotıklerdir. Dığer beta-laktam antibiyotıkler gibi bır beta-laktam halkası iğerirler ancak altıncı pozisyonunda trans bağlantılı bır hidroksietil yan zinciri varlığı ile dığer beta-laktamlardan ayrılırlar. Bu yapısal farklılıklarını nedeniyle metallo-beta-laktamazlar dışındaki beta-laktamaz enzimlerine son derece dayanıklıdır. Ancak *Stenotrophomonas maltophilia*, *metisilin dirençli S. aureus* (MRSA) ve *Enterococcus faecium*'u imipeneme direçlidir(20,23).

### 2.3.1.5. Ertapenem

Ertapenem, 1- $\beta$ -metil karbapenem yapısındadır. Kimyasal yapısındaki farklılığından dolayı plazma proteinlerine yüksek oranda bağlanabilir ve yarılanma ömrü yaklaşık 4.5 saat sürmektedir(3). Klinik kullanım için Amerika Birleşik Devletleri'nde 2001, Avrupa'da 2002 ve Türkiye'de 2008 yıllarında onay almıştır. Ertapenem, Türkiye'de erişkin hastalarda duyarlı mikroorganizmaların neden olduğu orta ve şiddetli infeksiyonların tedavisinde, ayrıca etken mikroorganizma bilinene kadar komplike intra-abdominal infeksiyon, komplike deri ve yumuşak doku infeksiyonları, osteomyelit dışı diyabetik ayak infeksiyonları, komplike idrar yolları infeksiyonları, akut pelvik infeksiyonlar ve toplum kökenli pnömonilerin ampirik tedavisinde endikasyon almıştır(3).

Ertapenemin Gram-negatif ve Gram-pozitif bakteriler ile anaeroplara dahil geniş bir etki spektrumu bulunmaktadır. Ancak anyonik karakteri, lipofilik ve yüksek molekül ağırlığı özelliğinden dolayı bakterinin OprD porininden giremez. Bundan dolayı hem *Pseudomonas*'lara hem de *Acinetobacter* gibi nonfermantatif bakterilere etkinliği yoktur veya düşüktür. Bakterinin hedef moleküldeki değişiklikler ertapenem direncinde önemli rol oynar. Penisilin bağlayan proteinlerdeki değişiklik sonucu oluşan metisiline dirençli stafilokok türlerine etkisizdir(3-5).

GSBL üreten ve plazmid aracılığı ile Amp-C sefalosporinaz yapan *E.coli* ve *K.pneumoniae* suşlarına karşı ertapenemin farmakodinamik özelliklerini imipenem, seftriakson ve sefepim ile karşılaştıran bir çalışmada, bu bakteriler için ertapenemin MIK düzeyi diğer antibiyotiklerden çok düşük bulunmuştur. Üstelik sefalosporinlere karşı in-vitro duyarlılığa rağmen, in-vivo antibakteriyal etkinliğin yeterli olmadığı gözlenmiş, ESBL ve Amp-C beta-laktamaz üreten *E.coli* ve *K.pneumoniae* suşları ile oluşan infeksiyonların tedavisinde ertapenemin çok iyi bir seçenek olabileceği sonucuna varılmıştır (3,25).

### 2.4. Genişlemiş Spektrumlu Beta-laktamazlar (GSBL)

Gram-negatif enterik basillerin büyük çoğunluğunda plazmid kontrolünde olan 'geniş' spektrumlu beta-laktamazlar bulunmaktadır(26). Klinik kullanıma 1980'li yıllarda giren "genişlemiş spektrumlu" sefalosporinlerin özellikle nozokimyasal kökenli Gram-negatif infeksiyonlarda yaygın biçimde kullanımı bu antibiyotiklere karşı bakterilerin etkili enzimler üretmelerine yol açmıştır. Direnç gelişen antibiyotikler içinde sefotaksim, seftazidim ve aztreonam başta gelmektedir. Çoğu GSBL, enterik

Gram-negatif bakterilerin klasik plazmid kökenli beta-laktamazları olan TEM-1, TEM-2 ve SHV-1'den köken alır. Bunların arasında en yaygın olanı TEM-1 enzimidir. TEM-2 ve SHV-1 daha nadirdir(26,27). Köken alınan ana enzimin moleküler yapısındaki aminoasitlerden bir ile dördünün yerine farklı aminoasitlerin gelmesi sonucu GSBL'ler oluşur. GSBL oluşturan kökenler ile infeksiyonlar, yüksek mortalite, uzun hospitalizasyon ve yüksek tedavi masraflarına yol açmaktadır(26).

#### 2.4.1. TEM Grubu GSBL'ler

GSBL fenotipi gösteren ilk TEM türevi TEM-3'tür ve 1987 yılında bildirilmiştir(28). TEM-1 gram-negatif bakterilerde en sık bulunan enzimidir ve ampisiline dirençli *E.coli*'lerin %90'ında dirençten bu enzim sorumludur. TEM-1 ve TEM-2 enzimleri sıklıkla transpozonlar tarafından kodlanan dar spektrumlu enzimlerdir; penisilin ve birinci kuşak sefalosporinleri hidroliz edebilir. Ancak oksimino-sefalosporinlere karşı aktiviteleri yoktur. GSBL fenotipi oluşturma yönünden bazı aminoasit değişiklikleri daha önemlidir (29).

TEM grubu beta laktamazlar *E.coli* ve *K.pneumoniae* başta olmak üzere *Enterobacter aerogenes*, *Morganella morganii*, *Proteus mirabilis* ve *Salmonella* spp. gibi *Enterobacteriaceae* üyelerinde sık bulunmaktadır. Nadir de olsa *P.aeruginosa*'da da bildirilmiştir. Buna karşın TEM-4, TEM-21, TEM-24 ve TEM-42 *Pseudomonas aeruginosa*'da, TEM-17 *Capnocytophaga ochracea*'da bildirilmiştir (19,29).

#### 2.4.2. SHV grubu GSBL'ler

Bu grup enzimlerin öncüsü olan SHV-1 enzimi en sık *K.pneumoniae*'da bulunmaktadır. Genellikle de kromozomal bir enzimidir. Ampisilin, tikarsilin ve piperasiline direnç oluşturmaktadır. Oksimino-sefalosporinlere karşı aktivitesi yoktur(30). SHV türü enzimlerin ilk türevi 1983 yılında bulunmuş ve SHV-2 olarak tanımlanmıştır. TEM grubu GSBL'lere kıyasal SHV-1'den köken alan enzim sayısı ve aminoasit değişikliği olan pozisyonlar daha azdır. Bunlarda karakteristik değişiklik 238.pozisyonda glisin yerine serin girmesidir. SHV grubu enzimler *K.pneumoniae*'dan başka *Citrobacter diversus*, *E.coli* ve *P.aeruginosa*'da bildirilmiştir(28).

### 2.4.3. OXA grubu GSBL'ler

OXA grubu enzimler Ambler grubu D'de yer alan ve daha çok *P.aeruginosa*'da bulunan GSBL'lerdir. Bu enzimlerin OXA-1 den OXA-10'a kadar olanları dar spektrumlu olup substrat olarak oksasilin ve kloksasilin tercih ederler(28,30,31). TEM ve SHV'de olduğu gibi aminoasit dizilerindeki nokta mutasyonları sonucu oksiiimino-sefalosporinleri hidrolize edebilen geniş spektrumlu enzimler haline gelmişlerdir(31,32). OXA-11,14,15 ve 16 seftazidim direncine yol açarken, OXA-17 sefotaksime direnç oluşturmaktadır(28). OXA-31 ise sefepime direnç oluştururken seftazidime duyarlıdır. OXA-24 ayrıca karbapenemaz aktivitesi göstermektedir fakat bu GSBL değildir(32). Son yıllarda özellikle enterik bakterilerde OXA-48 kaynaklı ve *Acinetobacter spp* içinde OXA kaynaklı direnç yayılımı dikkati çekmiştir (29).

### 2.4.4. CTX-M grubu GSBL'ler

Bu grup substrat olarak sefotaksimi tercih etmektedir(28,30). Az miktarda da seftazidim hidrolize etmekle birlikte bu durum klinikte dirence yol açacak miktarda değildir. Bu enzimler büyük olasılıkla *Klyvera ascorbata*'nın kromozomal AmpC beta-laktamazından köken almıştır. Sefalosporinleri hidroliz etme özellikleri de büyük olasılıkla enzimin omega halkasındaki ve beta ucundaki yapısal değişiklikler sonucudur(28,29,30). Bu enzimlerin bir diğer özelliği detazobaktamın CTX-M grubuna karşı inhibitör etkisinin klavulonik asite ve sulbaktama göre daha fazla olmasıdır. İlk CTX-M beta-laktamaz 1989 yılında Almanya'da *E.coli*'de bildirilmiştir. Daha sonra da *salmonella spp.* başta olmak üzere birçok *Enterobacteriaceae* türünde saptanmıştır. Günümüzde 40 kadar enzim gösterilmiştir(33). CTX-M-14, CTX-M-3 ve CTX-M-2 en yaygın enzimlerdir. Yayılmaları hem plazmidlere hem de ISEcp 1 gibi hareketli genetik elementlere 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(33). Özellikle son yıllarda CTX-M-15 ile gelişen direncin tüm Dünya'da yayılımı dikkati çekmektedir(29).

