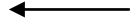


Adınızı soyadınızı giriniz

Tez kabul edildikten sonra yapılan **sabit ciltte sırt yazısı** bu şablona göre yazılacak. Yazılar tek satır olacak
Cilt sırtı yazıların yönü yukarıdan aşağıya
(sol yandaki gibi) olacak.



Tez, Yüksek Lisans'sa, YÜKSEK LİSANS TEZİ;
Doktora ise DOKTORA TEZİ ifadesi kalacak



Tez Sınavının yapılacağı yılı yazınız

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

(DOKTORA TEZİ)

**KÖPEK VE KEDİ DİŞKİLLERİNDE GENİŞLEMİŞ
SPEKTRUMLU BETA LAKTAMAZ VE AMPC BETA
LAKTAMAZ ÜRETEN ESCHERİCHİA COLİ'NİN
PREVALANSININ BELİRLENMESİ**

BERNA GÜMÜŞ

**DANIŞMAN
PROF. DR. SEYYAL AK**

**MİKROBİYOLOJİ ANABİLİM DALI
MİKROBİYOLOJİ PROGRAMI**

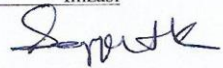
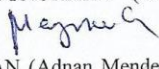
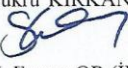
İSTANBUL-2015

TEZ ONAYI**TEZ ONAYI**

İstanbul Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Mikrobiyoloji Anabilim Dalı Mikrobiyoloji Programında Vet. Hek. Berna GÜMÜŞ tarafından hazırlanan Köpek ve Kedi Dışkılarında Genişlemiş Spektrumlu Beta Laktamaz ve AmpC Beta Laktamaz Üreten Escherichia Coli'nin Prevalansının Belirlenmesi başlıklı Doktora tezi, yapılan tez sınavında Jürimiz tarafından başarılı bulunarak kabul edilmiştir.

02 / 07 / 2015

Tez Sınav Jürisi

- | <u>Ünvanı Adı Soyadı (Üniversitesi, Fakültesi, Anabilim Dalı)</u> | <u>İmzası</u> |
|---|---|
| 1.Prof. Dr. Seyyal AK (İÜ Veteriner Fakültesi Mikrobiyoloji Abd.) |  |
| 2.Prof. Dr. Banur BOYNUKARA (Namık Kemal Üniversitesi Veteriner Fakültesi Mikrobiyoloji Abd.) |  |
| 3.Prof. Dr. Şükrü KIRKAN (Adnan Menderes Üniversitesi Veteriner Fakültesi Mikrobiyoloji Abd.) |  |
| 4.Prof. Dr. M. Erman OR (İÜ Veteriner Fakültesi İç Hastalıkları Abd.) |  |
| 5.Prof. Dr. A. Funda BAĞCIGİL (İÜ Veteriner Fakültesi Mikrobiyoloji Abd.) |  |

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.

Berna GÜMÜŞ



İTHAF

Bu tez çalışmamı, yetişmemde sonsuz emek ve özveri sahibi olan aileme ithaf ediyorum.

TEŞEKKÜR

Bilgi ve deneyimiyle bana yol gösteren ve sonsuz saygı duyduğum Sayın Prof. Dr. Atilla ILGAZ'a,

Doktora çalışmam süresince tüm sabrı ile değerli bilgi ve önerileriyle bana yol gösteren Anabilim Dalı Başkanı danışman öğretim üyesi Sayın Prof. Dr. Seyyal AK'a,

Tez çalışmam süresince bana yardımcı olan ve araştırmama katkıda bulunan, Sayın Prof. Dr. N. Yakut ÖZGÜR'e, Prof. Dr. A. Funda BAĞCIGİL'e, Doç. Dr. Serkan İKİZ'e, Dr. Kemal METİNER'e, Dr. Beren BAŞARAN KAHRAMAN'a, Dr. Belgi DİREN SİĞİRCİ'ya, Dr. Baran ÇELİK'e, Vet. Hek. Z. Seda MAVİLİ'ye, Araş. Gör. M. Cemal ADIGÜZEL'e, teknisyenimiz Gülten KARAKUZ'a ve araştırma sürecimde her türlü değerli destekleri bulunan başta ailem olmak üzere Prof. Dr. Seçkin Serdar ARUN, Uzm. Biyolog Ziya ASLAN, Zeynel Erce KULAKSIZ'a, Vet. Hek. M. İlkey ÜNSAL'a, Tekniker Sibel İnan YILMAZ'a ve Vet. Hek. Ahmet ZENGİNER'e içtenlikle teşekkür ederim.

Bu çalışma, İstanbul Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından desteklenmiştir. Proje No: 25490

İÇİNDEKİLER

TEZ ONAYI	iii
BEYAN.....	iv
İTHAF.....	v
TEŞEKKÜR.....	vi
İÇİNDEKİLER	vii
TABLolar LİSTESİ.....	x
ŞEKİLLER LİSTESİ	xi
SEMBOLLER / KISALTMALAR LİSTESİ	xii
ÖZET	xiii
ABSTRACT.....	xiv
1. GİRİŞ VE AMAÇ.....	1
2. GENEL BİLGİLER	2
2.1. β -laktam Antibiyotikler.....	2
2.1.1. β -laktam Antibiyotiklerin Sınıflandırması	2
2.1.2. β -laktam Antibiyotiklerin Direnç Mekanizmaları	3
2.2. β -laktamazlar ve Tipleri.....	6
2.2.1. Genişlemiş Spektrumlu β -laktamazlar ve Tipleri	6
2.2.1.1. TEM Tipi β -laktamazlar.....	6
2.2.1.2. SHV Tipi β -laktamazlar	7
2.2.1.3. CTX-M Tipi β -laktamazlar	7
2.2.1.4. OXA Tipi β -laktamazlar	8
2.2.1.5. Diğer GSBL Tipleri.....	8
2.2.2. AmpC Tipi β -laktamazlar	8
2.2.3. Karbapenemazlar	9
2.3. Veteriner Hekimlikte β -laktam Antibiyotiklerin Kullanım Alanları	11
2.4. Eşlikçi Hayvanlarda β -laktamaz Üreten Mikroorganizmalar	13
2.4.1. β -laktamaz Üreten <i>E.coli</i> İzolatları	13
2.4.1.1. Sağlıklı Eşlikçi Hayvanlar.....	13
2.4.1.2. Hasta Eşlikçi Hayvanlar	13
2.4.2. β -laktamaz Üreten Diğer Enterobacteriaceae Üyeleri	16

2.4.3. Enterobacteriaceae Üyelerinde Karbapenemaz Üretimi	16
2.5. Gıda Hayvanlarında β -laktamaz Üreten Mikroorganizmalar	16
2.6. Diğer Hayvanlarda β -laktamaz Üreten Mikroorganizmalar	17
2.7. İnsanlarda β -laktamaz Üreten Enterobacteriaceae Üyeleri	18
2.7.1. Sağlıklı İnsanlar	18
2.7.2. Hasta İnsanlar	18
2.8. β -laktamaz Üreten Mikroorganizmaların Epidemiyolojisi	20
2.8.1. β -laktamaz Üreten Mikroorganizmalara Ait Türler Arası Bulaş Verileri	20
2.9. GSBL ve/veya AmpC üreten <i>E.coli</i> İzolatlarının Tanı Yöntemleri	21
2.9.1. GSBL Tanı Yöntemleri	22
2.9.1.1. Fenotipik GSBL Tarama Testleri	22
2.9.1.2. Fenotipik GSBL Doğrulama Testi	22
2.9.1.3. Genotipik Yöntemler	23
2.9.2. AmpC β -laktamazların Tanı Yöntemleri	24
2.9.2.1. Tarama Testleri	24
2.9.2.2. Doğrulama testleri	25
3. GEREÇ VE YÖNTEM	26
3.1. Gereç	26
3.1.1. Örnekler	26
3.1.2. Besiyerleri	26
3.1.2.1. Sefotaksim Katkılı MacConkey Agar	26
3.1.2.2. %7 Defibrine Koyun Kanlı Agar	33
3.1.2.3. Üre Agar	33
3.1.2.4. Karbonhidrat Fermantasyon Test Besiyerleri	33
3.1.3. Biyokimyasal Testler ve Ayıraçlar	34
3.1.4. Antibiyotik Diskleri	34
3.1.5. Standart Suşlar	34
3.1.6. PCR	34
3.1.6.1. Ekstraksiyon	34
3.1.6.2. Amplifikasyon	34
3.1.6.3. DNA Elektroforezi	36
3.1.7. Diğer Gereçler	36
3.2. Yöntem	37

3.2.1. İzolasyon ve İdentifikasyon	37
3.2.1.1. GSBL Tarama Testi	37
3.2.1.2. GSBL Doğrulama Testi.....	38
3.2.1.3. AmpC Tanımlama Testi	38
3.2.2. PCR ile GSBL ve AmpC Grubu Enzimlerine Ait Genlerin Araştırılması.....	38
3.2.2.1. DNA Ekstraksiyonu	38
3.2.2.2. TEM Grubu Enzim Genlerinin Amplifikasyonu.....	39
3.2.2.3. SHV Grubu Enzim Genlerinin Amplifikasyonu	39
3.2.2.4. OXA-10 Geninin Amplifikasyonu	40
3.2.2.5. PER-2 Geninin Amplifikasyonu	40
3.2.2.6. CTX-M Geninin Amplifikasyonu	41
3.2.2.7. Multipleks PCR ile CTX-M Grubu Enzim Genlerinin Amplifikasyonu	41
3.2.2.8. Multipleks PCR ile AmpC Grubu Enzim Genlerinin Amplifikasyonu	41
3.2.2.9. PCR Ürünlerinin Elektroforezi ile DNA'nın Saptanması	42
3.2.3. İstatiksel Analiz.....	43
4. BULGULAR.....	44
4.1. İzolasyon ve İdentifikasyon	44
4.2. Fenotipik GSBL Tarama Testi Sonuçları	44
4.3. Fenotipik GSBL Doğrulama Testi Sonuçları.....	44
4.4. Fenotipik AmpC Tanımlama Testi Sonuçları	44
4.5. Fenotipik GSBL ve AmpC Testi Sonuçları	44
4.6. PCR Sonuçları.....	49
4.6.1. Köpek İzolatları.....	49
4.6.2. Kedi İzolatları	51
4.6.3. Köpek ve Kedi İzolatlarında Saptanan GSBL ve AmpC Genleri	51
4.7. İstatiksel Analiz Sonuçları	52
5. TARTIŞMA	62
KAYNAKLAR	72
ETİK KURUL KARARI	93
TELİF HAKKI İZNİ.....	94
ÖZGEÇMİŞ	95

TABLOLAR LİSTESİ

Tablo 2-1: Gram negatif bakteriler dikkate alınarak, β -laktamazların klinik önemlerine göre sınıflandırılması	5
Tablo 2-2: CTX-M enzim ailesinde sınıflandırılan gruplar ve alt grupları	7
Tablo 2-3: GSBL, AmpC ve karbapenemaz enzimlerinin karakteristik özellikleri	10
Tablo 2-4: Veteriner hekimlikte kullanılan β -laktam antibiyotikler.....	11
Tablo 2-5: Köpek ve kedilerde β -laktamların klinik endikasyonlarına göre tercihleri...	12
Tablo 2-6: Dünyada ilk β -laktamaz izolasyonundan günümüze sağlıklı ve hasta eşlikçi hayvanlarda saptanan GSBL ve/veya AmpC üreten bakteri türleri, β -laktamaz tipleri ve izolasyon yılları.....	14
Tablo 2-7: İnsanlarda belirlenen GSBL ve AmpC üreten bakteri türleri	19
Tablo 2-8: GSBL tarama testinde dikkate alınan inhibisyon zonu ve MİK değerleri	22
Tablo 3-1: Örnek alınan köpeklerin bulunduğu semt, yaş, cinsiyet ve bilinen bir antibiyotik tedavisinin varlığı bilgisi	27
Tablo 3-2: Örnek alınan kedilerin bulunduğu semt, yaş, cinsiyet ve bilinen bir antibiyotik tedavisinin varlığı bilgisi	30
Tablo 3-3: Çalışmada kullanılan primerlerin gen dizilimleri ve ampikon büyüklükleri	35
Tablo 3-4: Enterobacteriaceae üyeleri ve <i>E.coli</i> ATCC 25922 için CLSI'nin belirttiği disk difüzyon yöntemi ile GSBL tarama testi sınır değerleri	37
Tablo 3-5: TEM, SHV, OXA-10, PER-2 ve CTX-M genlerinin PCR karışımları ve programları.....	40
Tablo 3-6: CTX-M ve AmpC grup genlerinin multipleks PCR karışımları ve programları.....	42
Tablo 3-7: Değerlendirmede kullanılan DNA bantlarının molekül ağırlıkları	43
Tablo 4-1: Köpeklere ait izolatların fenotipik değerlendirme sonuçları.....	45
Tablo 4-2: Kedilere ait izolatların fenotipik değerlendirme sonuçları	47
Tablo 4-3: Hayvan türüne göre fenotipik GSBL ve/veya AmpC üreten izolatların dağılımı	49
Tablo 4-4: Köpek izolatlarının fenotipik ve genotipik GSBL ve AmpC sonuçları	50
Tablo 4-5: Kedi izolatlarının fenotipik ve genotipik GSBL ve AmpC sonuçları	51
Tablo 4-6: İzolasyon ve identifikasyon sonuçlarına toplu bakış	53