#### 2.4.5. GSBL Tarama Testleri

Amerika'nın klinik laboratuvarlar için Standartları Belirleme Komitesi [National Committee for Clinical Laboratory Standarts (NCCLS) yeni adıyla (CLSI)] önerilerine göre; disk difüzyon veya dilüsyon yöntemleriyle sefotaksim, seftriakson, seftazidim, aztreonam veya sefpodoksime karşı duyarlılığın azaldığının saptanması halinde doğrulama testleri uygulanmalıdır(34). (Tablo2-4)

**Tablo 2-4 GSBL'ler için tarama testi olarak önerilen inhibisyon zonu ve MİK değeri (CLSI 2011)**

Antibiyotikler	İnhibisyon zonu (mm)	MİK mg/L
Sefotaksim (10 ug)	≤ 27 mm	1 ug/mL
Seftriakson	≤ 25 mm	1 ug/mL
Seftazidim	≤ 22 mm	1 ug/mL
Aztreonam	≤ 27 mm	1 ug/mL

#### 2.4.6. GSBL Doğrulama Testleri

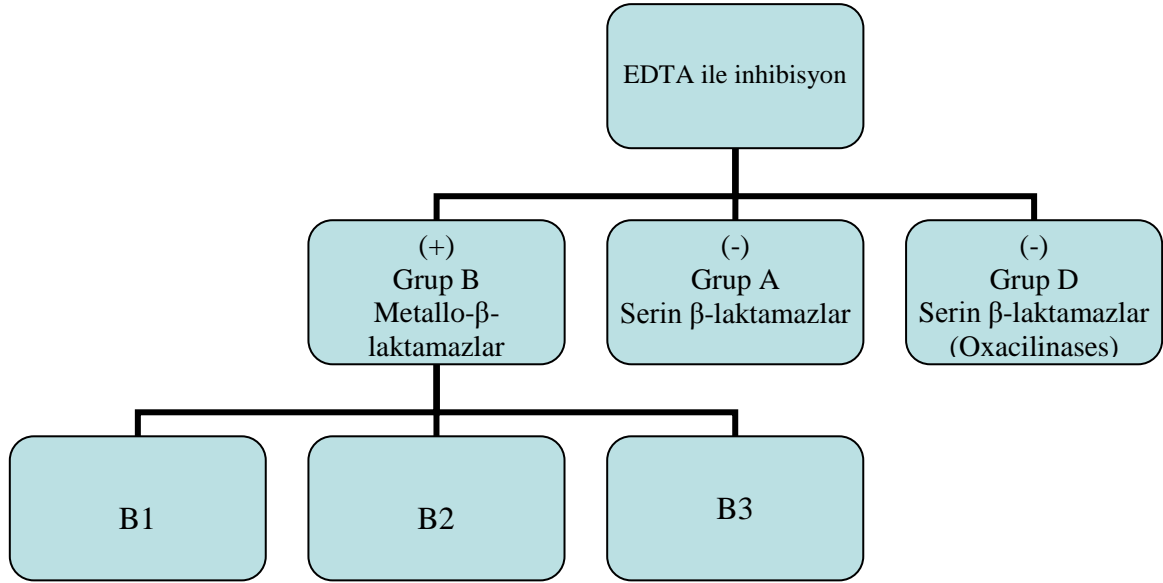
Doğrulama testleri klavulonik asit ve indikatör sefalosporin ve/veya monobaktam arasındaki sinerjinin gösterilmesi temeline dayanmaktadır. Sık olarak kullanılan yöntemler(35);

1. Kombine disk yöntemi
2. Çift disk sinerji yöntemi
3. E test yöntemi
4. Mikrodilüsyon yöntemi
5. Üç boyutlu test

## 2.5. Karbapenemlere direnç:

### 2.5.1. Karbapenemazlar

Beta-laktamlara direnç açısından, çok önemli olan enzim karbapenemazlardır. Karbapenemazlar beta-laktamaz grupları içinde sıklıkla üç farklı grupta görebilir. En basit ayrımı EDTA ile inhibisyonudur. EDTA'ya duyarlı ise grup B metallo-beta-laktamazlar, değilse grup A veya D enzimlerdir(36).(Şekil 2-1)



Şekil 2-1 Karbapenemazlar

GrupB Metallo-β-laktamazlar karbapenemleri hidrolize ederler, beta-laktamaz inhibitörlerine direnç gösterirler. Metallo enzim denmesinin sebebi aktif uçlarında çinko taşımalarıdır. Bu nedenle EDTA'ya duyarlıdır ve birçok penisilin ve sefalosporinlere etkili olmakla birlikte aztreonamı hidroliz etmezler(36).

Grup B Metallo-β-laktamazların bir çok farklı enzimleri olup, onlardan VIM, IMP, GIM, SPM, NDM enzimleri en iyi bilinenleridir (Tablo: 2-5).

**Tablo 2-5 Grup B Metalloenzimlerin substrat ve inhibitör profilleri**

Enzim	Hidroliz profili				İnhibisyon profili	
	Penisilin	Geniş Sp sefalosporin	Aztreonam	Carb.s	EDTA	Klavnik asit
IMP	+	+	-	+	+	-
VIM	+	+	-	+	+	-
GIM	+	+	-	+	+	-
SPM	+	+	-	+	+	-
NDM	+	+	-	+	+	-

Grup A karbapenemazların bazıları kromozomal bazıları plazmid kontrolünde olabilirler. Kromozomal kontrolündeki enzimler SEM, NMC, IMI iken plazmid kontrolündeki enzimler ise, KPC, GES (36). (Tablo 2-6)

**Tablo 2-6 Grup A karbapenemazlarda substrat ve inhibitör profilleri**

Enzim	Hidroliz profili				İnhibisyon profili	
	Pensilin	Gen Sp.sef	Aztreonam	Carb.s	EDTA	Klavnik asit
NMC	+	+	+	+	+	-
IMI	+	+	+	+	+	-
SME	+	±	+	+	+	-
KPC	+	+	+	+	+	-
GES	+	+	-	±	+	-

Bunların metallo enzimlerden farkı EDTA'ya duyarlı olmamalarıdır. Çünkü bunlar metallo enzim değildirler. Bu enzimler klavulanik aside duyarlı olmaları, aztreonamı da hidroliz etmeleriyle (tek enzim dışında) metallo-beta-laktamazlardan farklıdır(36).

Ayrıca günümüzde bu direncin araştırılmasında moleküler biyolojik yöntemler de kullanılmaktadır.

### 3. GEREÇ VE YÖNTEM

Çalışmamızda Mart 2011-Mayıs 2012 tarihleri arasındaki 15 aylık süre içerisinde Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Mikrobiyoloji Laboratuvarlarına (Tıbbi Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji Enfeksiyon Hastalıkları AD) gelen çeşitli klinik örneklerden (İdrar, Hemokültür, Abse...) üreyen ve etken olarak tanımlanan 4052 *E.coli* izolatu ileriye dönük olarak incelendi. Bu bakteriler arasında toplam 19 hastaya ait 22 *E.coli* izolatu ertapeneme dirençli (Disk difüzyon ile < 23 mm) bulundu ve ileri incelenmeye alındı. Üç hastanın 2 farklı örneğinde üreyen bakteri ayrı ayrı izolatlar olabileceği için ayrıca çalışmaya dahil edildi.

#### 3.1. Suşların Tanımlanması ve Saklanması.

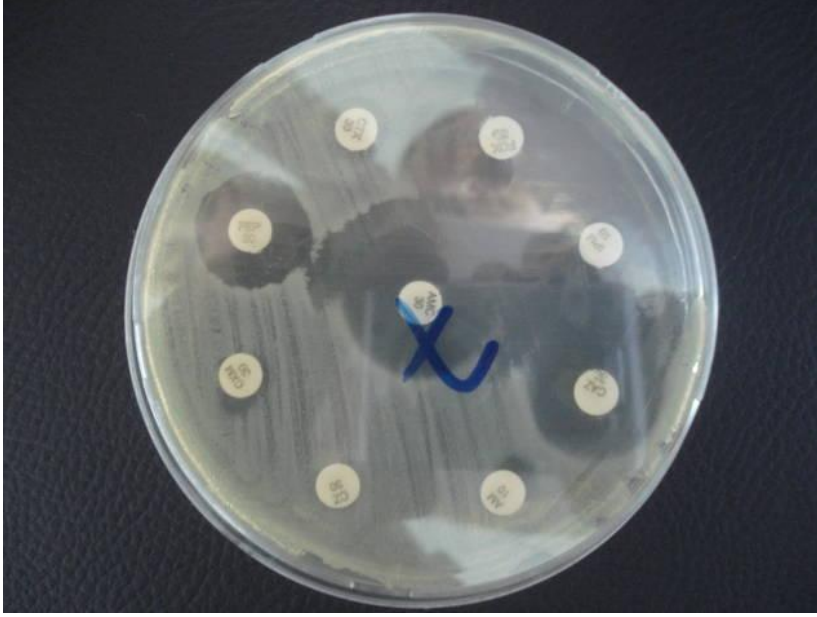
Bakterilerin izolasyonu ve tanımlanmasında klasik yöntemlerin yanında Vitek2 (bioMerieux, Fransa) tam otomatik bakteri tanımlama sistemi kullanıldı. Kültürde üreyen *E.coli*'ler saflaştırarak elde edildi. Aynı hastaya ait izolatlar incelendiğinde örneklerin arasındaki süre yedi günden fazla olduğunda farklı izolat olarak tanımlandı. Elde edilen *E.coli*'ler CLSI önerileri ile disk difüzyon yöntemiyle antibiyotik duyarlılıkları saptandı iki kez herhangi bir karbapeneme karşı 23 mm'den daha küçük zonu olan bakteriler karbapeneme direnci şüphesi ile ileri incelemeye alındı. Çalışmalarda suşlar %10 gliserollü Brucella Broth içinde -70°C'de saklandı.

#### 3.2. Disk Difüzyon Yöntemi

Antibiyotik duyarlılık testleri CLSI M 100-S21 kriterlerine göre değerlendirildi. Saf olarak elde edilen *E.coli* bakterileri 0,5 McFarland bulanıklığında bakteri süspansiyonu hazırlanarak Mueller Hinton agar plaklarına yayıldı. Antibiyotik diskleri (BD, USA), (Oxoid, England) yerleştirildikten sonra 35°C-37°C'lik etüvde 24 saat inkübe edildi. 24 saatlik inkübasyon dan sonra zon çapları CLSI standartlarına göre ölçüldü. Sefoksitine duyarlı, üçüncü kuşak sefalosporinlere dirençli suşlar ve üçüncü kuşak sefalosporinlerde zon çapında daralma saptanan etkenler GSBL üretimi yönünden ileri incelemeye alındı(34).

### 3.3. GSBL Doğrulanması

Sefoksitine duyarlı, üçüncü kuşak sefalosporinlere dirençli suşlar ve üçüncü kuşak sefalosporinlerde zon çapında daralma saptanan etkenler GSBL üretimi yönünden ileri incelemeye alındı. Bu bakterilerde Amoksisilin-Klavulanik asit ile çift disk sinerji yöntemiyle zonlarda genişleme saptananlar GSBL üreten olarak tanımlandı (37-39). Çalışmalarda standart köken olarak ATCC 25922 kökeni kullanıldı.



Şekil 3-1 Çalışmamızda GSBL oluşturan suşlardan bir örnek

### 3.4. Karbapenem Direnci Araştırılması

Üreyen tüm bakterilerde CLSI önerileri ile karbapenem direnci araştırıldı(34). Bu amaçla yirmi dört saatlik taze kültür pasajlarından saf olarak elde edilen bakteri kolonilerinden 0,5 McFarland bulanıklığında bakteri süspansiyonu hazırlandı ve standart disk difüzyon yöntemi uygulandı. Tüm bakteriler Ertapenem 10 ug diskleri ile değerlendirildi ve < 23 mm olanların tümü ertapenem dirençli olarak kabul edilerek ikinci kez tekrarlanan disk difüzyon incelemesinde aynı sonuç alındığında karbapenem direnci şüphesi olarak ileri değerlendirmeye alındı.

### 3.5. Karbapenemlerin MİK Düzeylerinin Araştırılması:

GSBL saptanan, ertapenem zon çapı < 23 mm olan yirmi dört saatlik taze kültür pasajlarından saf olarak elde edilen bakteri kolonilerinden 0,5 McFarland bulanıklığı bakteri süspansiyonu hazırlanarak steril eküvyon ile önceden yüzeyi kurutulan Mueller Hinton agar plaklarına yayıldı. Ardından E-Test aplikatörü ile her bir bakteri suşu için ayrı petrilere imipenem, meropenem E-Test stripleri ve ertapenem E-test stripleri

( Liofilchem, Italy) yerleştirildi. 35°C-37°C'lik etüvde 24 saat inkübe edildi. Bu süre sonunda üretici firmanın öneriliri doğrultusunda suşların MİK değerleri belirlendi. Strip etrafındaki elipsin sonucu MİK değeri olarak okundu. Çalışmalarda standart köken olarak ATCC 25922 kökeni kullanıldı.

### 3.6. Moleküler Yöntemler ile Betalaktamaz Genlerinin İncelenmesi (40-42)

#### 3.6.1. Bakteri Kökenlerinden DNA İzolasyonu:

1,5 ml'li Ependorf tüp içine 25 µl steril, DNaz, RNaz içermeyen distile su konulduktan sonra müllerhinton agarda hazırlanan 24 saatlik taze kültürden 1 µl'lik loop dolusu koloni alınarak 1,5 ml'li ependorf tüp içinde süspanse edildi ve süspanسیونun üstüne 25 µl 0,1N NaOH eklenerek karıştırıldı. Karışım 95-100°C'de (kaynar su banyosu) 10 dakika inkübe edildikten sonra hızla buz üstüne alındı ve 5 dakika beklendi. Ortam pH'sını ayarlamak üzere lizatın üzerine 18 µl 0,5M Tris-HCl (pH 8,0) eklendikten sonra 400 µl DNaz, RNaz içermeyen distile su ile son hacim yaklaşık 450 µl'ye tamamlandı. Daha sonrasında hücre artıklarının çökmesi için lizat 14.000 rpm'de (maksimum santrifüj hızı) 3 dakika çevrildi ve supernatant polimeraz zincir reaksiyonları için hedef olarak kullanıldı(40). Nükleik asit izolasyonundan sonra örnekler testler alışılıncaya kadar -20°C'de saklandı.

#### 3.6.2. Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PCR):

Nükleik asit ekstraksiyonu sonrası elde edilen ürünlerdeki beta-laktamaz gen bölgelerinin çoğaltılması Tablo 3-1'de verilen reaksiyon karışımı hazırlanarak Tablo 3-2'de belirtilen ısı profili ile Tablo 3-3'deki primerler kullanılarak gerçekleştirildi.

**Tablo 3-1 Polimeraz zincir reaksiyonu karışımı**

Tanım	Miktar
10 x PCR Buffer	2,5 µl
MgCl <sub>2</sub>	1,5 µl
dNTP	0,5 µl
Primer Düz*	0,5 µl
Primer Ters*	0,5 µl
Taq Polimeraz (5U/µl)	5 µl
Nükleik asit izolasyon ürünü	5 µl
Toplam	25 µl

\* Her bir enzim için kullanılan primerler ve dizileri Tablo 3-3'de verilmiştir (her bir primerin konsantrasyonu 25 pmol/µl olarak ayarlanmıştır)

**Tablo 3-2 Polimeraz zincir reaksiyonu ısı profili**

Tanım	Isı	Süre	Döngü Sayısı
İlk Denatürasyon/Aktivasyon	95 °C	02:00	1
	95 °C	00:30	
Döngüsel çoğaltma	Bağlanma*	00:45	40
	72 °C	01:30	
Son Bekleme	72 °C	05:00	1
	8 °C	Sonsuz	1

\*Her bir primer çifti için Tablo 3-3'de verilmiştir.

**Tablo 3-3 Tez çalışmasında kullanılan primerler (40–44).**

Betalaktamaz	Primer İsmi*	Dizisi	T <sub>m</sub> (°C)	Gen Bankası	Pozisyon	Ürün (Baz Çifti)
<i>blaVIM</i>	Pan_VIM_Fw	TTCTCGCGGAGATTGARAAGC	54	JN819277	219-239	264
	Pan_VIM_Rev	TTGTCGGYYGAATGCGCAGC			483-464	
<i>blaIMP</i>	Pan_IMP_Fw	GGAATAGAGTGGCTTAAAYTCTC	50	GU207399	372-393	188
	Pan_IMP_Rev	ARCCAAACYACTASGTTATC			560-543	
<i>blaOXA-48</i>	OXA-48_Fw	GCGTGTATTAGCCTTATCGGC	52	JN626286	5518-5537	722
	OXA-48_Rev	RGGCATATCCATATTCATCGC			6240-6220	
<i>blaCTXM</i>	CTXM_Fw	ATCTGACGCTGGGTAAAGC	50	JQ686201	695-713	162
	CTXM_Rev	ATATCGTTGGTGGTGCCATA			857-838	
<i>blaNDM</i>	NDM_Fw	GGGCAGTCGCTTCCAACGGT	55	JQ734687	212-231	475
	NDM_Rev	GTAGTGCTCAGTGTCGGCAT			687-668	
<i>blaKPC</i>	KPC_Fw	GCTGTCTGTCTCTCATGGCC	55	JQ867396	394-414	836
	KPC_Rev	AATCCCTCGAGCGCGAGTCTA			1230-1210	

\*Fw: Düz yönlü primer, Rev: Ters yönlü primer

### 3.6.3. Agaroz Jel Elektrofrez:

Polimeraz zincir reaksiyonundan sonra PCR ürünlerinin analizi %1,5 agaroz jel elektrofrez kullanılarak yapıldı, PCR ürünlerinin boyutlarının karşılaştırılması için her bir yürütmeye 100 baz çiftlik standart konuldu, sonuçlar UV tablasında görüntüledi ve dijital kamera ile kaydedildi. Şüpheli görülen bazı bantlar, CTX-M bantları ve Türkiye’de ilk defa tanımladığımız bla-KPC geni DNA dizi analizi ile doğrulandı.

### 3.6.4. Döngüsel DNA Dizi Analizi:

PCR sonrası elde edilen ve şüpheli olan bantlar ile enzimlere ait pozitif bantlar DNA dizi analiz işlemine tabi tutuldu. Bu amaçla PCR ürünleri öncelikle EZ-10 Spin Column DNA Gel Extraction Kit. (BioBasic, Kanada) ticari kiti kullanılarak saflaştırıldı. Daha sonrasında Tablo 3-4’de verilen reaksiyon karışımı hazırlanarak PCR ürünleri Tablo 3-5’de verilen ısı profilinde döngüsel dizileme işlemine tabi tutuldu.

**Tablo 3-4 Döngüsel dizileme reaksiyonu karışımı**

Tanım	Miktar
BigDye Terminator v3.1 Mix	2 µl
5x Sequencing Buffer	1 µl
Primer*	1 µl
PCR Ürünü	6 µl
Toplam	10 µl

\* Her bir enzim için ayrı tek yönlü primer (3.2 pmol/µl)

**Tablo 3-5 Döngüsel dizileme ısı profili**

Tanım	Isı	Süre	Döngü Sayısı
İlk Denatürasyon/Aktivasyon	95 °C	10:00	1
	95 °C	00:30	
Döngüsel Dizileme	50 °C	00:30	40
	60 °C	03:00	
Son Bekleme	8 °C	Sonsuz	1

Dizileme reaksiyonları sonrasında dizileme ürünleri Sephadex G-50 fine kolonları kullanılarak saflaştırıldı ve ABI 310 genetik analiz cihazında okumaya tabi tutuldu. Elde edilen ham veriler Sequencing Analysis yazılımı kullanılarak baz isimlendirme işlemi gerçekleştirildi ve sonrasında DNA Star yazılımı ile dizilerin edisyon işlemi gerçekleştirildi. Edisyonu tamamlanan diziler gen bankasında BLAST işlemine tabi tutularak eşleştikleri enzimler bulundu.

#### 4. BULGULAR

Mart 2011-Mayıs 2012 tarihleri arasında Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Mikrobiyoloji Laboratuvarlarına gelen çeşitli örneklerden (İdrar, Hemokültür, Abse...) üretilerek etken olarak yorumlanan toplam 4052 *Escherichia coli* izolatu incelenmiştir. Bu bakteriler arasında 852 (%21) GSBL pozitifliği saptandı. Tüm etkenler arasında toplam 22 (%0.54) *Escherichia coli* izolatında ise ertapeneme direnç belirlendi. Bu 22 izolat incelendiğinde Toplam 20 hastaya ait 22 farklı izolat olduğu saptandı. Bu izolatlara antibiyogram sonuçları tabloda (Tablo 4-1) belirtilmiştir.