ŞEKİLLER LİSTESİ

Şekil 4-1: GSBL tarama testi, negatif kontrol (<i>E.coli</i> ATCC 35218).....	56
Şekil 4-2: Kombine disk yöntemi, GSBL doğrulama testi, negatif kontrol (<i>E.coli</i> ATCC 35218)	56
Şekil 4-3: GSBL tarama testi sonucu pozitif örnek görüntüsü (D-4)	57
Şekil 4-4: GSBL doğrulama testi sonucu pozitif örnek görüntüsü (D-4).....	57
Şekil 4-5: AmpC tanımlama testi sonucu pozitif örnek görüntüsü (D-180).....	58
Şekil 4-6: TEM grubu PCR sonuçlarına örnekler.....	58
Şekil 4-7: SHV grubu PCR sonuçlarına örnekler	59
Şekil 4-8: OXA-10 PCR sonuçlarına örnekler	59
Şekil 4-9: PER-2 PCR sonuçlarına örnekler	60
Şekil 4-10: CTX-M grubu PCR sonuçlarına örnekler	60
Şekil 4-11: CTX-M grupları multipleks PCR sonuçlarına örnekler	61
Şekil 4-12: AmpC grupları multipleks PCR sonuçlarına örnekler	61

SEMBOLLER / KISALTMALAR LİSTESİ

°C	Santigrat derece
µl	Mikrolitre
µM	Mikromolar
ATCC	American Type Culture Collection
bp	Base per
CLSI	Clinical and Laboratory Standards Institute
DNA	Deoksiribonükleik asit
DNaz	Deoksiribonükleaz
EDTA	Etilendiamin tetraasetik asit
EUCAST	The European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing
g	Gram
H ₂ S	Hidrojen Sülfür
L	Litre
mg	Miligram
MIK	Minimum İnhibisyon Konsantrasyonu
ml	Mililitre
mm	Milimetre
NaCl	Sodyum Klorür
OR	Odds Ratio (Göreceli olasılıklar oranı)
PBS	Phosphate Buffer Solution
PCR	Polimerase Chain Reaction
PFGE	Pulsed field jel elektroforezi
pH	Power of Hydrogen
pmol	Pikomol
RFLP	Restriction Fragment Length Polymorphism
RNaz	Ribonükleaz
rpm	Revolutions per minute
SSCP	Single-Strand Conformational Polymorphism Analysis
TBE	Tris-borat-Etilendiamin tetraasetik asit
Tris-HCl	Tris-Hidroklorik Asit
UV	Ultraviolet
β	Beta

ÖZET

Gümüş B. (2015). Köpek ve kedi dışkılarında genişlemiş spektrumlu beta laktamaz ve AmpC beta laktamaz üreten *Escherichia coli*'nin prevalansının belirlenmesi. İstanbul Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Mikrobiyoloji ABD. Doktora Tezi. İstanbul.

Bu çalışmada, İstanbul ilinde sağlıklı köpek ve kedi dışkılarında, genişlemiş spektrumlu beta laktamaz (GSBL) ve/veya AmpC beta laktamaz üreten *Escherichia coli*'nin prevalansı ve beta laktamaz genlerinin belirlenmesi amaçlandı. 192 köpek ve 192 kedi dışkı örneği 1 mg/L sefotaksim içeren MacConkey agara ekildi. GSBL ve AmpC beta laktamaz pozitifliği tarama ve doğrulama testleri ile fenotipik olarak tespit edildi. Fenotipik olarak pozitif olduğu belirlenen izolatlarda TEM, SHV, OXA-10, PER-2, CTX-M ve alt grupları ile AmpC genlerinin (CIT, FOX, MOX, EBC, ACC, DHA) varlığı PCR ile araştırıldı. GSBL üreten *E.coli* prevalansı genotipik olarak köpeklerde %20,3 (n=39) ve kedilerde %8,3 (n=16); AmpC üreten *E.coli* prevalansı köpeklerde %3,7 (n=7) ve kedilerde %0,6 (n=1) bulundu. GSBL ve/veya AmpC beta laktamaz üreten *E.coli*'nin köpek izolatlarında, sırasıyla; blaCTX-M Grup 1 (n=39), blaTEM (n=21), blaCIT (n=5), blaSHV (n=2) ve blaMOX (n=1) genlerini içerdiği belirlendi. Kedi izolatlarında, sırasıyla; blaCTX-M Grup 1 (n=13), blaTEM (n=11), blaCTX-M Grup 9 (n=3) ve blaSHV (n=2) genlerini içerdiği belirlendi. Yapılan istatistiksel analiz sonucunda, GSBL ve/veya AmpC üreten *E.coli*'nin köpeklerde fekal kolonizasyonun önemli olduğu ($p<0,001$), cinsiyet ve geçmişinde antibiyotik kullanımının önemli olmadığı bulundu. Bu çalışma ile İstanbul'da sağlıklı eşlikçi hayvanlarda GSBL ve AmpC beta laktamaz üreten *E.coli* varlığı ilk defa ortaya kondu ve köpeğe ait bir *E.coli* izolatında daha önce insanlarda bildirilmiş fakat hayvanlarda dünya çapında bildirilmemiş olan blaMOX geni ilk kez belirlenmiştir. Veteriner hekimlik alanında antibiyotik direncine ilişkin risk faktörlerinin değerlendirildiği survey çalışmalarına ihtiyaç olduğu, etkili kontrol önlemleri ile direnç gelişiminin sınırlandırılmasına yönelik çözüm önerilerinin geliştirilmesi gerektiği sonucuna varıldı.

Anahtar Kelimeler: GSBL, AmpC beta laktamaz, MOX, eşlikçi hayvanlar

Bu çalışma, İstanbul Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından desteklenmiştir. Proje No: 25490

ABSTRACT

Gumus B. (2015). Determination of extended-spectrum beta lactamase (ESBL) and AmpC beta lactamase producing *Escherichia coli* prevalence in fecal samples of dogs and cats. İstanbul University, Institute of Health Science, Microbiology Department. Doktora Tezi. İstanbul.

The aims of this study were investigate the prevalence and genes of extended-spectrum beta lactamase (ESBL) and/or AmpC beta lactamase producing *Escherichia coli* from feces of healthy dogs and cats in Istanbul. Fecal samples of dogs (n=192) and cats (n=192) were collected and cultured on MacConkey agar plates containing 1 mg/L cefotaxime. ESBL and AmpC positivity were phenotypically detected by monitoring and confirmation tests. TEM, SHV, OXA-10, PER-2, CTX-M with subgroups and AmpC genes (CIT, FOX, MOX, EBC, ACC, DHA) were investigated by PCR. Prevalence of ESBL producing *E.coli* was demonstrated 20.3% (n=39) in dogs and 8.3% (n=16) in cats; AmpC producing *E.coli* 3.7% (n=7) in dogs and 0.6% (n=1) in cats. Canine isolates contained, respectively; blaCTX-M Group 1 (n=39), blaTEM (n=21), blaCIT (n=5), blaSHV (n=2) and blaMOX (n=1). Feline isolates contained, respectively; blaCTX-M Group 1 (n=13), blaTEM (n=11), blaCTX-M Group 9 (n=3) and blaSHV (n=2). Association fecal colonisation of ESBL and/or AmpC producing *E.coli* in dogs was found statistically significant ($p<0.001$). Sex and the history of antibiotic treatment were found insignificant. In this study, the presence of ESBL and AmpC producing *E.coli* from healthy companion animals in Istanbul was determined and one canine *E.coli* isolate harboured blaMOX AmpC gene, which has been previously reported in humans but not been reported in animals in worldwide for the first time. The survey studies in veterinary medicine, which evaluated risk factors related to antibiotic resistance and solutions to limit the development of resistance with effective control measures are need to be developed.

Key Words: ESBL, AmpC beta lactamase, MOX, companion animals

The present work was supported by the Research Fund of İstanbul University. Project No. 25490

1. GİRİŞ VE AMAÇ

Son yıllarda antibiyotiklere karşı direnç sorununa, hayvanlar ve insanlar arasında dirençli suşların yayılma riski, dirençli bakterilerden ileri gelen hastalıkların varlığı ve artan tedavi masrafları nedeniyle büyük önem verilmektedir. Antibiyotiklerin hayvanlarda yaygın kullanımının, genişlemiş spektrumlu β -laktamazlar (GSBL) ve AmpC gibi antibiyotik direnç genlerinin oluşumuna yol açabileceği ve dirençli suşların besin zinciri, direkt temas ya da kontamine su kaynakları ile topluma yayılabileceği vurgulanmıştır (EFSA, 2011).

β -laktam antibiyotikleri inaktive eden GSBL ve AmpC β -laktamazlar plazmidik özellikleri ile bakteriler arasında aktarılabilmektedirler. *Escherichia coli*, *Klebsiella* spp., *Enterobacter* spp. gibi türler en sık β -laktamaz üreten mikroorganizmalar arasında yer almaktadır. β -laktamaz inhibitörlü antibiyotik kombinasyonların klinik kullanıma girmesi ile plazmid kontrolünde AmpC β -laktamaz sentezleyen mikroorganizmalarda artış gözlenmeye başlanmıştır (EFSA, 2011; Li ve ark. 2007).

Ülkemizde özellikle insanlarda bu konu üzerinde önemle durulmakta olup, halen çalışmalar devam etmektedir. Ancak, insanlarla birlikte yaşamaları ve aile bireylerinden kabul edilmeleri nedeniyle "eşlikçi hayvan" olarak nitelendirilen köpek ve kedilere ait bir araştırma mevcut değildir.

Bu çalışmada İstanbul ilinde köpek ve kedi dışkılarında GSBL ve AmpC β -laktamaz üreten *E.coli* varlığının ve prevalansının ortaya konulması amaçlanmıştır.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. β -laktam Antibiyotikler

2.1.1. β -laktam Antibiyotiklerin Sınıflandırması

β -laktam grubu antibiyotikler dört üyeli β -laktam halkasından oluşmaktadır. Gruplar içinde yan zincir modifikasyonları farklı β -laktam antibiyotik gruplarını ve farklı farmakokinetik özellikleri oluşturmaktadır. Bakteri spektrumuna (dar ya da geniş), aktivite tipine (bakterisit ya da bakteristatik) ve en yaygın kimyasal yapılarına göre (penisilinler, sefalosporinler, β -laktamaz inhibitör kombinasyonları, monobaktamlar, karbapenemler) birçok sınıflandırma yapılmıştır (Murray ve ark. 2005).

1. kuşak sefalosporinler (dar spektrumlu); sefazolin, sefalotin, sefapirin. Gram pozitif bakterilere iyi, Gram negatif bakterilere orta derecede etkilidirler.

2. kuşak sefalosporinler (geniş spektrumlu); sefonisit, sefuroksim, sefamisinler, sefoksitin, sefotetan. Anaerob bakterilere daha fazla etkilidirler.

3. ve 4. kuşak sefalosporinler (geniş spektrumlu); sefaperazon, sefotaksim, seftazidim, seftriakson, sefepim. Gram negatif ve Gram pozitif bakterilere karşı etkilidirler (Murray ve ark. 2005).

Karbapenemler; imipenem, doripenem, ertapenem, meropenem. Diğer β -laktamlara göre daha geniş spektruma sahiptirler. Genellikle hastane ortamında direnç kazanmış *Pseudomonas aeruginosa* ve *Acinetobacter baumannii* izolatların tedavisinde kullanılmaktadır (Livermore ve Woodford, 2006). Metisilin dirençli stafilokok ile *Enterococcus faecium* hariç tüm bakterilere etkilidir (Yang ve Guiglielmo, 2007).

β -laktamaz inhibitör kombinasyonları; klavulanik asit, sulbaktam, tazobaktam. Tek başına zayıf etkili olup, penisilin ve sefalosporinlerle kombine kullanıldığında sinerjik etki göstererek geri dönüşümsüz olarak β -laktamazları inaktive ederler (Bonomo ve Rice, 1999).

Monobaktamlar; aztreonam. Gram negatif bakterilere etkilidir (CLSI, 2013).

2.1.2. β -laktam Antibiyotiklerin Direnç Mekanizmaları

β -laktam antibiyotikler, bakterilerin dış membranında bulunan penisilin bağlama proteinlerine (PBP) etkiyerek, peptidoglikan sentezinin son aşamasını durdurur ve gelişmekte olan bakterilerin hücre duvarı gelişimini önler (Livermore, 1995).

β -laktam antibiyotiklere karşı oluşan direncin PBP'nde oluşan değişikliklere, permeabiliteye ve β -laktamaz enzimlere bağlı olarak üç şekilde gerçekleştiği bildirilmiştir (Li ve ark. 2007).