**Tablo 4-1 Karbapenem dirençli bulunan *E.coli* izolatlarının antibiyogram sonuçları\***

	CIP	CTX	FEP	CXM	GN	AK	SXT	CAZ	AMP	AMC	NET	TZP	İMP	ETP
MRH1	R	R	R	R	S	S	R	R	R	R	S	R	S	R
MRH2	S	R	S	R	S	S	R	S	R	R	S	R	S	R
MRH3	S	R	R	R	S	S	R	R	R	R	S	R	S	R
MRH4	R	R	R	R	R	S	S	R	R	R	S	S	S	R
MRH5	I	R	R	R	S	S	R	R	R	R	S	S	S	R
MRH6	S	R	R	R	S	S	R	R	R	R	S	R	S	I
MRH7	S	R	I	R	S	S	R	S	R	S	S	S	S	R
MRH8	R	R	S	R	R	S	S	R	R	R	S	R	S	R
MRH9	R	R	R	R	S	S	R	R	R	R	S	I	S	R
MRH10	R	R	R	R	R	I	R	R	R	R	R	R	S	R
MRH11	S	R	S	R	R	S	R	R	R	R	S	S	S	R
MRH12	S	R	R	R	S	S	R	R	R	S	S	S	S	R
MRH13	R	R	R	R	R	S	R	R	R	I	R	R	S	I
MRH14	R	R	R	R	R	S	R	R	R	R	S	R	S	I
MRH15	R	R	R	R	S	S	S	R	R	S	S	S	S	R
MRH16	R	R	R	R	R	S	R	R	R	S	S	S	S	I
MRH17	R	R	R	R	R	S	R	R	R	I	S	S	S	I
MRH18	S	R	R	R	R	S	R	R	R	R	S	R	S	R
MRH19	R	R	R	R	R	S	R	R	R	I	S	S	S	I
MRH20	S	R	R	R	S	S	R	R	R	S	S	S	S	I
MRH21	S	R	R	R	R	S	R	R	R	R	S	R	S	I
MRH22	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	I	S	I

\* Antibiyotik kısaltmaları kısaltmalar bölümündedir

S: Duyarlı, R: Dirençli, I: Orta duyarlı (CLSI 2011)

**Tablo 4-2** *E.coli* suşlarının E-Test MİK sonuçları

	İMP	MEM	ETP
MRH1	2	4	32
MRH2	4	2	0,50
MRH3	3	1,5	32
MRH4	1,5	0,38	0,75
MRH5	0,75	0,25	8
MRH6	3	1,5	32
MRH7	0,19	0,016	0,032
MRH8	0,125	0,032	0,047
MRH9	0,125	0,016	0,19
MRH10	0,38	0,25	2
MRH11	0,25	0,023	0,75
MRH12	0,25	0,016	0,25
MRH13	0,19	0,19	4
MRH14	0,75	0,125	0,75
MRH15	0,19	0,032	0,25
MRH16	0,19	0,19	2
MRH17	0,125	0,064	0,25
MRH18	4	2	1
MRH19	0,125	0,064	0,25
MRH20	0,50	0,50	8
MRH21	2	0,25	2
MRH22	0,25	0,50	4

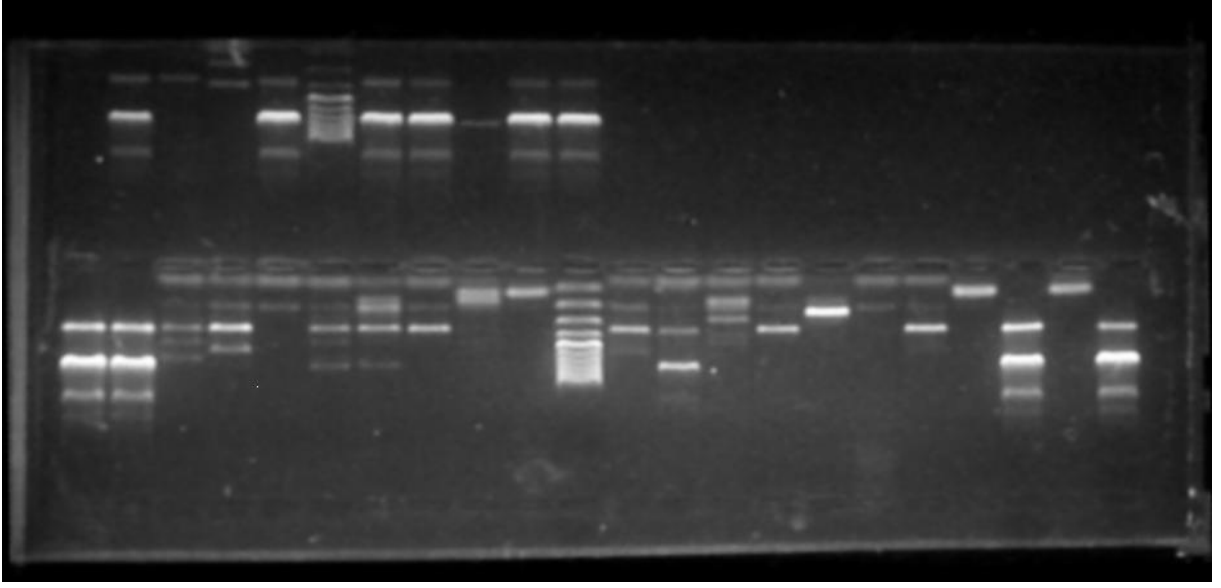
E-Test yöntemi ile 22 *E.coli* suşunun imipenem için MİK<sub>90</sub> değeri 3 mg/L, meropenem için MİK<sub>90</sub> değeri 2 mg/L, ertapenem için MİK<sub>90</sub> değeri 32 mg/L bulunmuştur. Disk difüzyonda dirençli bulunan fakat MİK çalışmalarında duyarlı sonuç veren üç izolat (MRH 7, MRH 8, MRH 9) direnç yapılarını kaybettiği ya da belirgin olarak gösteremediği yönünde yorumlanmıştır.

**Tablo 4-3 Karbapenem direnci saptanan *E.coli* izolatlarında saptanan karbapenem direnciyle ilişkili beta-laktamaz genleri**

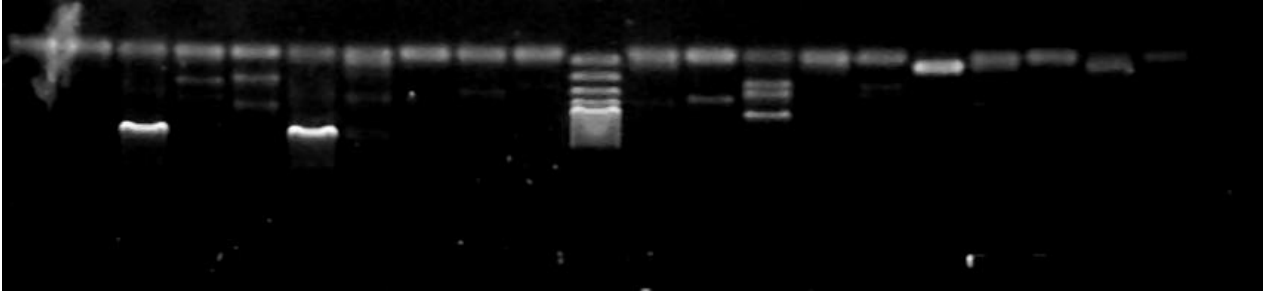
Köken			Beta Laktamaz					
LabNo	Köken	Kodu	<i>blaNDM</i>	<i>blaOXA-48</i>	<i>blaIMP</i>	<i>blaVIM</i>	<i>blaKPC</i>	<i>CTXM-15</i>
1	<i>E. coli</i>	MRH1	Saptanmadı	<b>POZİTİF</b>	Saptanmadı	Saptanmadı	Saptanmadı	<b>POZİTİF</b>
2	<i>E. coli</i>	MRH2	Saptanmadı	<b>POZİTİF</b>	Saptanmadı	Saptanmadı	Saptanmadı	<b>POZİTİF</b>
3	<i>E. coli</i>	MRH3	Saptanmadı	Saptanmadı	Saptanmadı	Saptanmadı	<b>POZİTİF</b>	<b>POZİTİF</b>
4	<i>E. coli</i>	MRH4	Saptanmadı	Saptanmadı	Saptanmadı	Saptanmadı	Saptanmadı	<b>POZİTİF</b>
5	<i>E. coli</i>	MRH5	Saptanmadı	Saptanmadı	Saptanmadı	Saptanmadı	Saptanmadı	<b>POZİTİF</b>
6	<i>E. coli</i>	MRH6	Saptanmadı	Saptanmadı	Saptanmadı	Saptanmadı	<b>POZİTİF</b>	<b>POZİTİF</b>
7	<i>E. coli</i>	MRH7	Saptanmadı	Saptanmadı	Saptanmadı	Saptanmadı	Saptanmadı	<b>POZİTİF</b>
8	<i>E. coli</i>	MRH8	Saptanmadı	Saptanmadı	Saptanmadı	Saptanmadı	Saptanmadı	<b>POZİTİF</b>
9	<i>E. coli</i>	MRH9	Saptanmadı	Saptanmadı	Saptanmadı	Saptanmadı	Saptanmadı	<b>POZİTİF</b>
10	<i>E. coli</i>	MRH10	Saptanmadı	Saptanmadı	Saptanmadı	Saptanmadı	Saptanmadı	<b>POZİTİF</b>
11	<i>E. coli</i>	MRH11	Saptanmadı	<b>POZİTİF</b>	Saptanmadı	Saptanmadı	Saptanmadı	Saptanmadı
12	<i>E. coli</i>	MRH12	Saptanmadı	Saptanmadı	Saptanmadı	Saptanmadı	Saptanmadı	<b>POZİTİF</b>
13	<i>E. coli</i>	MRH13	Saptanmadı	Saptanmadı	Saptanmadı	Saptanmadı	Saptanmadı	<b>POZİTİF</b>
14	<i>E. coli</i>	MRH14	Saptanmadı	Saptanmadı	Saptanmadı	Saptanmadı	Saptanmadı	<b>POZİTİF</b>
15	<i>E. coli</i>	MRH15	Saptanmadı	Saptanmadı	Saptanmadı	Saptanmadı	Saptanmadı	<b>POZİTİF</b>
16	<i>E. coli</i>	MRH16	Saptanmadı	Saptanmadı	Saptanmadı	Saptanmadı	Saptanmadı	<b>POZİTİF</b>
17	<i>E. coli</i>	MRH17	Saptanmadı	Saptanmadı	Saptanmadı	Saptanmadı	Saptanmadı	<b>POZİTİF</b>
18	<i>E. coli</i>	MRH18	Saptanmadı	<b>POZİTİF</b>	Saptanmadı	Saptanmadı	Saptanmadı	<b>POZİTİF</b>
19	<i>E. coli</i>	MRH19	Saptanmadı	Saptanmadı	Saptanmadı	Saptanmadı	Saptanmadı	<b>POZİTİF</b>
20	<i>E. coli</i>	MRH20	Saptanmadı	Saptanmadı	Saptanmadı	Saptanmadı	Saptanmadı	Saptanmadı
21	<i>E. coli</i>	MRH21	Saptanmadı	<b>POZİTİF</b>	Saptanmadı	Saptanmadı	Saptanmadı	Saptanmadı
22	<i>E. coli</i>	MRH22	Saptanmadı	Saptanmadı	Saptanmadı	Saptanmadı	Saptanmadı	<b>POZİTİF</b>

Bu sonuçlarla olguların beşinde OXA-48 belirlenmiş ve bunun karbapenem direnci ile ilişkili olduğu düşünülmüştür (PCR sonrası jel elektroforez sonuçları, Şekil 4-1 bla-OXA48, Şekil 4-2 bla-KPC ve Şekil 4-3 bla-CTXM sonucu). Aynı hastaya ait iki kan kültüründe üreyen *E.coli* izolatlarında ise KPC-2 enzimi saptanmıştır (Şekil 4-4 bla-KPC gen bankası analiz sonucu). Bu enzim ülkemizde ilk kez tanımlanmıştır.

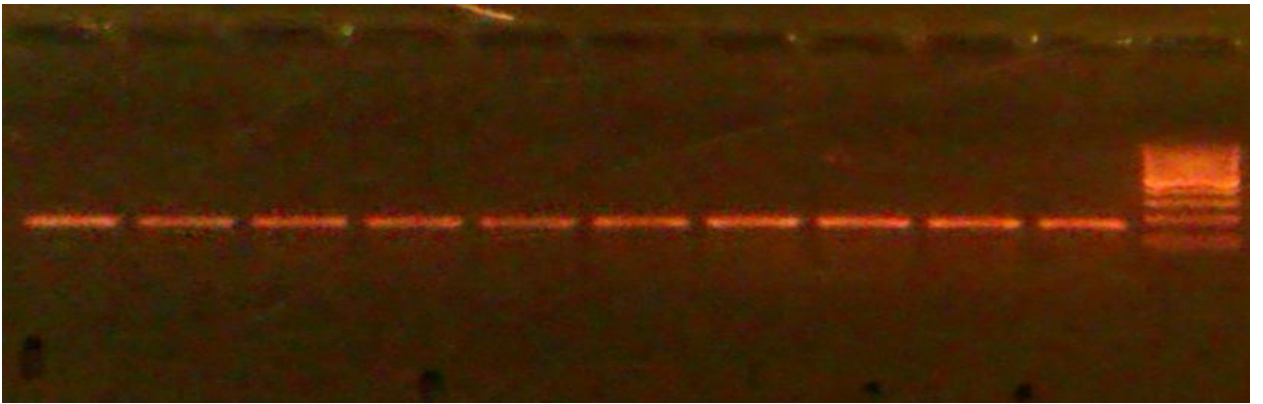
Toplam 19 izolatta (üçü OXA-48 ile birlikte, ikisi KPC-2 ile birlikte olmak üzere) CTX-M geni (Şekil 4-5 bla-CTXM gen bankası analiz sonucu) varlığı saptanmıştır.



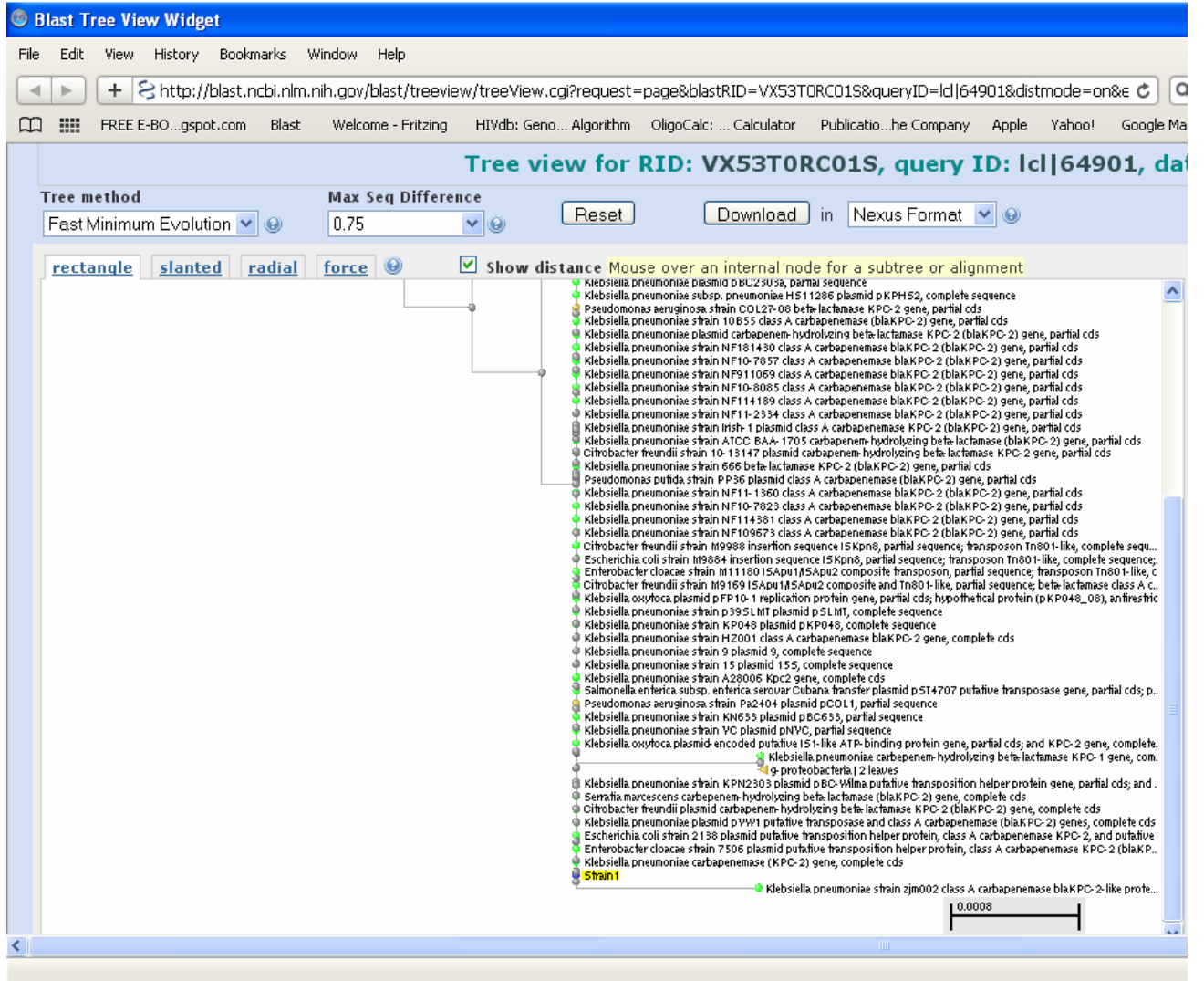
Şekil 4-1 bla-OXA 48 PCR jel elektroforez sonuçları



Şekil 4-2 bla-KPC PCR jel elektroforez sonuçları (3 ve 6. hat pozitif, 11. hat 100 baz çitlik boyut belirteci)



Şekil 4-3 bla-CTXM PCR jel elektroforez sonuçları (1-10 pozitif 11. 11. hat 100 baz çitlik boyut belirteci)



**Şekil 4-4** bla KPC gen bankası analiz sonucu, DNA dizi analizi sonrası enzim bla KPC-2 ile %100 örtüşmüştür.

NCBI Blast:Nucleotide Sequence (164 letters)

File Edit View History Bookmarks Window Help

http://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi#

FREE E-BO...gspot.com Blast Welcome - Fritzing HIVdb: Geno... Algorithm OligoCalc: ... Calculator Publicatio...he

### Alignments

Select All [Get selected sequences](#) [Distance tree of results](#)

```

> gb|JQ686201.1 Escherichia coli strain 1030 beta-lactamase CTXM-15 gene, complete
cds
Length=1190

Score = 303 bits (164), Expect = 2e-79
Identities = 164/164 (100%), Gaps = 0/164 (0%)
Strand=Plus/Plus

Query 1   ATCTGACGCTGGGTAAGCATTGGGCGACAGCCAACGGGCGCAGCTGGTGACATGGATGA 60
          |||
Sbjct 695  ATCTGACGCTGGGTAAGCATTGGGCGACAGCCAACGGGCGCAGCTGGTGACATGGATGA 754

Query 61  AAGGCAATACCACCGGTGCAGCGAGCATTTCAGGCTGGACTGCCTGCTTCCTGGGTTGTGG 120
          |||
Sbjct 755  AAGGCAATACCACCGGTGCAGCGAGCATTTCAGGCTGGACTGCCTGCTTCCTGGGTTGTGG 814

Query 121 GGGATAAAACCGGCAGCGGTGGCTATGGCACCACCAACGATATC 164
          |||
Sbjct 815  GGGATAAAACCGGCAGCGGTGGCTATGGCACCACCAACGATATC 858

> gb|JQ686200.1 Escherichia coli strain L11 beta-lactamase CTXM-15 gene, complete
cds
Length=1190

Score = 303 bits (164), Expect = 2e-79
Identities = 164/164 (100%), Gaps = 0/164 (0%)
Strand=Plus/Plus

Query 1   ATCTGACGCTGGGTAAGCATTGGGCGACAGCCAACGGGCGCAGCTGGTGACATGGATGA 60
          |||
Sbjct 695  ATCTGACGCTGGGTAAGCATTGGGCGACAGCCAACGGGCGCAGCTGGTGACATGGATGA 754

Query 61  AAGGCAATACCACCGGTGCAGCGAGCATTTCAGGCTGGACTGCCTGCTTCCTGGGTTGTGG 120
          |||
Sbjct 755  AAGGCAATACCACCGGTGCAGCGAGCATTTCAGGCTGGACTGCCTGCTTCCTGGGTTGTGG 814

Query 121 GGGATAAAACCGGCAGCGGTGGCTATGGCACCACCAACGATATC 164
          |||
Sbjct 815  GGGATAAAACCGGCAGCGGTGGCTATGGCACCACCAACGATATC 858

```

**Şekil 4-5 bla-CTXM DNA dizi analiz sonrası gen bankası analiz sonucu, dizi CTXM-15 ile örtüşmüştür.**

## 5. SONUÇ VE TARTIŞMA

Son yıllarda enterik Gram negatif mikroorganizmalar arasında giderek artan antimikrobiyal direnç nedeniyle tedavide sorun yaşanmaktadır. Özellikle *E.coli* ve *Klebsiella* suşlarında GSBL aktivitesinin arttığı gözlenmektedir. Bu durum klinikte tedavi seçeneklerini kısıtlamakta, mortalite ve morbiditeye neden olmakta, hastanede yatış süresini ve maliyeti artırmaktadır(43, 44). Özellikle Hindistan gibi altyapı sorunları yaşayan gelişmemiş bazı ülkelerde hastaneye yatan hastaların çoğunda GSBL hatta karbapenemaz varlığı önemli bir soruna işaret etmektedir (44).