1) PBP'nde oluşan değişikliklere bağlı direnç

β -laktam antibiyotiklerin hedef bölgesine ait değişiklikler, genellikle antibiyotiğin aktivite gösterdiği spesifik gen bölgesinde, PBP'yi kodlayan genlerdeki nokta mutasyonları sonucu gelişir. Antibiyotik ve hedef bölgenin bağlanma affinitesi azalır. Bu mekanizma Gram pozitif bakterilerdeki β -laktam direncinden sorumludur; örneğin, PBP2a kaynaklı metisiline dirençli *Staphylococcus aureus* (MRSA) ve PBP5 kaynaklı dirençli *Enterococcus* spp. (Li ve ark. 2007).

Gram negatif bakterilerde, PBP'ne bağlı direnç nadiren görülür. Ancak *Haemophilus influenza* ve *Neisseria* spp. gibi Gram negatif bakterilerde PBP değişimine bağlı direnç görülebilmektedir (Antignac ve ark. 2001).

2) Permeabiliteye bağlı direnç

Hücre duvarının geçirgenliğine ait değişikliklerdir. Dış membran porin değişimi veya aktif pompa (efluks) sistemine bağlı gerçekleşir.

a. Dış membran porin değişimine bağlı direnç

Hücre duvarından moleküllerin girişi; moleküllerin akım yükü, şekil ve boyutuna göre porinler tarafından belirlenir. Porinlerde fonksiyon kaybı ile sonuçlanan mutasyonlar antibiyotik direncine neden olur. Örneğin, D2 porin kaybı *P.aeruginosa*'da imipenem direncine neden olmaktadır (Livermore, 1992). *E.coli*'de, OmpF, OmpC ve OmpE'nin antibiyotik direnci ile ilişkili olduğu bildirilmiştir (Nikaido, 2003).

Porin kaybının tek başına β -laktam direncine yol açmasının nadir olduğu, genellikle direnç oluşumunda porin kaybına ek olarak aktif efluks sistemi veya β -laktamaz üretimi gibi ikinci bir mekanizmanın yer aldığı belirtilmiştir (Livermore, 1991).

b. Aktif efluks (pompa) sistemlerine bağı direnç

Aktif efluks sistemlerine bağı direnç, dış membran porin değışikliğı ve/veya AmpC β -laktamaz üretimi gibi ikinci bir mekanizma ile birleştii durumlarda görölmektedir. Örneğın, *P.aeruginosa* hücresele membran kompozisyonuna bağı olarak penem antibiyotiklere doğıal direnç içermektedir (Okamoto ve ark. 2001).

3) β -laktamaz enzimlerine bağı direnç

β -laktamaz enzimler, β -laktam halkasını hidrolize ederek, substratı olan antibiyotiklerle kompleks bir ürün oluşturur ve böylece β -laktamları etkisiz hale getirirler (Livermore, 1995).

Gram negatif bakterilerde β -laktam direncinde baskın mekanizma, kromozom veya plazmid ile kodlanan β -laktamazlarla inaktivasyondur (Bush ve ark. 1995; Livermore, 1995). Bugüne kadar 400'den fazla β -laktamaz rapor edilmiş ve yeni β -laktamazlar hızla gelişmeye devam etmektedir (Jacoby ve Munoz-Price, 2005).

β -laktamazlara çeşitli sınıflandırmalar uygulanmıştır: Ambler Sınıflandırma; A, B, C, D ve Bush Sınıflandırma; tercih ettikleri substratlara ve inhibitör profillerine göre alt gruplara ayrılmıştır (Bush ve ark. 1995). Bush ve Jacoby (2010) tarafından, ana grupların her birinin çok sayıda yeni alt grupları olacak şekilde, enzim aktiviteleri ve substratlarına göre: Grup 1 sefalosporinazlar (C sınıfı); Grup 2 geniş spektrumlu sefalosporinazlar, inhibitör kombinasyonu, GSBL ve serin karbapenemaz (sınıfları A ve D); grup 3 metallo- β -laktamazlar (B sınıfı) şeklinde sınıflandırılmıştır. Özellikle Gram negatif bakteriler temel alınarak, β -laktamazların klinik önemlerine göre sınıflandırılması Tablo 2-1'de verilmiştir (Bush ve Jacoby, 2010).

β -laktamlara direnç, β -laktamazların substrat/inhibitör profili tarafından belirlenmektedir. Örneğın, 3. kuşak sefalosporinlere dirençlilik, C sınıfı AmpC β -laktamazlar ile, A sınıfı GSBL'ler ile (örneğın TEM veya SHV türevleri ve CTX-M ailesi gibi), D sınıfı OXA GSBL'ler ile veya A sınıfı ya da B sınıfı karbapenem hidrolize eden β -laktamazlar ile çeşitli yollardan kazanılabilir. Bu yüzden yeni geliştirilecek olan β -laktam ajanların β -laktamaz aktivitesine karşı stabil yapıda olması gerekmektedir (Bradford, 2001).

Tablo 2-1: Gram negatif bakteriler dikkate alınarak, β -laktamazların klinik önemlerine göre sınıflandırılması

Ambler Sınıfı	Fonksiyonel grup ya da alt gruplar*	Enzim	Substrat tercihleri ve inhibitör profilleri	Örnek enzimler
A	2b	TEM, SHV	Penisilinler, sefalosporinler (β -laktamaz inhibitörlerine duyarlı)	TEM-1, -2, -13, SHV-1, -11, -89
	2be (GSBL)	TEM, SHV	Genişlemiş spektrumlu sefalosporinler, monobaktamlar (β -laktamaz inhibitörlerine duyarlı)	TEM-3, -7, -10, -12, -26, SHV-2, -3, -115
	2br (IRT/IRS)	TEM, SHV	Penisilinler (β -laktamaz inhibitörlerine dirençli)	TEM-30, -31, -163, SHV-10, -72, -84, -107
	2ber (CMT)	TEM	Genişlemiş spektrumlu sefalosporinler, monobaktamlar (β -laktamaz inhibitörlerine dirençli)	TEM-50, -158
	2f	GES KPC SME	Karbapenem, oksiiimino- β -laktam ve sefamisin hidrolizinde artış (β -laktamaz inhibitörlerine değişken direnç)	GES-2'den GES-17'ye KPC-2'den KPC-11'e SME-1'den SME-3'e
B	3a (MBL)	IMP	Monobaktamlar hariç karbapenemlere geniş spektrumlu hidroliz (β -laktamaz inhibitörlerine dirençli)	IMP-1'den IMP-30'a
		VIM		VIM-1'den VIM-30'a
		NDM		NDM-1'den NDM-6'ya
C	1 (PMA β)	CMY DHA	Sefalosporinler, sefamisinler (β -laktamaz inhibitörlerine dirençli)	CMY-1'den CMY-72'ye DHA-1'den DHA-8'e
	1e (ESAC)	CMY	Sefalosporinler, sefamisinler ve seftazidime artan hidroliz (β -laktamaz inhibitörlerine dirençli)	GC1, CMY-10, -19, -37
D	2d	OXA	Kloksasilin (β -laktamaz inhibitörlerine değişken direnç)	OXA-1, -2, -10
	2de (GSBL)	OXA	Kloksasilin, geniş spektrumlu sefalosporinler (β -laktamaz inhibitörlerine değişken direnç)	OXA-11, -14, -15
	2df (CHDL)	OXA	Kloksasilin, karbapenemler (β -laktamaz inhibitörlerine değişken direnç)	OXA-23, -24, -51, -58

*Alt gruplar 2a, 2c, 2ce, 2e ve 3b klinik olarak sık karşılaşılan enzimlerden olmadığı için tabloda bulunmamaktadır. GSBL: genişlemiş spektrumlu β -laktamaz, IRT/IRS: sırasıyla, inhibitör dirençli TEM/SHV, CMT: kompleks mutant TEM, MBL: metallo- β -laktamaz, PMA β : plazmid-aracılı AmpC β -laktamaz, ESAC: genişlemiş spektrumlu AmpC sefalosporinaz, CHDL: karbapenem-hidrolize sınıf D β -laktamaz.

Enterobacteriaceae familyasında β -laktamlara direnç, β -laktamaz üretiminin kromozomal veya plazmid tarafından kodlanması ile oluşmaktadır. Geniş spektrumlu β -laktamlara karşı direnç; GSBL, AmpC ve metallo- β -laktamazlar gibi geniş spektrumlu β -laktamazların üretimine bağlı gelişmektedir. GSBL'ler sefamisin ve karbapenemlere karşı aktif olmayıp ve klavulanik asit gibi β -laktamaz inhibitörleri ile inaktive edilebilirler. AmpC β -laktamazlar ise klavulanik asit ile inhibe edilmezler ve sefepim ve karbapenem hariç genellikle tüm β -laktamlara dirençlidirler. Metallo- β -laktamazlar aztreonam hariç, tüm β -laktamları inaktive edebilirler (Batchelor ve ark. 2005; Bradford, 2001).

Kromozomal mutasyonlar ve genetik aktarımlar β -laktam antibiyotiklere direnç kazanımında etkilidir. Genellikle bakteriler farklı ortamlara uyum sağlamak üzere mutasyonlar geçirebilmektedirler (Martinez, 2009). Dirençliliğe ait gen transferi; plazmidler, patojenite adaları, bakteriyofajlar, transpozonlar, integron ve IS elementleri (insersiyon sekansları) gibi çeşitli mobil genetik elementler (MGE) ile gerçekleşmektedir (Normark ve Normark, 2002). Konjugatif plazmidlere ya da kromozomlara giriş yapabilme özellikleri bulunan transpozonların taşıdığı antibiyotik direnç genleri, direnç iletiminde en önemli unsurdur (Nordmann ve ark. 2009).

2.2. β -laktamazlar ve Tipleri

Enterobacteriaceae familyasında β -laktamaz üretimine bağlı gelişen β -laktam direncinden sorumlu enzimler: (1) GSBL'ler (SHV, TEM ve CTX-M tipi), (2) karbapenemazlar; A sınıfı (*K.pneumoniae* karbapenemazlar [KPC tipi]), B sınıfı (VIM, IPM ve NDM tipleri gibi metallo- β -laktamazlar [MBL]), D sınıfı oksasilineazlar (OXA-48-benzeri) ve (3) plazmid kaynaklı AmpC β -laktamazlar (CMY tipi) (Jacoby ve Munoz-Price, 2005).

2.2.1. Genişlemiş Spektrumlu β -laktamazlar ve Tipleri

GSBL'ler, geniş spektrumlu sefalosporinler (seftazidim veya sefotaksim), penisilinler ve aztreonama karşı hidrolitik aktivitesi bulunan, sefamisinlere (sefoksitin) ve karbapenemlere etkili olmayan ve klavulanik asit gibi β -laktamaz inhibitörleri ile inhibe edilen enzimlerdir (Livermore, 2008).

2.2.1.1. TEM Tipi β -laktamazlar

İlk TEM tipi, 1965 yılında, Atina'da bulunan Temoneira isimli bir hastaya ait penisilin ve 1. kuşak sefalosporinlere dirençli *E.coli* suşundan izole edilmiştir (Datta ve Kontomichalou, 1965). 1980'li yıllarda TEM-1, -2 ve -13 gibi mutantları keşfedilmiştir (Paterson ve Bonomo, 2005). Bazı TEM türevlerinin, β -laktamaz inhibitörlerine de affiniteleri azaldığı bulunmuş ve inhibitör dirençli TEM (IRT) olarak adlandırılmıştır. TEM türevlerinin bazı mutantları (CMT-1, -2, -3 ve -4) hem 3. kuşak sefalosporinleri hem de β -laktamaz inhibitörlerini hidrolize edebildiği tespit edilmiştir (Fielt ve ark. 2000). 216 TEM tipi GSBL tespit edilmiş ve bunların hepsi TEM-1 veya TEM-2 türevlerinin nokta mutasyonları ile oluşmuştur (Jacoby ve Bush, 2014).

2.2.1.2. SHV Tipi β -laktamazlar

İlk SHV (sülfhidril değişken) tipi, 1970'li yıllarda, penisilin ve 1. kuşak sefalosporinlere dirençli *Klebsiella pneumoniae* suşundan tanımlanmıştır (Livermore, 2008). 1983 yılında, Almanya'da, *Klebsiella ozaenae* suşundan sefotaksim ve seftazidimi inaktive eden SHV-2 enzimi tanımlanmıştır. TEM tipi GSBL'ler ile birlikte 1980'li yıllardan itibaren Enterobacteriaceae üyelerinde 3. kuşak sefalosporinlere direnç gelişiminden sorumlu olmuşlardır (Pitout, 2012). 182 SHV tipi tespit edilmiş ve bunların hepsi SHV-1 ve SHV-2'nin türevleridir (Paterson ve Bonomo, 2005).

2.2.1.3. CTX-M Tipi β -laktamazlar

İlk CTX-M tipi, 1980'lerin sonunda, Münih'te 4 aylık bir bebekte gelişen kulak infeksiyonundan izole edilen *E.coli* izolatından tanımlanmıştır (Bauernfeind ve ark. 1990). Bunun yanı sıra FEC-1 suşu, 1988'de Japonya'da β -laktamlarla ilgili laboratuvar deneyleri yapılan bir köpeğin dışkısında izole edilen *E.coli* izolatında da belirlenmiştir (Matsumoto ve ark. 1988). TEM ve SHV tipi GSBL'lerin aksine CTX-M tipi enzimler, mevcut enzimlerin mutasyonu sonucu değil, *Kluyvera* sp.'ye ait β -laktamazların gen transferi ile ortaya çıkmışlardır (Pitout ve ark. 2004a). CTX-M tipi GSBL'ler, 2000'lerin başından itibaren TEM ve SHV tipi enzimlerden daha baskın şekilde, Enterobacteriaceae familyasında geniş spektrumlu sefalosporin direncinden sorumlu olmaya başlamışlardır. Filogenetik ve tanımlanma sırasına göre 5 sınıfa ayrılır: CTX-M Grup 1, CTX-M Grup 2, CTX-M Grup 8, CTX-M Grup 9 ve CTX-M Grup 25 (Woodford ve ark. 2006). 150 CTX-M tipi tespit edilmiştir (Jacoby ve Bush, 2014). Bugüne kadar tanımlanmış önemli CTX-M enzimlerinin ait olduğu gruplara göre sınıflandırması Tablo 2-2'te verilmiştir (Bonnet, 2004; Novais ve ark. 2008).

Tablo 2-2: CTX-M enzim ailesinde sınıflandırılan gruplar ve alt grupları

CTX-M Grup 1:	-1, -3, -10, -12, -15, -22, -23, -28, -29, -32, -33, -42, -52, -53, -54, -55, -58, FEC-1
CTX-M Grup 2:	-2, -4, -5, -6, -7, -20, -35, -43, Toho-1
CTX-M Grup 8:	-8
CTX-M Grup 9:	-9, -13, -14, -16, -17, -19, -21, -24, -27, Toho-2
CTX-M Grup 25:	-25, -26, -41

2000 yılından bu yana, CTX-M tipi GSBL üreten *E.coli*'ler (özellikle CTX-M-14 ve -15) dünya çapında idrar yolu ve kan dolaşımı infeksiyonlarında izole edilerek toplum kaynaklı sağlık sorunlarına neden olmuştur (Pitout ve Laupland, 2008).

2.2.1.4. OXA Tipi β -laktamazlar

OXA tipi β -laktamazlar, oksasilin-hidrolizasyon yeteneğinden dolayı bu ismi almıştır. Geniş spektrumlu sefalosporinleri hidrolize edemez ve GSBL olarak kabul edilmezler. Bu kuralın istisnaları OXA-10 ve OXA-13'ten OXA-19'a kadar olan tipleridir. OXA serisi enzimler içinde GSBL özelliğinde olan, olmayan ve karbapenemaz özelliğinde olan enzimler (OXA-48) bulunur. OXA tipi GSBL'lerin, TEM ve SHV tipi türevlerinden geliştiği düşünülmektedir. OXA tipi GSBL'ler 3. ve 4. kuşak sefalosporinleri inaktive ederler. Genişlemiş spektrumlu OXA enzimlerinden ilki Türkiye'de Hacettepe Üniversitesi Hastanesi'nde yatan bir hastadan izole edilen *P.aeruginosa* suşunda tanımlanmıştır (Hall ve ark. 1993). Daha sonra yine dünyada ilk kez OXA-14, -15, -16 ve -17 tipi β -laktamazlar Türkiye'de izole edilen *P.aeruginosa* suşlarında tanımlanmıştır. Türkiye'de, OXA tipi enzimler Enterobacteriaceae üyelerinde de görülmeye başlamıştır. Sıklıkla *P.aeruginosa*'da bulunmaktadırlar. En yaygını OXA-1'dir ve *E.coli* suşlarının %1-10'unda bulunmaktadır (Paterson ve Bonomo, 2005; Livermore, 1995; Danel ve ark. 1995).

2.2.1.5. Diğer GSBL Tipleri

PER (Pseudomonas-genişlemiş dirençli), VEB (Vietnam genişlemiş spektrumlu β -laktamaz), BES (Brezilya genişlemiş spektrumlu), GES (Guyana genişlemiş spektrumlu), TLA (Tlahuica Hintlileri), SFO (Serratia fonticola) ve IBC (integron kaynaklı sefalosporinaz) diğer GSBL türleridir. Bu enzimler Enterobacteriaceae üyelerinde yaygın değildirler (Paterson ve Bonomo, 2005).

2.2.2. AmpC Tipi β -laktamazlar

AmpC üreten izolatlar sefalosporinlere ve sefamisinlere karşı aktivite gösterir, β -laktamaz inhibitörleri ile zayıf inhibisyon gösterir ve kloksasilin ile inhibe edilirler. AmpC β -laktamazların üretimindeki artış, β -laktam (penisilin, 1. kuşak sefalosporinler, sefotaksim veya klavulanik asit) kullanımı veya enzim ekspresyonunu düzenleyen genlerin mutasyonu sonucu gerçekleşebilir (Jacoby, 2009).

Enterobacteriaceae üyelerinde kromozomal AmpC β -laktamazlar, oksiimino-sefalosporinler (sefotaksim, seftazidim), 7-metoksi- α -sefalosporinler (sefamisin, sefoksitin, sefotetan) ve monobaktamlara (aztreonam) karşı dirençlidir. *Klebsiella* spp., *Salmonella* spp. ve *Proteus mirabilis*'te kromozomal β -laktamaz eksikliği nedeniyle plazmid aracılı AmpC tipi β -laktamazlar söz konusudur (Jacoby, 2009).

E.coli, kromozomal genleri ile AmpC tipi β -laktamaz sentezleyebilmektedir. *E.coli*'de az düzeyde kromozomal AmpC geni eksprese edilmesine rağmen, gen duplikasyonları ve mutasyonları ile AmpC promotörü ya da attenüasyon mekanizmaları ile gen ekspresyon düzeyi artmaktadır. Bazı durumlarda, kromozomal kodlanmış AmpC sefalosporinaz üreten sefamisin/sefalosporin dirençli *E.coli* izolatlarından türev olarak, plazmid aracılı β -laktamaz üretimi gerçekleşmektedir (Philippon ve ark. 2002).

Plazmid aracılı AmpC üreten organizmalar ilk kez 1980'lerde bildirilmiştir. Bu enzimler (MOX, ACT, FOX, ACC ve DHA grupları); *Enterobacter* spp., *C.freundii*, *Morganella morganii*, *Aeromonas* spp. ve *Hafnia alvei* türlerinin kromozomal kodlu AmpC sefalosporinazlarının türevleridir ve β -laktamaz inhibitörleri tarafından inhibe edilmezler. Tipik olarak büyük plazmidler tarafından kodlanan çoklu direncin bulunduğu ve terapötik ilaç seçeneğinin çok az olduğu antibiyotik direncinden sorumludurlar (Philippon ve ark. 2002).

Bazı AmpC enzim tipleri *E.coli*'de, bazıları ise *Klebsiella* spp.'de sıklıkla bulunmaktadır. EBC ve DHA enzimlerinin *E.coli*'de düşük, *Klebsiella* spp.'de yüksek oranda bulunduğu, CMY-2 enziminin ise tersine *E.coli*'de yüksek, *Klebsiella* spp.'de düşük oranda bulundukları bildirilmiştir (Coşkun ve Altanlar, 2012a). MOX grubu enzimler *Klebsiella* spp. izolatlarında belirlenmeye başlanmış (Horii ve ark. 1993; Raskine ve ark. 2002) ve sonrasında *E.coli* izolatlarında da görülmüştür (Mohamudha ve ark. 2012; Wassef ve ark. 2014).

2.2.3. Karbapenemazlar

Karbapenemazlar üçe ayrılırlar: MBL tipi, KPC tipi ve OXA-48 tipi enzimler.

MBL tip, EDTA ile inaktive edilebilirler. Penisilin, sefalosporin, sefamisin ve aztreonam dışında yalnız karbapenemler etkili olmaktadır. NDM-1 türevi, ilk kez 2008 yılında Hindistan'a seyahat geçmişi bulunan İsveç bir hastadan izole edilen *E.coli* ve *K.pneumoniae*'de belirlenmiştir (Yong ve ark. 2009). Hindistan'da, NDM tipi MBL üreten organizmalar hastane dışı çevrelerde de yayılma gösterdiği belirtilmiştir. VIM (Verona integrini kodlanmış metallo- β -laktamaz) ve IMP (imipenemaz) gibi diğer MBL'lar *P.aeruginosa*'da ve *Acinetobacter* türlerinde yaygındır (Pitout, 2012).

Aztreonam dahil olmak üzere tüm β -laktamları hidrolize edebilen KPC tipleri, geniş spektruma sahiptir. Klavulanik aside karşı zayıf inhibisyon gösterir (Pitout, 2012).

KPC enzimler Ambler Sınıf A'da yer alır ve şimdiye kadar 15 tip belirlenmiştir (Jacoby ve Bush, 2014). KPC tipi karbapenemazlar ilk kez 1990'ların sonlarında identifiye edilmiştir. Daha sonra İsrail, Latin Amerika, Çin ve Yunanistan'a yayılım göstermiştir (Nordmann ve ark. 2009).

OXA-48 tipi karbapenemazlar Ambler sınıf D'ye aittir (Pitout, 2012). İlk olarak *P.aeruginosa* izolatlarından izole edilmiş ve günümüzde birçok Enterobacteriaceae üyelerinde izole edilmektedir. Bu enzimler penisilin, sefalosporin ve karbapenemleri hidrolize eder ve oksiminio-sefalosporin ve monobaktamlara karşı sadece fenotipik düzeyde aktivite göstermektedir. OXA tipi karbapenemazlar *E.coli* ve *K.pneumoniae* suşlarında, Türkiye, Kuzey Afrika ve Hindistan'da görülmüştür (Gulmez ve ark. 2008; Poirel ve ark. 2012). OXA-48 tipi karbapenemazlara ait genler kromozom ve plazmid ile kodlanabilmektedir. Özellikle kromozom tarafından kodlanan genlerin *A.baumannii* izolatlarında antibiyotik direncinde önemli rolü bulunmaktadır (Pfeifer ve ark. 2010).

Tablo 2-3'te GSBL, AmpC ve karbapenemazların genel özellikleri verilmiştir.

Tablo 2-3: GSBL, AmpC ve karbapenemaz enzimlerinin karakteristik özellikleri

Enzim	Ambler sınıflandırma	Örnekler	Direnç Spektrumu	İnhibitörler
GSBL	Sınıf A	TEM (TEM-1, 2 ve 13 hariç diğerleri), SHV (SHV-1 hariç diğerleri), CTX-M	Penisilinler, sefalosporinler, monobaktamlar	Klavulanik asit, tazobaktam, sulbaktam
AmpC	Sınıf C	CMY, FOX, ACT, MOX, ACC, DHA	Penisilinler, sefalosporinler, sefamisinler, monobaktamlar	Kloksasilin, boronik asit
Karbapenemazlar				
MBL tipi	Sınıf B	NDM, VIM, IMP	Penisilinler, sefalosporinler, sefamisinler, karbapenemler	EDTA ve diğer metal şelatörler
KPC tipi	Sınıf A	KPC	Penisilinler, sefalosporinler, sefamisinler, karbapenemler	Klavulanik asit, (zayıf inhibisyon), tazobaktam boronik asit
OXA tipi	Sınıf D	OXA-48	Penisilinler, karbapenemler	NaCl

2.3. Veteriner Hekimlikte β -laktam Antibiyotiklerin Kullanım Alanları

Beşeri hekimlikte antibiyotik tedavi stratejisi hastanın bireysel sağlık durumuna göre uygulanırken; veteriner hekimlikte, özellikle gıda hayvanlarında sürü içerisindeki diğer hayvanlar ve diğer çiftlik hayvanları göz önünde bulundurulması gerekmektedir.

Veteriner hekimlikte hayvan türlerinin ve yetiştirme ortamlarının çeşitliliği, infeksiyon etkenlerinin patojenite mekanizmaları ve karmaşık epidemiyolojileri nedeniyle antibiyotik direnci farklılık göstermektedir (Acar ve Moulin, 2012). Çeşitli hayvan patojenlerinin bazı antibiyotiklere dirençli olduğu bildirilmiştir. Örneğin; sığır, domuz ve kanatlı hayvanlarda *E.coli*; sığırlarda *Pasteurella multocida* ve *Mannheimia haemolytica* ve domuzlarda *Actinobacillus pleuropneumoniae* ve *Streptococcus suis* infeksiyonlarında gelişen antibiyotik direnci, doğrudan hayvan sağlığı ve hayvan refahını etkilemektedir (Lee ve Maurer, 2000; Noble ve Allaker, 1992).

Hayvanlarda antibiyotik kullanımı, sürü içinde ve ülkeler arasında, dirençli bakterilerin yayılmasına neden olmakta (McEwen ve Fedorka-Cray, 2002) ve kontamine çevre ve su kaynakları ile temas yoluyla (Chee-Sanford ve Aminov, 2001) ya da gıda kaynaklı (Platell ve ark. 2011) insanlara bulaşma olasılığı bulundurmaktadır.