Enzimatik direnç içinde önemli bir fenotip gösteren GSBL'ler *Enterobacteriaceae* ailesinin üyeleri arasında özellikle *E.coli* ve *K.pneumoniae* türlerinde yaygın olarak bulunmaktadır. Ayrıca bu dirence sahip bakterilerde tedavi seçenekleri de son derece kısıtlıdır (45). Bu enzim ailesi değişik antibiyotik direnç genlerini içeren büyük plazmidler aracılığıyla taşındıkları için çoklu dirence neden olur ve bu direnç suşlar arasında kolayca yayılabilir. Bu direnç oluşturan enzimler klinik olarak da önemli enzimlerdir; zira varlıklarının gösterilmesi tedavide kısıtlılığa yol açar (45,46). Bu nedenle hastanelerde GSBL salgılayan bakterilerin sıklığının düzenli olarak izlenmesi ve yayılımının önlenmesi gerekmektedir. *E.coli* ve *Klebsiella* spp. suşlarında GSBL üretimi dünyanın değişik bölgelerinde farklı sıklıkta ortaya çıkmaktadır. Gerek ülkemizde gerekse yurt dışında GSBL oranlarında görülen farklılıklar, bakterilerdeki enzim üretim sıklığının belli şartlarla değişiyor olmasıyla ilgilidir. Ayrıca, enzim üretimindeki artışın GSBL antibiyotik kullanımıyla yakın ilişki ve beta-laktam direncindeki artışla paralel olduğu bilinmektedir. GSBL tespitine yönelik olarak ülkemizde değişik merkezlerde yapılan çalışmalarda farklı oranlar elde edilmiştir (47,48).

CLSI 2010 yılı ortalarında, farmakokinetik/farmakodinamik parametreleri dikkate alarak ve rutin uygulama dozlarını belirterek karbapenemlerin duyarlılık kriterlerinde değişikliğe gitmiştir. Bu haliyle tüm karbapenemlerin, disk difüzyon için 23 mm altındaki tüm zon ölçüm değerleri orta duyarlı/dirençli olarak tanımlanmıştır. Özellikle orta duyarlı olarak tanımlanan sınırlarda 20-22 mm karbapenem tedavisinin etkinliği yönünden net bir veri olmadığı belirtilmektedir. Ayrıca karbapenem direncinin araştırılmasında ertapenem diskinin en ideal ajan olduğu belirtilmektedir (34). Biz de çalışmamızda karbapenem direnci kriteri olarak ertapenem diskinin azalmış duyarlılığı

anlamli bulgu olarak kabul ettik. Ayrica karbapenemaz arastirilmesi ve mekanizmasının tanimlanmasi konusunda birçok fenotipik yöntem denenmiş olsa da her yönden faydalı bir yöntem tanımlanmamıştır(49).

Antibiyotik duyarlılık kriterlerinde yapılan bu değişikliğin etkilerini araştıran bir çalışmada ertapeneme dirençli *Enterobacter cloacae* oranı eski kriterlere göre %2,6 iken yeni kriterlere göre %7,2 oranına çıkmıştır. Bu sonuçlarla yeni kriterler kullanıldıkça karbapenem direnci raporlarının artacağı ve farklı grup antibiyotiklere yönelimin artacağı düşünölmektedir(50).

Lartigue ve ark. (51) Bir hastanın peritonit örneğinde ürettikleri karbapeneme dirençli *E.coli* izolatını ayrıntılı olarak incelemişlerdir. Bu çalışmada direncin CTX-M yapısında bir GSBL ve Omp C kaybı ile birlikte oluştuğunu saptamışlardır. Tek başına CTX-M enzimi karbapenemlerin MİK seviyelerini yükseltmemiştir.

*E.coli* izolatlarında karbapenem direnci genelde plazmidik olarak kazanılan sefalosporinazlar ve antibiyotiklerin hücre içine girişini engelleyen dış membran değişimleri ile birlikte gelişmektedir. Oteo ve ark. (52) Yaptıkları çalışmada karbapenem tedavisi sırasında karbapenem direnci kazanan iki *E.coli* izolatını değerlendirmişlerdir. Bu izolatlardan hiç birinde metallo-beta laktamaz saptanmamıştır. Bir izolatta CMY-2 değerinde ise yeni bir GSBL (CTX-M-67) varlığı saptanmıştır. Fakat asıl dirençten Omp C ve Omp F dış membran proteinlerinin kaybının sorumlu olduğu belirlenmiştir.

Avrupa'da 13 ülkeden toplanan karın içi infeksiyon etkeni olan 3160 *E.coli* izolatı incelenmiş ve bu etkenler arasında ertapenem duyarlılığı %99,3 bulunurken GSBL (+) izolatlar arasında ise oran %96.8 bulunmuştur. Toplam altı izolat ileri inceleme ile değerlendirilmiştir. Metallo-betalaktamaz (VIM; NDM; KPC) hiç birinde saptanamamış bir izolatta CTX-M-14 ve iki izolatta OXA-48 saptanmıştır(53). Bizim çalışmamızda ise toplam 19 izolatta CTX-M, bu izolatların üçünde ayrıca OXA-48 ve ikisinde ayrıca KPC-2 geni saptanmıştır. İki izolatta ise sadece OXA-48 belirlenirken bir izolatta araştırılan beta-laktamazların hiç biri saptanmamıştır.

Son yıllarda özellikle NDM-1 beta-laktamazın hızla yayılması ve yarattığı salgınlar karbapenemazlara yeniden ilgi çekmiş ve çok önemli bir sağlık sorunu olarak yeniden gündeme gelmesine neden olmuştur(54). Çalışmamızda hiçbir etkende NDM-1 saptanmamıştır.

Çalışmamızda en çok saptanan beta-laktamaz CTX-M-15 olmuştur. Bu enzim ülkemizde, özellikle hastanelerimizde en sık rastlanan beta-laktamazlardan birisi olsa da tek başına karbapenem direncine neden olamayacağı bildirilmiştir (55). Yapılan bir çalışmada enterik bakterilerde CTX-M-15 enzimi yayılımı ve OmpK 36 dış membran proteini mutasyonunun karbapenem direncinin hızla yayılımında sorumlu oldukları belirtilmiştir(56). CTX-M pozitifliği saptanan izolatların karbapenem direnci konusunda bizim çalışma verileri yeterli yoruma izin vermemektedir.

OXA-48 ülkemizde öncelikle *Klebsiella pneumoniae* izolatlarında karbapenem direncinin en önemli nedeni olarak tanımlanmıştır(57-59). Ayrıca daha sonraları diğer enterik bakterilerde de bu enzimin karbapenem direncinden sorumlu olduğu belirlenmiştir(60). Hatta Avrupa’da bu direnç yapısının Türkiye kaynaklı olarak yayıldığı da ortaya atılmıştır(61). Bizim çalışmada karbapenem dirençli *E.coli* izolatlarının beşinde OXA-48 saptanmıştır. Özellikle üç olguda CTX-M-15 ile birlikte bulunması ilginç bir bulgudur. Hollanda’da saptanan bir salgında OXA-48 pozitif *Klebsiella pneumoniae* izolatları daha önce başka avrupa ülkelerinde saptanan OXA-48 pozitif izolatlarıyla aynı bulunmuştur. Bu klonun aynı zamanda CTX-M-15 geni de taşıdığı saptanmıştır(62).

VIM,IMP gibi metallo beta-laktamazlar belirli coğrafyalarda özellikle nonfermentatif bakterilerde yaygın bulunmuşlar ve ülkemizde *Pseudomonas aeruginosa* ve *Acinetobacter* izolatlarında saptanmıştır(63,64). Yunanistan’da özellikle son yıllarda enterik bakterilerde giderek artan, birçok farklı enterik bakteride belirlenen metallo-beta laktamazlar dikkati çekmiştir(65,66). Hatta bu bakterilerin oluşturduğu salgınlar ciddi boyutlara ulaşmıştır(67). Ülkemizde bu enzimlerin enterik bakterilerde varlığı bilinse de genelde çok yaygın görünmemektedir(68). Biz çalışmamızda hiç VIM, IMP tarzı metallo-betalaktamaz saptamadık. Yunanistan deneyimi göz önüne alındığında bu enzimlerin ülkemizde de hızla yayılabileceği göz önünde bulundurulmalıdır.

KPC enzimi özellikle Amerika Birleşik Devletleri’nde en önemli karbapenem direnç geni olarak dikkati çekmektedir. Bu genin hızla plazmidik yayılımı kaygıları da arttırmakta, son yıllarda Avrupa’da yayılımı dikkati çekmekte ve Avrupa’da KPC-2 başlıca direnç geni olarak dikkat çekmektedir(63). Direncin ülkelerde yerleşimi, yayılımı çeşitli farklılıklar göstermektedir. Ülkemizde şimdiye kadar saptanmayan bu direnç formu ilk kez bizim çalışmamızda belirlenmiştir. Bundan sonra bu gene bağlı hızla direnç artışları beklenebilir.

Bu çalışmanın önemli kısıtlılıkları bulunmaktadır. Öncelikle olguların klinik yönlerinin izlenememesi bu direncin yarattığı klinik sorunu vurgulamak konusunda faydalı olabilirdi. Fakat tezin içeriği ve tasarımı bu şekilde yapılmadığı için bunu ayrı bir konu olarak planladık.

Saptanan izolatlarda dış membran proteinlerinin araştırılması alt yapı, maddi imkanların yetersizliği nedeniyle yapılamamıştır. Ayrıca tüm karbapenemazları (GES, IBC,...) araştırmak teknik ve maddi kısıtlamalar nedeniyle çalışmaya dahil edilememiştir. Bu bakterilerin klonal ilişkisinin araştırılması da ne yazık ki çalışma kapsamında tamamlanamamıştır. Bu konuda bir çalışma planlanmıştır.