β -laktam antibiyotikler, veteriner hekimlikte en sık reçeteye giren antibiyotikler arasındadır. Tablo 2-4'te hayvan infeksiyonlarının tedavisinde kullanılan β -laktam antibiyotikleri listelenmiştir (Li ve ark. 2007).

Tablo 2-4: Veteriner hekimlikte kullanılan β -laktam antibiyotikler

β -laktam grupları	Veteriner hekimlikte kullanılan türleri
Penisilinler	Ampisilin, amoksisilin, benzilpenisilin, kloksasilin, hetasilin
Penisilin- β -laktamaz inhibitör kombinasyonu	Amoksisilin-klavulanik asit
1. kuşak sefalosporinler	Sefadroksil, sefapirin, sefalekssin, sefazolin
2. kuşak sefalosporinler	Sefaklor, sefamandol, sefonisit, seforanit, sefuroksim
3. kuşak sefalosporinler	Sefovesin, sefpodoksim, seftiofur, sefoperazon
4. kuşak sefalosporinler	Sefkuinom
Monobaktamlar	Kullanım alanı yoktur
Karbapenemler	İmipenem, meropenem

Avrupa'da küçük hayvan hekimliğinde geniş spektrumlu antibiyotiklerin sıklıkla kullanıldığı bildirilmiş olup, en yaygın kullanılanlarının amoksisilin-klavulanik asit ve amoksisilin gibi β -laktamlar olduğu belirtilmiştir. 1. kuşak sefalosporinler genellikle köpeklerde kullanılmaktadır. Sefovesinin geliştirilmesine bağlı 3. kuşak sefalosporin kullanımının artışı gelişmiştir. Linkozamitler, florokinolonlar, makrolitler, tetrasiklinler, nitroimidazoller ve trimetoprim-sülfonamitler küçük hayvan hekimliğinde rutin kullanılan diğer antibiyotiklerdir (EMA/CVMP/AWP, 2013). Karbapenemler β -laktamlar arasında, en geniş antimikrobiyal aktiviteye sahip olup, hayvanlarda kullanılmak üzere lisans almamasına rağmen eşlikçi hayvanlarda etiket dışı kullanılmaktadır (Teale ve Moulin, 2012).

Veteriner hekimlikte antibiyotik uygulamalarında, florokinolon ile 3. ve 4. kuşak sefalosporin kullanımının sınırlandırılması ve klinik vakalarda antibiyotik duyarlılık testi ile doğrulanarak uygulanması tavsiye edilmektedir (EMA/CVMP/AWP, 2013).

β -laktam antibiyotiklerin köpek ve kedilerde klinik endikasyonlara göre tercihleri Tablo 2-5'de verilmiştir (Guardabassi ve ark. 2004).

Tablo 2-5: Köpek ve kedilerde β -laktamların klinik endikasyonlarına göre tercihleri

Klinik Belirti	β -laktam kullanımı (1. tercih)	β -laktam kullanımı (2. tercih)
Tekrarlayan piyoderma	Amoksisilin-klavulanik asit, 1. kuşak sefalosporin	
Deri yaraları	Sefotaksim, sefalekssin	
Sistit	Aminopenisilin, sefotaksim, sülfonamit/trimetoprim	Amoksisilin-klavulanik asit, florokinolon, sefalekssin, metronidazole
Üriner sistem infeksiyonları	Amoksisilin	Tetrasiklin
Nefrit	Amoksisilin	Florokinolon
Akut peritonit	Sefoksitin, sefotetan	
Pnömoni	Amoksisilin-klavulanik asit, sefalosporinler, penisilin, tetrasiklin, sülfonamit/trimetoprim	
Osteomiyelit	Amoksisilin-klavulanik asit, sefalosporinler	
Leptospirozis	Penisilin, amoksisilin	
Prostat	Sülfonamit/trimetoprim	Makrolit, linkozamit, florokinolon

2.4. Eşlikçi Hayvanlarda β -laktamaz Üreten Mikroorganizmalar

2.4.1. β -laktamaz Üreten *E.coli* İzolatları

Hayvanlarda ilk β -laktamaz enzimi 1986'da Japonya'da CTX-M tipi FEC-1 (Fujisawa, *E.coli*-1) olarak tanımlanan, β -laktam antibiyotiklerin farmakokinetik araştırmalarında kullanılan bir laboratuvar köpeğinin dışkılarından izole edilen sefotaksim dirençli *E.coli* suşundan tanımlanmıştır (Matsumoto ve ark. 1988). Kısa bir süre sonra Bauernfeind ve ark. (1989), Almanya'da insanlarda CTX-M-1 tipi *E.coli* suşu bildirmiş ve sonraki süreçte insanlarda CTX-M tipi GSBL üretimi dünya çapında yaygınlaşmaya başlamıştır. 1998 yılında İspanya'da idrar yolu infeksiyonu bulunan bir köpekten SHV-12 tipi GSBL üreten *E.coli* belirlenmiş, klinik olarak köpeklerde GSBL üreten ilk izolat kabul edilmiştir (Teshager ve ark. 2000). Bu gelişmeleri izleyen süreçte, Portekiz ve İtalya'da, köpeklerde özellikle TEM ve SHV tipi GSBL üreten *E.coli* raporları bildirilmiştir (Feria ve ark. 2002; Carattoli ve ark. 2005). Mevcut çalışmalar insanlara oranla sınırlı sayıda olsa da, benzer gelişmelerin eşlikçi hayvanlarda da olduğu kabul edilmektedir. Yayınlanma tarihlerine göre, eşlikçi hayvanlarda GSBL ve AmpC üreten bakteri türleri, Ewers ve ark. (2012)'nin yaptığı çalışmadan adapte edilerek, Tablo 2-6'da verilmiştir.

2.4.1.1. Sağlıklı Eşlikçi Hayvanlar

Sağlıklı eşlikçi hayvanlara ait dışkı örneklerinde saptanan GSBL veya AmpC β -laktamaz üreten *E.coli* sıklığı %7 ile 20 arasında tanımlanmıştır (Smet ve ark. 2010). Özellikle CTX-M-1 tipi GSBL'ler, Avrupa'da köpeklerde kommensal *E.coli* ve Latin Amerika'da köpek ve kedilerde kommensal *E.coli*'de tanımlanmıştır (Costa ve ark. 2004; Carattoli ve ark. 2005; Moreno ve ark. 2008). İtalya'da sağlıklı köpeklerin dışkılarından CMY-2 üreten *E.coli* suşları izole edilmiştir (Carattoli ve ark. 2005).

2.4.1.2. Hasta Eşlikçi Hayvanlar

Eşlikçi hayvanlarda; idrar yolu infeksiyonu (O'Keefe ve ark. 2010), deri infeksiyonu, cerrahi müdahale sonrası iyileşmeyen yara (Sidjabat ve ark. 2006), genital infeksiyon (SVARM, 2009), solunum yolu infeksiyonu (Sun ve ark. 2010), gastrointestinal infeksiyon (Ewers ve ark. 2010), eklem hastalıkları (SVARM, 2009) ve apse (Gibson ve ark. 2010) ile ilgili bölgelerden alınan klinik örneklerden, nekropsi sonucu infekte organ ve bağırsak içeriklerinden (Carattoli ve ark. 2005) GSBL üreten bakteri izolasyonu gerçekleştirilmiştir.

Tablo 2-6: Dünyada ilk β -laktamaz izolasyonundan günümüze sağlıklı ve hasta eşlikçi hayvanlarda saptanan GSBL ve/veya AmpC üreten bakteri türleri, β -laktamaz tipleri ve izolasyon yılları

Bakteri türü	Hayvan Türü	β -laktamaz tipi	Yıl	Ülke
<i>E.coli</i>	Köpek (S)	FEC-1 (CTX-M tipi)	1986	Japonya (Matsumoto ve ark. 1988)
<i>E.coli</i>	Köpek (S)	CTX-M-1; CMY-2	2001-2003	İtalya (Carattoli ve ark. 2005)
<i>E.coli</i>	Köpek (S)	CMY-2	2002	Kanada (Murphy ve ark. 2009)
<i>E.coli</i>	Kedi (S)	CTX-M negatif	2002	Kanada (Murphy ve ark. 2009)
<i>E.coli</i>	Kedi (S)	GSBL ve AmpC negatif	2003	Portekiz (Costa ve ark. 2004)
<i>E.coli</i>	Köpek (S)	CTX-M-1; OXA-30	2003	Portekiz (Costa ve ark. 2008)
<i>E.coli</i>	Köpek (S)	Fenotipik GSBL pozitif	2004	Kanada (Lefebvre ve ark. 2006)
<i>E.coli</i>	Köpek (S)	CMY-2	2005	İngiltere (Wedley ve ark. 2011)
<i>E.coli</i>	Köpek & Kedi (S)	CTX-M-1,-14; PER-2	2006	Şili (Moreno ve ark. 2008)
<i>E.coli</i> (ST131)	Köpek (S)	CTX-M-1; TEM-52B	2009	Kenya (Albrechtova ve ark. 2012)
<i>E.coli</i>	Kedi (S)	CTX-M-15	2009	Kenya (Albrechtova ve ark. 2012)
Enterobacteriaceae	Köpek & Kedi (S)	Fenotipik GSBL pozitif	2010	İsviçre (Gandolfi-Decristophoris ve ark. 2013)
<i>E.coli</i>	Köpek (S)	SHV-12		Japonya (Harada ve ark. 2011)
<i>E.coli</i>	Köpek (S)	CTX-M-1; CMY-2		Tunus (Sallem ve ark. 2013)
<i>E.coli</i>	Köpek (S)	CTX-M-1, -9, -15, -32; CMY-2; DHA-1	2010-2011	Portekiz (Belas ve ark. 2014)
<i>E.coli</i>	Köpek & Kedi (H/S)	CTX-M-3, -9, -14, -15, -24, -27, -55, -64, -65; SHV-12	2007-2008	Çin (Sun ve ark. 2010)
<i>E.coli</i>	Köpek & Kedi (H/S)	CTX-M-1, -14, -15; TEM-35, -52; CMY-2	2011-2012	Hollanda (Hordijk ve ark. 2013)
<i>Salmonella enterica</i>	Köpek & Kedi & At (H)	CTX-M grup III; SHV ^a ; TEM ^a ; CMY-2	1999-2003	Amerika (Frye ve Fedorka-Cray, 2007)
<i>E.coli</i>	Köpek (H)	SHV-12; CMY-2,-7; CIT; OXA-10	1999-2007	Avustralya (Gibson ve ark. 2010)
<i>E.coli</i>	Kedi (H)	CMY-2,-7	1999-2007	Avustralya (Gibson ve ark. 2010)

<i>E.coli</i>	Köpek (H)	CMY-7	2000-2001	Avustralya (Sidjabat ve ark. 2006)
<i>Enterobacter</i> spp.	Köpek (H)	SHV-12; OXA-10; CMY-2	2001-2005	Avustralya (Sidjabat ve ark. 2007)
<i>E.coli</i>	Köpek (H)	TEM-1 (IRT)		Portekiz (Pomba-Feria ve Caniça, 2003)
<i>E.coli</i>	Köpek & Kedi (H)	CTX-M-14,-15; SHV-12	2004-2007	Amerika (O'Keefe ve ark. 2010)
<i>E.coli</i>	Köpek & Kedi (H)	CTX-M-1, -15	2004-2006	Almanya (Schink ve ark. 2011)
<i>E.coli</i>	Köpek & Kedi (H)	CTX-M-15	2007-2008	Avustralya (Platell ve ark. 2011)
<i>E.coli</i> , <i>S.enterica</i> , <i>P.mirabilis</i> , <i>C.freundii</i> , <i>E.cloacae</i>	Köpek & Kedi & At (H)	CTX-M-1, -9, -14, -15; TEM-52; CMY-2, -39	2007-2009	Hollanda (Dierikx ve ark. 2012)
<i>E.coli</i> (ST131)	Köpek & At (H)	CTX-M-15; SHV-12	2008-2009	Avrupa (Ewers ve ark. 2010)
<i>E.coli</i>	Köpek & Kedi (H)	CTX-M-14, -15, -24; SHV-3	2008-2009	Amerika (Shaheen ve ark. 2011)
<i>C.freundii</i>	Köpek & Kedi & At & Muhabbet kuşu (H)	CTX-M-1; SHV-12	2008-2010	Avrupa (Ewers ve ark. 2011)
<i>E.coli</i>	Köpek & Kedi (H)	CTX-M-15	2010-2011	İsviçre (Huber ve ark. 2013)

^aGenetik olarak karakterize edilmeyen

S=Sağlıklı Hayvan; H=Hasta Hayvan

Hasta eşlikçi hayvanlarda, üriner sistem infeksiyonlarından izole edilen *E.coli* suşlarında GSBL varlığı dikkat çekmektedir (Dierikx ve ark. 2012; Huber ve ark. 2013). Pensilvanya'da, köpek ve kedi üriner izolatlarından %7,3 oranında CTX-M-15, -14 ve SHV-12 üreten *E.coli* tespit edilmiştir (O'Keefe ve ark. 2010).

İtalya'da ve Almanya'da direnç izleme çalışmalarında solunum yolu infeksiyonu bulunan köpekten CTX-M-1 üreten *E.coli* tespit edilmiştir (Carattoli ve ark. 2005; Schink ve ark. 2011). Hollanda, Fransa, Danimarka, Almanya ve İspanya'da bulunan hasta köpek ve kedilerde sıklıkla CTX-M-15 üreten *E.coli* tespit edilirken, Amerika'da CTX-M-14, -15 ve -24, SHV, TEM ve CMY-2 tespit edilmiştir (Ewers ve ark. 2010; Shaheen ve ark. 2011).

Hasta köpeklerde izole edilen GSBL veya AmpC üreten *E.coli* izolatlarının sıklığı %1,4 ile %19,4 arasında seyretmektedir (Smet ve ark. 2010).

Türkiye'de, şimdiye kadar, sağlıklı ya da hasta eşlikçi hayvanlarda GSBL ve/veya AmpC üreten *E.coli* izolatlarına yönelik herhangi bir çalışma yapılmamıştır.

2.4.2. β -laktamaz Üreten Diğer Enterobacteriaceae Üyeleri

Bugüne kadar, eşlikçi hayvanlarda *E.coli* dışında diğer Enterobacteriaceae üyelerinde GSBL enzimlerinin varlığı *Citrobacter* spp. (Ewers ve ark. 2011), *Enterobacter* spp. (Sidjabat ve ark. 2007), *Klebsiella* spp. (Vo ve ark. 2007) ve *Salmonella* spp. (Frye ve Fedorka-Cray, 2007) izolatlarında bildirilmiştir.

2700 izolatın incelendiği Hollanda'da bir çalışmada, eşlikçi hayvanlarda idrar, yara, solunum, abdomen ve kemik infeksiyonlarından CTX-M-1, -2, -14, -15, TEM-52 ve CMY-2 tipi GSBL üreten *S.enterica*, *P.mirabilis*, *E.cloacae* ve *E.coli* türleri izole edilmiştir (Dierikx ve ark. 2012).

ABD'nde yapılan bir çalışmada, veteriner kliniği ve hayvan barınaklarında bulunan eşlikçi hayvanlarda gastrointestinal infeksiyon salgınında çoklu ilaca dirençli *Salmonella* Typhimurium izole edilmiştir (Wright ve ark. 2005).

GSBL üreten *Salmonella* suşlarının yaratacağı riskin önemli olduğu savunulmaktadır. ABD'de bir çalışmada, *Salmonella* suşları arasında seftiofur direnci, kedilerde %9,8, atlarda %19,2 ve köpeklerde %20,8 bulunmuş ve bunlardan CTX-M grup III, SHV, TEM ve CMY-2 identifiye edilmiştir (Frye ve Fedorka-Cray, 2007).

2.4.3. Enterobacteriaceae Üyelerinde Karbapenemaz Üretimi

Eşlikçi hayvanlardan izole edilen Gram negatif bakterilerde karbapenem direnci nadiren görülmektedir. Bir raporda *P.aeruginosa*'da fenotipik imipenem ve meropenem direnci tanımlanmış olsa da genotipik direnç mekanizması tespit edilememiş, bu izolatlar VIM ve IMP negatif bulunmuştur (Pitout ve ark. 2012). Eşlikçi hayvanlarda MBL ile ilgili ilk rapor, ABD'de 5 köpek ve 1 kedi kökenli *E.coli* suşunda NDM-1 pozitifliğidir (Shaheen ve ark. 2013). Veteriner hekimlikte ilk OXA-48 üreten *E.coli* ve *K.pneumoniae* suşları yakın zamanda tespit edilmiş; bu izolatlar Almanya'da hastane infeksiyonu bulunan 6 köpekten izole edilmiştir (Stolle ve ark. 2013).

2.5. Gıda Hayvanlarında β -laktamaz Üreten Mikroorganizmalar

Sağlıklı gıda hayvanlarından izole edilen Enterobacteriaceae üyelerinde GSBL varlığı, AmpC varlığından daha fazla çeşitlilik göstermektedir. Enterobacteriaceae üyelerinde GSBL varlığı %0,2 ile %40,7 arasında değişmektedir (Smet ve ark. 2010). Bazı GSBL türleri belirli ülkelere spesifite göstermektedir; Belçika'da TEM-106, Tunus'ta CTX-M-8 ile SHV-5 ve Çin'de çeşitli CTX-M enzimleri gibi (Smet ve ark.

2008; Jouini ve ark. 2007; Tian ve ark. 2009). Belirli GSBL'lerin dünya çapında yaygın görüldüğü belirtilmektedir. Avrupa'da TEM-52 ve SHV-12 üreten Enterobacteriaceae üyeleri özellikle kanatlı hayvanlardan izole edilmiştir (Cloeckaert ve ark. 2007). CTX-M-1, -2 ve -14 tipi GSBL'ler, birçok Avrupa ülkesinde çoğunlukla kanatlı hayvanlar ile ilişkili olmuştur. CTX-M-15 enzimi son zamanlarda kanatlı hayvanlar ve domuzlardan izole edilen *E.coli*'de tespit edilmiştir (Brinas ve ark. 2003; Costa ve ark. 2009).

Gıda hayvanlarında kommensal Enterobacteriaceae üyelerinde AmpC varlığı %0,01 ile %88,5 arasında değişmektedir. Bunlar arasında CMY-2 tanımlanan en yaygın enzimdir (Smet ve ark. 2010).

Klinik olarak gıda hayvanlarında ilk GSBL üreten *E.coli*, 2004'te İngiltere'de ishali buzağıdan elde edilmiş ve bu suşta CTX-M-14 enzimi tanımlanmıştır. Aynı çiftlik içinde yetişkin sığırlarda da aynı suş görülmüştür (Liebana ve ark. 2006).

AmpC enzimleri sığır ve domuza ait klinik örneklerde Enterobacteriaceae üyelerinde tespit edilmiştir. Gıda hayvanlarında klinik örneklerden izole edilen AmpC üreten etkenlerin sıklığı %0,3'den %77'ye değişmektedir. AmpC'ler arasında en yaygın tür CMY-2'dir. Bir raporda DHA-1 enzimi bulunmuştur (Rayamajhi ve ark. 2008).

İnsanlarda ve gıda hayvanlarında aynı suşların tespiti, gıda hayvanları ile temas ya da gıda yoluyla bulaşmanın olası olduğunu göstermektedir (Dierikx ve ark. 2013).

Türkiye'de veteriner hekimlik alanında GSBL ve/veya AmpC üreten bakteriler ile ilgili henüz yeterli sayıda çalışma bulunmamasına rağmen, Dinç ve ark. (2012) ile Aksoy ve ark. (2005)'nin yaptığı çalışmalarda sırasıyla mastit şüpheli inek sütleri ve sığırların rektum mukozasından alınan örneklerde fenotipik olarak GSBL incelemesi yapılmış, fakat herhangi bir pozitifliğe rastlanmamıştır.

2.6. Diğer Hayvanlarda β -laktamaz Üreten Mikroorganizmalar

Bugüne kadar domuz, sığır ve kanatlı hayvanlar gibi besi hayvanlarında ve bu hayvanlara ait et ya da çiğ süt gibi gıda ürünlerinde (Brinas ve ark. 2003); insanlarla yakın ilişkili at (Vo ve ark. 2007), muhabbet kuşu (Ewers ve ark. 2011) ve tavşan (Brinas ve ark. 2003) gibi evcil hayvanlarda; geyik, baykuş, yırtıcı kuş, tilki (Costa ve ark. 2006), martı (Poeta ve ark. 2008), göçmen kaz (Middleton ve Ambrose, 2005) ve kahverengi sıçan (Guenther ve ark. 2010) gibi vahşi hayvanlarda GSBL ve/veya AmpC üreten *E.coli* bulunduğu bildirilmiş ve yayılımı tartışılmıştır.

2.7. İnsanlarda β -laktamaz Üreten Enterobacteriaceae Üyeleri

2.7.1. Sağlıklı İnsanlar

2000 yılından bu yana sağlıklı insanlarda GSBL üreten Enterobacteriaceae üyelerinin fekal taşıyıcılığını rapor eden yayınların sayısı hızla artmaktadır (Valverde ve ark. 2004; Kaneko ve ark. 2005). İnsanda *E.coli*'lerde rapor edilen GSBL'lerin en baskın olanı CTX-M ailesine ait CTX-M-9 enzimidir.

Sağlıklı insanların dışkı örneklerinde AmpC β -laktamaz üreten bakterilerde ağırlıklı olarak CMY-2 enzimi belirlenmektedir (Pai ve ark. 2004; Su ve ark. 2005).

Türkiye'de, Küçükbaşmacı ve ark. (2009), 2008'de sağlıklı insanların dışkı örneklerinde %84,4 oranında GSBL üreten *E.coli* saptamıştır. GSBL üreten suşların %90,6'sında *bla*_{CTX-M}, %68,7'sinde *bla*_{TEM} ve %34,3'ünde *bla*_{SHV} geni belirlenmiştir.

2.7.2. Hasta İnsanlar

Dünyanın çeşitli bölgelerinde, GSBL ve AmpC β -laktamazlara hastane veya toplum kaynaklı insan izolatlarında rastlanılmaktadır (Paterson ve Bonomo, 2005; Pitout ve ark. 2005; Livermore ve ark. 2007; Jacoby, 2009).

İnsan izolatlarında TEM-52 ve SHV-12 türleri ilk kez Avrupa'da bildirildikten sonra (Knothe ve ark. 1983; Arlet ve ark. 1994), ABD'nde TEM tipi ve CTX-M tipi GSBL'ler dünya çapında baskın hale gelmiştir (Jacoby ve ark. 1988; Rice ve ark. 1996).

Birçok farklı CTX-M tipi dünya genelinde, özellikle üriner sistem infeksiyonlarından izole edilen *E.coli*'ler arasında yaygınlaşmıştır (Pitout ve ark. 2005; Doi ve ark. 2007; Livermore ve ark. 2007). Bazı CTX-M enzimleri Avrupa ülkelerinde baskın görülmüştür; İspanya ve Portekiz'de CTX-M-14 ve -9 (Garcia ve ark. 2005; Romero ve ark. 2005; Mendonça ve ark. 2007), İtalya ve Fransa'da CTX-M-1 ve -15 (Livermore ve Hawkey, 2005; Carattoli ve ark. 2008) ve İngiltere'de CTX-M-15 (Livermore ve ark. 2007) belirlenmiştir. ABD'de, en yaygın CTX-M tipleri, sırasıyla, CTX-M-15, -16, -8 ve -14 olmuştur (Lewis ve ark. 2007; Hanson ve ark. 2008). Afrika ve Asya kıtalarında üriner sistem infeksiyonları, nozokomiyal ve toplum kökenli *E.coli* izolatlarında CTX-M-15, -14 ve diğer CTX-M tipleri rapor edilmiştir (Chmelnitsky ve ark. 2005; Gangoue-Pieboji ve ark. 2005; Ho ve ark. 2005; Song ve ark. 2009).

GSBL ve AmpC β -laktamaz üreten insan izolatlarının dünyadaki dağılımı, Ewers ve ark. (2012)'nin yaptığı çalışmadan adapte edilerek, Tablo 2-7'de verilmiştir.