Sonuç olarak hastanemizde infeksiyon etkeni olan *E.coli* izolatlarında ertapenem direnci bir sorun olarak saptanmıştır. Şu an düşük oranlarda bulunuyor olsa bile direnç genlerinin hızla yayılabilme olasılığı endişe vericidir. Bizim çalışmamızda *E.coli* izolatlarında ertapenem direnci saptanan olguların çoğunda CTX-M tipi beta-laktamaz varlığı saptanmıştır. Bu enzim ile karbapenem direncine neden olan diğer mekanizmaların araştırılması faydalı olacaktır. Ayrıca OXA-48 geninin bir grup ertapenem dirençli *E.coli* izolatında sorumlu olduğu gözlenmiştir. VIM, IMP, NDM karbapenemaz genleri saptanmamıştır. Çok önemli bir bulgu olarak ülkemizde ilk kez KPC-2 kaynaklı bir karbapenem direnci tanımlanmıştır. Bu bulgular ışığında ülkemizde hastanelerde *E.coli* izolatlarında ertapenem direncinin taranması ve bu direnci erkenden tanımlayacak testlerin geliştirilmesi, bu etkenlerle infeksiyon kontrolü konusunda çalışmaların hızla başlatılması büyük önem taşımaktadır.

## KAYNAKLAR

1. Özgüneş İ. Akılcı Antibiyotik Kullanımında Hastane Pratiğinde Sorunlar. *ANKEM Derg* 2005; 19: 185-189.
2. Saunders JR. Genetics and evolution of antibiotic resistance. *British Medical Bulletin* 1984; 40: 54-60.
3. Saba R, Usluler G. Ertapenem. *FLORA* 2008; 13 (ek): 3-19.
4. Hernandez JR, Velasco C, Romero L, Martinez-Martinez L, Pascual A. Comparative in vitro activity of ertapenem against extended-spectrum  $\beta$ -lactamase-producing *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae* isolated in Spain. *Int J Antimicrob Agents* 2006; 28: 457-9
5. Lee SC, Huang SS, Lee CW, Fung CP, Lee N, Shien WB, Siu LK. Comparative antimicrobial susceptibility of aerobic and facultative bacteria from community-acquired bacteremia to ertapenem in Taiwan. *BMC Infect Dis.*2007;7:79.
6. Kizirgil A, Demirdag K, Ozden M, Bulut Y, Yakupogullari Y, Toraman ZA. In vitro activity of three different antimicrobial agents against ESBL producing *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae* blood isolates, *Microbiol Res* 2005; 160: 135-40.
7. Kizirgil A, Yakupoğulları Y, Şenol FF, Toraman AZ. Kan kültürü örneklerinde genişlemiş spektrumlu beta-laktamaz üreten enterik basillerin prevalansı ve antibiyotik duyarlılıklarının araştırılması, *İnfeksiyon Derg* 2005; 19: 111-4.
8. Carrer A, Poirel L, Yilmaz M, et al. Spread of OXA-48 encoding plasmid in Turkey and beyond. *Antimicrob Agents Chemother* 2010; 54: 1369-73.
9. Levinson W, Jawet E. Microbiology & Immunology. Seventh edition; 2002; 118-21
10. Erdem B. *Enterobacteriaceae*. Ustaçelebi Ş. Temel ve Klinik Mikrobiyoloji, Ankara: Güneş Kitabevi; 1999; 471-515
11. Patrick R. Murray, Ken S. Rosenthal, Michael A. Pfaller. Tıbbi Mikrobiyoloji, Ankara: Atlas Kitapçılık, Altıncı baskı; 301-307

12. Özsüt. H. Üriner Sistem Enfeksiyonları. Tabak F, Öztürk R, Aktuğlu Y (editörler). Akılcı Antibiyotik Kullanımı ve Erişkinde Toplumdan Edinilmiş Enfeksiyonlar Sempozyum Dizi No:31.Kasım 2002; s: 225-232.
13. Peşken Y. Hastane enfeksiyonlarının epidemiyolojisi. Günaydın M, Esen Ş, Saniç A, Leblebicioğlu H. Sterilizasyon Dezenfeksiyon ve Hastane Enfeksiyonları, 1.Baskı.İstanbul: Simad Yayınları, 2002; 199-209
14. Özsüt H, Hastane Kaynaklı üriner sistem enfeksiyonlar. Günaydın M, Esen Ş, Saniç A, Leblebicioğlu H(editörler). Sterilizasyon Dezenfeksiyon ve Hastane Enfeksiyonları, 1.Baskı.İstanbul:Simad Yayınları, 2002; 249-259
15. Aygün G, İstanbullu A, Özdemir M, Yanık S, Yaşar H, Parlakgöl D ark Üroloji Polikliniğinde Üriner Sistem İnfeksiyonu (ÜSİ) Etkeni Bakteriler ve Direnç Oranları. Türk Klinik Mikrobiyoloji ve enfeksiyon Hastalıkları Kongresi. *KLİMİK Dergi* 2003; XI: P-05/02.
16. Akalın, H E, Antibiyotiklere Direnç Gelişmesi ve Antibiyotik Kullanımı (H.E. AKALIN Editör). Klinik Uygulamalarda Antibiyotikler ve Diğer Antimikrobiyal İlaçlar. Güneş Kitabevi Limited Şirketi, Ankara, 1994; 38-39.
17. Chambers F.H, Goodman LS, Gilman A. Goodman and Gilman's Pharmacological Basis of Therapeutics. 10th edition. The McGraw-Hill Company, USA. *Antimicrobial Agents*.2001; 1143-1169
18. Tabak F. Klinikte Antibiyotik Kullanımı. Tabak F, Öztürk R, Aktuğlu Y (editörler). Akılcı Antibiyotik Kullanımı ve Erişkinde Toplumdan Edinilmiş Enfeksiyonlar Sempozyum Dizi No:31.Kasım 2002; s: 101-109.
19. Demir N. Gram negatif bakterilerde genişlemiş spektrumlu beta-laktamaz (GSBL) üretimine katkıda bulunan çeşitli risk faktörlerinin araştırılması. Uzmanlık Tezi, İstanbul -2006
20. Çolak D. Antimikrobiyal ilaçlar ve etki mekanizmaları. 'İçinde' Ustaçelebi Ş. Temel ve Klinik Mikrobiyoloji. Ankara: Güneş Kitabevi, 1999; 81-85.
21. Gür D. Bakterilerde antibiyotiklere karşı direnç. In: Topçu AW, Söyletir G, Doğanay M(editörler). İnfeksiyon hastalıkları ve Mikrobiyolojisi. İstanbul: Nobel Tıp Kitabevi, 2002; 182-93
22. Gülay Z. Hücre duvar sentezini etkileyen antibiyotikler. *ANKEM Dergi* 2003; 17: 192-204

23. Öncül O. Antibiyotikler –I . Tabak F, Öztürk R, Aktuğlu Y (editörler). Akılcı Antibiyotik Kullanımı ve Erişkinde Toplumdan Edinilmiş Enfeksiyonlar Sempozyum Dizi No:31.Kasım 2002; s: 23-28.
24. Şensoy G. Yeni sefalosporinler. *J Pediatr Infect Dis* 2011; 5 (Suppl 1): 95-8.
25. Çalangu S. Yeni Bir Karbapenem: ERTAPENEM. *ANKEM Derg* 2003; 17: 260-262
26. Jacoby GA, Medeiros AA. Minireview: more Extended-Spectrum Beta-Lactamases. *Antimicrob Agents Chemother* 1991; 9: 1697-1704
27. Nordman P. Trends in Beta-Lactam resistance among *Enterobacteriaceae*. *Clin Infect Dis* 1998; 27(suppl.1): 100-106
28. Bradford PA. Extended psectrum beta-lactamases in the 21st century. Characterization, epidemiology and detection of this important resistance threat. *Clin Micr Rev* 2001; 14: 933-51
29. Gür D. ESBL'lerin genel özellikleri ve ESBL tipleri. In: Ünal S, Vahaboğlu H, Leblebicioğlu H, Öztürk R, Köksal İ.(editörler). Yeni ve yeniden gündeme gelen enfeksiyonlar; Genişlemiş spektrumlu beta-laktamazlar. Ankara: Bilimsel Tıp Yayınevi; 2004; 5-13
30. Stürenburg E, Mack D. Extended spectrum beta-lactamases: İmplications fort he clinical microbiology laboratory, therapy and infection control. *J Infect* 2003; 47: 279-95
31. Livermore DM. Beta lactamases in laboratory and clinical resistance. *Clin Microbiol Rev* 1995; 39: 1211-33
32. Nordman P, Guibert M. Extended spectrum beta lactamases in *Pseudomonas aeuroginosa*. *Microbiology* 1998; 42: 128-31
33. Bonnet R. Growing group of extended spectrum beta lactamases: The CTX-M enzymes. *Antimicrobiyal Agents Chemother* 2004; 13-26
34. Clinical and Laboratory Standarts Institute: Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing; 21th Informational Supplement, M100-S21, CLSI, Wayne(2011)
35. Gülay Z. ESBL'lerin tanı yöntemleri. In: Ünal S, Vahaboğlu H, Leblebicioğlu H, Öztürk R, Köksal İ.(editörler). Yeni ve yeniden gündeme gelen enfeksiyonlar Genişlemiş spektrumlu beta-laktamazlar. Ankara: Bilimsel Tıp Yayınevi; 2004; 13-26

36. Gür D. Yeni Direnç Mekanizmaları ve Rutin İn Vitro Testlerin Kliniğe Yansıması: Son Öneriler. *İnfeksiyon Dünyası*; 2012; 34-36
37. Paterson DL, Bonomo RA. Extended-spectrum  $\beta$ -Lactamases: a clinical update *Clin Microbiol Rev* 2005; 18: 657-686.
38. Gülay Z, Biçmen MK, Yulug V. Genişlemiş spektrumlu  $\beta$ -laktamaz varlığının saptanmasında kullanılan çeşitli yöntemlerin değerlendirilmesi. *ANKEM Dergi* 1998; 12: 514-521.
39. Yıldırım A. Extended Spectrum Beta-lactamase (ESBL) Araştırma Yöntemlerinin Karşılaştırılması: *E.coli* ve *Klebsiella spp.* suşlarında sıklığının saptanması. Uzmanlık Tezi. İstanbul: Gülhane Askeri Tıp Akademisi, 1999.
40. CDC, Multiplex Real-Time PCR Detection of *Klebsiella Pneumoniae* Carbapenemase (KPC) and New Delhi metallo- $\beta$ -lactamase (NDM-1) genes, <http://www.cdc.gov/HAI/settings/lab/kpc-ndm1-lab-protocol.html>.
41. Todd A, Dvies, Anne marie, Queenan, Brian J. Morrow, Wenchi Shang, Karen Amsler Wenping He, A. Simon Lynch, Chris Pillar and Robert K. Flamm. Longitudinal survey of carbapenem resistance and resistance mechanisms in *Enterobacteriaceae* and nonfermenters from the USA in 2007-9.
42. Ünver D. Salgın dışı durumlarda dışkıda genişlemiş spektrumlu beta-laktamaz üreten *Enterobacteriaceae* üyelerinin prevalansının saptanması. İÜ Sağlık Bilimleri Enstitüsü Yüksek Lisans Tezi, 2007.
43. Lautenbach E, Strom BL, Bilker WB, Patel JB, Edelstein PH, Fishman NO. Epidemiological investigation of fluoroquinolone resistance in infections due to extended-spectrum beta-lactamase-producing *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae*, *Clin Infect Dis* 2001; 33: 1288-94.
44. Azim A, Dwivedi M, Rao PB et al. Epidemiology of bacterial colonization at intensive care unit admission with emphasis on extended spectrum b-lactamase- and metallo-b-lactamase producing Gram-negative bacteria - an Indian Experience. *J. Medical Microbiol* 2010; 59: 955-60.
45. Falagas ME, Karageorgopoulos DE. Extended-spectrum beta-lactamase-producing organisms. *J Hosp Infect* 2009; 73: 345-354.
46. Gupta V. An update on newer beta-lactamases. *Indian J Med Res* 2007; 126: 417-27.