Tablo 2-7: İnsanlarda belirlenen GSBL ve AmpC üreten bakteri türleri

Türler	β -laktamaz tipi	İzolasyon yılı	İnfeksiyon türü	Ülke
GSBL				
Enterobacteriaceae	SHV-12	1995-1998	Üriner sistem infeksiyonu, bakteriyemi	Kamerun (Gangoué-Piéboji ve ark. 2005)
<i>E.coli</i> , <i>K.pneumoniae</i> , <i>P.mirabilis</i> , <i>Enterobacter aerogens</i>	TEM-3, -15, -19, -21, -24; CTX-M-1; SHV-44	1999	Üriner sistem infeksiyonu, bakteriyemi, yara	Fransa (Arpin ve ark. 2003)
<i>E.coli</i>	CTX-M-9	1996-1999	Üriner sistem infeksiyonu, bakteriyemi, yara	İspanya (Garcia ve ark. 2005)
<i>P.mirabilis</i>	SHV-5; CTX-M-13, -14; TEM-11	1999-2002	Bakteriyemi	Çin (Ho ve ark. 2005)
<i>E.coli</i> , <i>K.pneumoniae</i>	CTX-M-9, -14; SHV-2, -4, -12; TEM-4, -20, -53	1995-2003	Üriner sistem infeksiyonu, bakteriyemi, solunum yolu infeksiyonu	İspanya (Romero ve ark. 2005)
<i>E.coli</i>	CTX-M-9, -14, -32; TEM-52; SHV-12	2002-2003	Üriner sistem infeksiyonu	İspanya (Brinas ve ark. 2005)
<i>E.coli</i>	CTX-M-1, -3, -9, -14, -15, -32; SHV-2, -12; TEM-4, -52, -116	2002-2003	Üriner sistem infeksiyonu	İspanya (Rodriguez-Bano ve ark. 2009)
<i>E.coli</i> , <i>K.pneumoniae</i>	<i>E.coli</i> : CTX-M-14, -15, -27, -40, -55 <i>K.pneumoniae</i> : CTX-M-3, -14, -15, -27, -55	2004-2005	Üriner sistem infeksiyonu	Tayland (Kiritasin ve ark. 2008)
<i>E.coli</i>	CTX-M-15	2006	Üriner sistem infeksiyonu	İtalya (Carattoli ve ark. 2008)
<i>Salmonella</i> spp.	TEM-63, -131; SHV-12	2002-2003	Salmonelloz	Güney Afrika (Kruger ve ark. 2004)
<i>Salmonella</i> spp.	CTX-M-9, -10; SHV-2	2000-2004	Salmonelloz	İspanya (Riano ve ark. 2009)
<i>E.coli</i>	CTX-M-14, -15, -32	2004-2006	Üriner sistem infeksiyonu, bakteriyemi, yara	Portekiz (Mendonça ve ark. 2007)
<i>E.coli</i>	CTX-M-1, -2, -9, -14, -15	2005-2006	Solunum yolu infeksiyonu, bakteriyemi, Üriner sistem infeksiyonu	Kanada (Zhanel ve ark. 2008)
<i>E.coli</i>	CTX-M-3, -9, -12, -14, -15, -22, -27, -57	2007	Üriner sistem infeksiyonu, bakteriyemi, yara	Kore (Song ve ark. 2009)
AmpC β-laktamazlar				
<i>Salmonella</i> spp.	CMY-2, -4; DHA-1	1999-2003	Salmonelloz	İngiltere (Batchelor ve ark. 2005)
<i>Salmonella</i> spp.	CMY-2	1999-2003	Salmonelloz	Tayvan (Su ve ark. 2005)
<i>E.coli</i>	CMY-2	1998-2000	Üriner sistem infeksiyonu, bakteriyemi	ABD (Winokur ve ark. 2001)
<i>K.pneumoniae</i>	DHA-1; CMY-1	1998-2002	Bakteriyemi	Güney Kore (Pai ve ark. 2004)
<i>E.coli</i>	CMY-2	2002-2003	Üriner sistem infeksiyonu	İspanya (Brinas ve ark. 2005)

Birçok ülkede *E.coli* ve *K.pneumoniae* suşlarında CMY ve DHA tipi AmpC'ler geniş coğrafi yayılım göstermekte ve sıklıkla belirlenen AmpC enzimlerinden sayılmaktadırlar (Kruger ve ark. 2004; Su ve ark. 2005; Pfeifer ve ark. 2010).

Ülkemizde insanlara ait hastane izolatlarında GSBL üreten *E.coli* sıklığı günümüze kadar olan süreçte artma eğilimi göstermiştir: Büyükbaba ve ark. (1996) %0; Töreci ve ark. (1996) %3,5; Kaygusuz ve ark. (1997) %0; Kaleli ve ark. (1998) %0; Akıncı ve ark. (2000) %10; Bülüş ve ark. (2003) %14, Azap ve ark. (2006) %43,7; Uyanık ve ark. (2010) %44; Bilgi ve ark. (2013) %17,4. Bu suşların çoğunluğu çocuk hastalardan veya idrar örneklerinden izole edilmiştir. Özellikle idrar yolu infeksiyonlarından izole edilen GSBL pozitif *E.coli* suşlarında CTX-M tipi β -laktamaz prevalansı oldukça yüksek oranlarda (%98) bulunmaktadır (Azap ve ark. 2010).

GSBL üreten *E.coli*'nin insanlarda kolonizasyonuna risk faktörü olarak; idrar yolu infeksiyonları, antibiyotik kullanım geçmişi (özellikle sefalosporin ve florokinolon kullanımı), hastane ya da klinikte bulunma geçmişi, huzurevi sakinleri, yaşlılık, diyabet ve karaciğer patolojisi gösterilmektedir (Pitout ve ark. 2005).

2.8. β -laktamaz Üreten Mikroorganizmaların Epidemiyolojisi

2.8.1. β -laktamaz Üreten Mikroorganizmalara Ait Türler Arası Bulaş Verileri

Gıda hayvanlarında antibiyotik direnci ile ilgili süreyans programları uygulanmasına rağmen (Kanada'da CIPARS, ABD'nde NARMS, Danimarka'da DANMAP), eşlikçi hayvanlarda konu ile ilgili bilgiler sınırlıdır (Ewers ve ark. 2012).

Epidemiyoloji çalışmaları ile eşlikçi hayvanlarda GSBL üreten *E.coli* ve *K.pneumoniae* suşları incelenmiştir. İnsan klinik izolatları arasında dünya çapında yaygınlık gösteren *E.coli* B2 O25b:H4-ST131-CTX-M-15 (*E.coli* ST131 suşu: CTX-M ile birlikte florokinolon direnci içeren suş) eşlikçi hayvanlardan izole edilmiştir (Pomba ve ark. 2009). Avustralya'da yapılan bir çalışmada, hastanede bulunan köpeklerin dışkılarından da *E.coli* O25b-ST131 suşu izole edilmiştir (Guo ve ark. 2013). Avrupa ülkelerinde eşlikçi hayvanlardan izole edilen GSBL üreten *E.coli* izolatlarının %5,6'sında ST131 varlığı belirlenmiştir. İnsan ve eşlikçi hayvanlarda ST131 klonuna ait gelişen salgınlar, bu suşların insan ve hayvanlar arasında bulaşmanın mevcut olabileceğini vurgular niteliktedir. CTX-M-15 üreten ST131 *E.coli* suşunun, insanlarda daha baskın görülmesi nedeniyle, bu organizmanın hayvan türlerine insanlar tarafından bulaşmasının

daha olası olduğu vurgulanmaktadır (Ewers ve ark. 2010). Bunun yanı sıra insanlarda izole edilen *E.coli* ST648, ST10, ST405 ve ST38 suşları eşlikçi hayvanlarda da rapor edilmiştir (So ve ark. 2012; Tamang ve ark. 2012).

İnsanlar ve eşlikçi hayvanlar arasında bulaş hipotezini destekleyen en önemli çalışma, 5 kişi ve bir köpeğin bulunduğu bir aileden elde edilen *E.coli* izolatlarının incelendiği çalışmadır. Bu çalışmada, her bir 6 aile üyesinden, annenin üriner sistem infeksiyonu varlığı ile başlayan ve köpekte üriner sistem infeksiyonu gelişmesiyle devam eden süreçte, periyodik olarak 3 yıl boyunca örnekler alınmıştır. İzolatlar PFGE ve sekans analizi yapılarak, virülens genleri birbiri ile karşılaştırılmıştır. Annede infeksiyona neden olan suşun, diğer 4 kişide dışkıda kolonize olduğu ve köpekte de infeksiyona neden olduğu saptanmıştır. Benzer şekilde, köpekte infeksiyona neden olan farklı bir suşun da, diğer beş kişinin dördünde dışkıda kolonize olduğu bulunmuştur (Johnson ve ark. 2008).

CTX-M-1, özellikle Avrupa'da sığır, domuz, kanatlı hayvan ve eşlikçi hayvanlarda tüm GSBL'lerin önemli bir kısmını oluşturmaktadır. Sağlıklı insanlarda, kanatlı hayvanlarda ve bunların satışa sunulan etlerinde en sık izole edilen GSBL'nin CTX-M-1 tipi olması ile insan ve kanatlı hayvanlar arasında bulaşmanın olabileceği vurgulanmıştır. Her ne kadar kesin bir kanıt olmasa da, tavuk eti kontaminasyonu ve insanlarda GSBL üreten bakterilerin saptanması, kanatlı hayvanlardan insanlara GSBL üreten *E.coli* bulaşma olasılığını desteklemektedir (Ewers ve ark. 2012).

2.9. GSBL ve/veya AmpC üreten *E.coli* İzolatlarının Tanı Yöntemleri

GSBL ve/veya AmpC β -laktamaz üreten *E.coli*'nin izolasyonunda sefalosporin katkılı agar kullanımı birçok araştırmacı tarafından önerilmektedir (Cavaco ve ark. 2008; Costa ve ark. 2009). 1 veya 2 mg/L sefotaksim, seftazidim ya da sefpodoksim içeren kromojenik özellikte bir agar kullanımı (örneğin, MacConkey agar, Levine agar) önerilmektedir. Aynı amaçla ticari selektif kromojenik agarlar (ChromID, bioMerieux; Brilliance ESBL-agar, Oxoid) geliştirilmiştir. İncelenen örneklerin çeşidine göre 1 mg/L sefotaksim veya seftriakson içeren Mueller-Hinton, Triptik Soya, Beyin Kalp İnfüzyon veya Luria-Bertani Buyyon ile ön zenginleştirme gerçekleştirilebilir (EFSA, 2011).

2.9.1. GSBL Tanı Yöntemleri

GSBL tanısı, fenotipik ve genotipik yöntemlerle yapılmaktadır. Fenotipik yöntemler; tarama ve doğrulama testi şeklinde iki kısımdan oluşmaktadır (CLSI, 2013).

2.9.1.1. Fenotipik GSBL Tarama Testleri

E.coli izolatlarında CLSI önerisine göre; disk difüzyon veya dilüsyon yöntemleriyle sefotaksim, seftriakson, seftazidim, aztreonam veya sefpodoksime karşı duyarlılığın azaldığının saptanması halinde doğrulama testleri uygulanır. CLSI'ye göre GSBL'ler için tarama testi değerlendirmesinde dikkate alınacak inhibisyon zonu ve MİK değeri sınırları Tablo 2-8'de gösterilmiştir (CLSI, 2013).

Tablo 2-8: GSBL tarama testinde dikkate alınan inhibisyon zonu ve MİK değerleri

Antibiyotik	İnhibisyon zonu (mm)	MİK (µg/ml)
Sefotaksim (CTX: 30 µg)	≤ 27	≥ 2
Seftriakson (CRO: 30 µg)	≤ 25	≥ 2
Seftazidim (CAZ: 30 µg)	≤ 22	≥ 2
Sefpodoksime (CPD: 10 µg)	≤ 17	≥ 2
Aztreonam (ATM: 30 µg)	≤ 27	≥ 2

2.9.1.2. Fenotipik GSBL Doğrulama Testi

Doğrulama testi, klavulanik asit ve indikatör sefalosporinler arasındaki sinerjinin gösterilmesi esasına dayanmaktadır (CLSI, 2013). Bu testler;

Kombine disk difüzyon yöntemi:

Sefotaksim (30 µg) ve seftazidim (30 µg) diskleri ve bu etken maddelere 10 µg klavulanik asit eklenmiş antibiyotik diskleri besiyerine yerleştirilir. 35°C bir gece inkübasyondan sonra klavulanik asit içeren ve içermeyen disklerin etrafındaki inhibisyon zonları karşılaştırılır. Her iki kombinasyon diskleri etrafındaki zon, klavulanik asit içermeyen diskler etrafındaki zonlara oranla ≥5 mm daha geniş olması izolatlarda GSBL varlığını gösterir (Drieux ve ark. 2008).

Çift disk sinerji yöntemi:

Besiyeri ortasına amoksisilin-klavulanik asit diski ile seftazidim, seftriakson veya sefotaksim, aztreonam veya sefpodoksime diskleri yerleştirilir. İnkübasyondan sonra sefalosporin veya aztreonam etrafındaki inhibisyon zonunun amoksisilin-klavulanik asit

diskine doğru genişlemesi veya arada bakterinin üremediği sinerji alanının bulunması GSBL varlığını gösterir (Drieux ve ark. 2008).

E-test yöntemi:

Katı besiyerinde MİK değerinin saptandığı bu testte, bir ucunda seftazidim veya sefotaksim, diğer ucunda klavulanik asit ile kombine edilmiş stripler kullanılır. İnkübasyon sonrası şekillenen eliptik inhibisyon zonunun stripi kestiği nokta MİK değerini gösterir. Klavulanik asit varlığında MİK değerinde 8 kat azalma GSBL varlığını gösterir (Bradford, 2001).

Mikrodilasyon yöntemi:

Sefotaksim ve seftazidim MİK değerleri, hem tek başına hem de klavulanik asit varlığında saptanır. Klavulanik asit varlığında MİK değerlerinde 8 kat azalma pozitif değerlendirilir (Bradford, 2001).

Üç boyutlu test:

Test edilecek mikroorganizma besiyeri yüzeyine yayıldıktan sonra besiyerinde bir yarık açılır. Yarığın içi test edilecek mikroorganizmanın üretildiği sıvı besiyeri ile doldurulur. Antibiyotik diskleri bu yarıktan 30 mm uzak olacak şekilde yerleştirilir. Yarığa bakan tarafta, disklerin etrafında inhibisyon zonunda bozulma veya daralmanın bulunması GSBL pozitif olarak değerlendirilir (Bradford, 2001).

Diğer testler:

Rutin uygulamaları zor olan; klavulanik asit eklenmiş besiyeri ve disk replasman yöntemi gibi testleri içerir. Bunların dışında GSBL saptamada otomatik sistemler geliştirilmiştir; Vitek-2 (bioMerieux), Walk Away (Dade Behring) ve Phoneix (Becton Dickinson) (Drieux ve ark. 2008).