47. Tunçcan ÖG, Keten DT, Dizbay M, Hızel K. Hastane kaynaklı *E.coli* ve *Klebsiella* suşlarının ertapenem ve diğer antibiyotiklere duyarlılığı. *ANKEM* 2008; 22: 188-92.
48. Akçam FZ, Gönen İ, Kaya O, Yaylı G. Hastane infeksiyonu etkeni enterobakterilerde duyarlılık ve GSBL sıklığının araştırılması. *Süleyman Demirel Üni Tıp Fak Derg* 2004; 11: 6-9.
49. Birgy A, Bidet P, Genel N et al. Phenotypic screening of carbapenemases and associated  $\beta$ -lactamases in carbapenem-resistant *Enterobacteriaceae*. *J Clin Microbiol.* 2012 ; 50: 1295-302
50. Hombach M, Bloemberg GV, Böttger EC. Effects of clinical breakpoint changes in CLSI guidelines 2010/2011 and EUCAST guidelines 2011 on antibiotic susceptibility test reporting of Gram-negative bacilli. *J Antimicrobial Chemother* 2012; 67: 622-32.
51. Lartigue MF, Poirel L, Poyart C, Reglier-Poupet H, Nordmann P. Ertapenem resistance of *Escherichia coli*. *Emerg Infect dis* 2007; 13: 315-7.
52. Oteo J, Delgado-Iribaren A, Vega D all. Emergence of imipenem resistance in clinical *Escherichia coli* during therapy. *Int J Antimicrobiol Agents* 2008; 32: 534-7.
53. Hawser S.P, Bouchillon S.K, Lascols C.et al. Susceptibility of European *Escherichia coli* clinical isolates from intra-abdominal infections, extended-spectrum B-lactamase occurrence, resistance distribution, and molecular characterization of ertapenem-resistant isolates(SMART 2008-2009). *Clin Microbiol Infect* 2012; 18: 253-9
54. Nordmann P, Poirel L, Walsh TR, Livermore DM. The emerging NDM carbapenemases. *Trends Microbiol* 2011; 19: 588-95.
55. Gonullu N, Aktas Z, Kayacan CB. et al. Dissemination of CTX-M-15 beta-lactamase gens carried on Inc FI and FII plasmids among clinical isolates of *Escherichia coli* in a university hospital in Istanbul, Turkey. *J Clin Microbiol.* 2008 ; 46: 1110-2
56. Novaris A, Rodrigues C, Branquinho R, et al. Spread of an OMPK36-modified ST15 *Klebsiella pneumoniae* variant during an outbreak involving multiple carbapenem-resistant *Enterobacteriaceae* species and clones. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 2012; In Press

57. Aktaş Z, Kayacan CB, Schneider I, Can B, Midilli K, Bauernfeind A. Carbapenem-hydrolyzing oxacillinase, OXA-48, persists in *Klebsiella pneumoniae* in Istanbul, Turkey. *Chemotherapy* 2008; 54: 101-6.
58. Gülmez D, Woodford N, Palepou MF, et al. Carbapenem-resistant *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae* isolates from Turkey with OXA-48-like carbapenemases and outer membrane protein loss. *Int J Antimicrob Agents*. 2008; 31: 523-6.
59. Carrër A, Poirel L, Eraksoy H, Cagatay AA, Badur S, Nordmann P. Spread of OXA-48-positive carbapenem-resistant *Klebsiella pneumoniae* isolates in Istanbul, Turkey. *Antimicrob Agents Chemother*. 2008 ; 52: 2950-4.
60. Kilic A, Aktas Z, Bedir O, et al. Identification and characterization of OXA-48 producing, carbapenem-resistant *Enterobacteriaceae* isolates in Turkey. *Ann Clin Lab Sci*. 2011; 41:161-6
61. Levast M, Poirel L, Carrër A, et al. Transfer of OXA-48-positive carbapenem-resistant *Klebsiella pneumoniae* from Turkey to France. *J Antimicrob Chemother*. 2011; 66: 944-5.
62. Potron A, Kalpoe J, Poirel L, Nordmann P. European dissemination of a single OXA-48-producing *Klebsiella pneumoniae* clone. *Clin Microbiol Infect*. 2011; 17: 24-6
63. Walsh TR. Emerging carbapenemases: a global perspective. *Int J Antimicrob Agents* 2010; 36 (Suppl. 3):S8-14.
64. Ozgumus OB, Caylan R, Tosun I, Sandalli C, Aydin K, Koksall I. Molecular epidemiology of clinical *Pseudomonas aeruginosa* isolates carrying IMP-1 metallo-beta-lactamase gene in a University Hospital in Turkey. *Microb Drug Resist*. 2007; 13: 191-8
65. Souli M, Kontopidou FV, Papadomichelakis E, Galani I, Armaganidis A, Giamarellou H. Clinical experience of serious infections caused by *Enterobacteriaceae* producing VIM-1 metallo-beta-lactamase in a Greek University Hospital. *Clin Infect Dis* 2008; 46: 847-54.
66. Galani I, Souli M, Koratzanis E, Koratzanis G, Chryssouli Z, Giamarellou H. Emerging bacterial pathogens: *Escherichia coli*, *Enterobacter aerogenes* and *Proteus mirabilis* clinical isolates harbouring the same transferable plasmid coding for metallo-beta-lactamase VIM-1 in Greece. *J Antimicrob Chemother* 2007; 59:578-9.

67. Psychogiou M, Tassios PT, Avlami A, Stefanou I, Kosmidis C, Platsouka E, et al. Ongoing epidemic of *bla*VIM-1-positive *Klebsiella pneumoniae* in Athens, Greece: a prospective survey. *J Antimicrob Chemother* 2008; 61:59-63.
68. Yildirim I, Ceyhan M, Gur D, Mugnaioli C, Rossolini GM. First detection of VIM-1 type metallo-beta-lactamase in a multidrug-resistant *Klebsiella pneumoniae* clinical isolate from Turkey also producing the CTX-M-15 extended-spectrum beta-lactamase. *J Chemother* 2007; 19:467-8.

## ETİK KURUL KARARI



T.C.  
İSTANBUL ÜNİVERSİTESİ  
CERRAHPAŞA TIP FAKÜLTESİ  
DEKANLIĞI



Sayı : 23272  
Konu :

Temel Tıp Bilimleri Bölümü  
Başkanlığına

İstanbul ...../ ...../ .....

03 Ağustos 2011

İLGİ: 12.07.2011 tarihli, 1440 sayılı yazınıza:

Bölümünüze bağlı Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı öğretim üyesi **Prof.Dr.Gökhan AYGÜN**'ün danışmanlığında **Yüksek Lisans Öğrencisi Maillihaba AİLİKEN**'in yürütücülüğünde "**Escherichia Coli İzolatlarında Ertapenem Direncinin Araştırılması**" başlıklı **Yüksek Lisans Tezi** hakkında ilgi yazınız ve ekleri **26 Temmuz 2011** tarihinde toplanan Fakültemiz Klinik Araştırmalar Etik Değerlendirme Kurulunca müzakere edilmiş olup, etik açıdan uygun olduğuna karar verilmiştir. Bilgilerinizi, durumun adı geçen anabilim dalı başkanlığına bildirilmesini rica ederim.

Eki:  
1 dosya

Prof.Dr.Fatih ALTINDAŞ  
Dekan Yardımcısı ve Klinik Araştırmalar  
Etik Değerlendirme Kurulu Başkanı

*Fatih*

Not: Yanıtlarda yazımın gün sayısının belirtilmesi rica olunur.Tel(0212)4143000

## ÖZGEÇMİŞ

### Kişisel Bilgiler

<b>Adı</b>	MAILIHABA	<b>Soyadı</b>	AILIKEN
<b>Doğ. Yeri</b>	XINJIANG	<b>Doğ. Tar.</b>	05.01.1984
<b>Uyruğu</b>	ÇİN/Uygur	<b>TC Kim No</b>	99997250796
<b>Email</b>	Merhaba84@yahoo.com	<b>Tel</b>	0554 379 9316

### Eğitim Düzeyi

	Mezun Olduğu Kurumun Adı	Mez. Yılı
<b>Yük.Lis.</b>	İ.Ü. Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Tıbbi Mikrobiyoloji Ana Bilim Dalı	2012
<b>Lisans</b>	XINJIANG NONG YE DA XUE	2007
<b>Lise</b>	Gulja Nahiye 1. Lisesi	2002

### İş Deneyimi (Sondan geçmişe doğru sıralayın)

Görevi	Kurum	Süre (Yıl - Yıl)
Yüksek Lisans ve Gönüllü 1. Mikrobiyoloji Laboratuvarında Çalışma	İ.Ü.Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Tıbbi Mikrobiyoloji ABD	2010-2012

Yabancı Dilleri	Okuduğunu Anlama*	Konuşma*	Yazma*	KPDS/ÜDS Puanı	(Diğer) Puanı
Çince	Çok iyi	Çok iyi	Çok iyi		
İngilizce	Orta	Orta	Orta		

\*Çok iyi, iyi, orta, zayıf olarak değerlendirin

	Sayısal	Eşit Ağırlık	Sözel
<b>LES Puanı</b>			
<b>(Diğer) Puanı</b>	44.110	36.616	41.696

### Bilgisayar Bilgisi

Program	Kullanma becerisi
Microsoft office	İyi