2.9.1.3. Genotipik Yöntemler

Moleküler yöntemler ile enzimlerin tanımlanması çoğunlukla araştırma amacıyla kullanılmaktadır. Bu yöntemlerin birçoğunda sadece enzim ailesi gösterilebilmektedir. Enzimin kesin olarak tanımlanması, altın standart kabul edilen nükleik asit dizi analizi ile mümkün olmaktadır. Bu yöntemle farklı enzim tipleri ve mutasyonlar saptanabilmektedir (Drieux ve ark. 2008).

PCR, β -laktamaz genine spesifik primerlerle yapılan, β -laktamaz enziminin varlığını saptamada kullanılan en yaygın yöntemlerdendir. Ancak enzim varyantları arasında ayrımı sağlayamadığı, özellikle gruplara spesifik primerler yardımıyla GSBL'lerin saptanmasında yararlı olduğu bildirilmiştir (Pitout ve ark. 2004a).

RFLP, amplifiye edilmiş PCR ürünleri restriksiyon endonükleazlarla kesilerek elektroforez yardımı ile gen ürünlerinin ayrımı gerçekleştirilmektedir. Oluşan her gen ürünün büyüklüğü belirli GSBL genlerine özgü olmaktadır (Arlet ve ark. 1995).

İzoelektrik odaklama, bakteri DNA'sının poliakrilamid jelde yürütülmesinden sonra, β -laktamaz enzimlerinin izoelektrik noktalarında (pI) odaklanması amaçlanmaktadır. Bu izoelektrik noktalar sadece enzimlerin ailesi hakkında bilgi vermektedir. Örneğin, 5,2-5,7 pI, TEM; 7,4-8,2 pI, SHV; 7-7,2 pI, OXA; 8,3-9 pI, AmpC tipi enzimler için kabul edilmiştir (Bradford, 2001).

Oligotiplendirme, nokta mutasyonlarının saptanması için oligonüklotid problemleri kullanılmaktadır. Bu yöntemin kullanılmasıyla klinik izolatlarda çeşitli yeni varyantlar saptanabilmektedir (Mabilat ve Courvalin, 1990).

Nükleik asit dizi analizi, PCR sonrası elde edilen ürünün gen dizisi çıkarıldıktan sonra gen bankasında kayıtlı bulunan dizilerle karşılaştırma yapılması esasına dayanmaktadır. Genin bilinen bir enzim tipi olduğu ya da yeni bir enzim olduğu ortaya konmaktadır. Bu yöntemle mutasyonlar da saptanabilmektedir (Fluit ve ark. 2001).

SSCP, özgül yerleşimdeki tek baz mutasyonlarını saptamaktadır. Bazı SHV varyantların ayırımında kullanılır (Chanawong ve ark. 2000).

2.9.2. AmpC β -laktamazların Tanı Yöntemleri

2.9.2.1. Tarama Testleri

Geniş spektrumlu sefalosporinlere ve sefoksitine karşı azalmış duyarlılık; oldukça duyarlı olmakla birlikte nonspesifiktir. Çünkü bu kriterler *E.coli*'de kromozomal AmpC'nin aşırı üretilmesi veya membran geçirgenliğinin azalması durumunda da görülebilmektedir (Doi ve Paterson, 2007).

Geniş spektrumlu sefalosporinlere azalan duyarlılık ve β -laktamaz inhibitörleri tarafından inhibisyon yetersizliği; AmpC enzim varlığında görüldüğü

gibi, GSBL enzimlerinin çok fazla üretimi veya IRT, MBL ve bazı OXA tipi enzim varlığında da görülebilmektedir (Doi ve Paterson, 2007).

Geniş spektrumlu sefalosporinlere azalan duyarlılık fakat sefepime ya da sefpiroma duyarlılık; AmpC enzimlerinin GSBL ile birlikte olduğu durumlarda gözden kaçabileceği bildirilmiştir (Doi ve Paterson, 2007).

β -laktamazlarda tarama testi ile ilgili Jacoby ve ark. (2006)'nın kullandıkları β -laktam antibiyotikler içinde sefpodoksimin en az negatif sonuç verdiği gözlenmiştir. *P.aeruginosa* gibi nonfermantatif Gram negatif bakterilerde sefoksitine karşı efluks veya porin kaybı gibi nedenlerden ötürü direnç geliştiği için bu bakterilerde AmpC enzimi yönünden sefoksitin tarama testi yarar sağlamamaktadır (Doi ve Paterson, 2007).

2.9.2.2. Doğrulama testleri

AmpC doğrulama testinde kullanılan indirekt yöntemler; Tris-EDTA'lı AmpC disk testi, sefoksitin agarda üretme ve Modifiye Hodge testleridir. Bu testler porin kaybına bağlı gelişen sefoksitin direncini, AmpC β -laktamaza bağlı sefoksitin direncinden ayırabilen testlerdir (Doi ve Paterson, 2007).

AmpC doğrulama testinde kullanılan inhibitör temelli direkt yöntemler; Boronik asit ile yapılan inhibisyon disk testi, Ro-48-1220 ile inhibisyon disk testi, Syn2190 ile inhibisyon disk testi, piperasilin ve piperasilin-tazobaktam diskleri ile yapılan inhibisyon disk testi, kloksasilin çift disk sinerji ve izoelektrik odaklama çalışmalarını içerir (Doi ve Paterson, 2007).

Moleküler yöntemler; Multipleks PCR, dizi analizleri, PFGE yöntemleri kullanılmaktadır (Perez-Perez ve Hanson, 2002; Jacoby, 2009).

Konjugasyon deneyleri; AmpC enzim genlerinin konjugatif olup olmadığını göstermek için konjugasyon veya transformasyon deneylerini içerir. Direncin alıcı hücreye aktarılıp aktarılmamasına göre karar verilmektedir (Doi ve Paterson, 2007).

3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1. Gereç

3.1.1. Örnekler

Kasım 2012 ve Ekim 2013 tarihleri arasında İstanbul'un çeşitli semtlerinde yer alan evcil hayvan satış yerlerinden, belli bir süre için sahibi tarafından özel barınağa bırakılan köpeklerden, evde beslenen hayvanlardan, kliniklerden ve sokak hayvanlarından, 192 köpek ve 192 kediye ait toplam 384 dışkı örneği rektal svab ile alındı. Örnek büyüklüğü %95 güven düzeyi ve %5 mutlak kesinliğe göre belirlendi. Örnek alınan köpek ve kedilerin yaşları, cinsiyetleri, daha önce antibiyotik tedavisi uygulanma bilgisi örnek alınma esnasında varsa eşlik eden insanlardan öğrenilmeye çalışıldı. Bu bilgiler Tablo 3-1 ve Tablo 3-2'de özetlendi. Örneklerin alındığı kaynaklar, bulundukları ilçe ya da semt ismine göre I, II, III,... şeklinde adlandırıldı.

Dışkı örnekleri Cary Blair Transport Medium içeren svablarla (Or-Bak, 09) alındı. Alınan örnekler buz akülerinin yardımı ile soğukta tutularak, en geç 2-4 saat içerisinde İstanbul Üniversitesi Veteriner Fakültesi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı laboratuvarına ulaştırıldı. -20°C'de saklandı. Örnekler 20'şerli gruplar halinde haftalık periyotlarla incelenmeye alındı.

3.1.2. Besiyerleri

GSBL ve AmpC üreten *E.coli* izolasyonu için Trypticase Soy Broth (TSB) (HiMedia, M011), sefotaksim (1 mg/L) katkılı MacConkey agar; şüpheli izolatların identifikasyonu için %7 defibrine koyun kanlı agar, Simmons Sitrat agar (HiMedia, M099), Nutrient agar (HiMedia, M001), Nutrient buyyon (HiMedia, CM0001), Metil kırmızısı (MR)-Voges-Proskauer (VP) buyyon (HiMedia, M070), Üre agar, Triple Sugar Iron agar (TSIA) (HiMedia, M021) ve karbonhidrat fermantasyon test besiyeri; antibiyotik duyarlılığı için Mueller-Hinton agar (MHA) (HiMedia M391) kullanıldı.

3.1.2.1. Sefotaksim Katkılı MacConkey Agar

MacConkey agar (HiMedia, M081B) belirtilen oranda hazırlandı, otoklavda 121°C de 15 dk sterilize edildi. 50°C'ye soğuduktan sonra, sefotaksim (1 mg/L) (HiMedia, MB134) ilave edildi, 25'er ml petri kutularına dağıtıldı ve kullanılına kadar 4°C'de saklandı.

Tablo 3-1: Örnek alınan köpeklerin bulunduğu semt, yaş, cinsiyet ve bilinen bir antibiyotik tedavisinin varlığı bilgisi

KAYNAK		YAŞ (yıl)	CİNSİYET	ANTİBİYOTİK KULLANIM BİLGİSİ
İLÇE/SEMT	ÖRNEK NO			
Bahçeşehir I	D-1	1	♂	Bilinmiyor
	D-2	5 ay	♂	–
	D-3	1	♂	Bilinmiyor
	D-4	2 ay	♂	–
	D-5	2 ay	♀	–
	D-6	2 ay	♂	–
	D-7	2	♀	+
	D-8	8 ay	♀	+
Avcılar I	D-9	2 ay	♀	+
	D-10	5	♀	+
	D-11	9	♀	+
Caddebostan I	D-12	4	♀	Bilinmiyor
	D-13	1	♀	Bilinmiyor
	D-14	2	♂	Bilinmiyor
Koşuyolu I	D-15	3	♂	Bilinmiyor
	D-16	7	♀	–
	D-17	13	♂	+
Altınşehir I (Köpek barınağı)	D-18	16	♂	+
	D-19	3 ay	♀	+
	D-20	4 ay	♀	Bilinmiyor
	D-21	1	♀	Bilinmiyor
	D-22	9	♀	Bilinmiyor
	D-23	4	♀	Bilinmiyor
	D-24	3	♂	Bilinmiyor
	D-25	3	♂	Bilinmiyor
	D-26	3	♂	Bilinmiyor
	D-27	6 ay	♀	Bilinmiyor
	D-28	6 ay	♀	Bilinmiyor
	D-29	3 ay	♀	Bilinmiyor
	D-30	3 ay	♀	Bilinmiyor
	D-31	3 ay	♂	Bilinmiyor
	D-32	3 ay	♀	Bilinmiyor
	D-33	4 ay	♀	Bilinmiyor
	D-34	1	♀	Bilinmiyor
	D-35	3	♀	Bilinmiyor
	D-36	3	♂	Bilinmiyor
	D-37	3	♀	Bilinmiyor
	D-38	3	♀	Bilinmiyor
	D-39	4	♀	Bilinmiyor
	D-40	4	♀	Bilinmiyor
	D-41	4	♀	Bilinmiyor
	D-42	8	♂	Bilinmiyor
	D-43	9	♂	Bilinmiyor
	D-44	3 ay	♀	Bilinmiyor
	D-45	3 ay	♀	Bilinmiyor
	D-46	3 ay	♂	Bilinmiyor
	D-47	4 ay	♀	Bilinmiyor
	D-48	4 ay	♀	Bilinmiyor
	D-49	6 ay	♀	Bilinmiyor
	D-50	6 ay	♂	Bilinmiyor
	D-51	10 ay	♂	Bilinmiyor
	D-52	1	♀	Bilinmiyor
	D-53	3	♀	Bilinmiyor
	D-54	4	♂	Bilinmiyor
	D-55	5	♂	Bilinmiyor
	D-56	5	♂	Bilinmiyor

Altınşehir I (Köpek barınağı)	D-57	3 ay	♀	Bilinmiyor
	D-58	1	♀	Bilinmiyor
	D-59	1	♂	Bilinmiyor
	D-60	5	♂	Bilinmiyor
	D-61	6	♂	Bilinmiyor
	D-62	3	♂	Bilinmiyor
	D-63	6	♂	Bilinmiyor
	D-64	6	♀	Bilinmiyor
	D-65	6	♀	Bilinmiyor
	D-66	5	♂	Bilinmiyor
Kumburgaz I (Köpek barınağı)	D-67	8	♀	Bilinmiyor
	D-68	3 ay	♂	Bilinmiyor
	D-69	4 ay	♀	Bilinmiyor
	D-70	5 ay	♀	Bilinmiyor
	D-71	6 ay	♀	Bilinmiyor
	D-72	7 ay	♂	Bilinmiyor
	D-73	7 ay	♀	Bilinmiyor
	D-74	7 ay	♀	Bilinmiyor
	D-75	9 ay	♀	Bilinmiyor
	D-76	1	♀	Bilinmiyor
	D-77	1	♂	Bilinmiyor
	D-78	1	♀	Bilinmiyor
	D-79	2	♂	Bilinmiyor
	D-80	2	♀	Bilinmiyor
	D-81	3	♂	Bilinmiyor
	D-82	5	♂	Bilinmiyor
	D-83	10	♀	Bilinmiyor
	D-84	3 ay	♀	Bilinmiyor
	D-85	4 ay	♀	Bilinmiyor
	D-86	6 ay	♂	Bilinmiyor
	D-87	7 ay	♀	Bilinmiyor
	D-88	7 ay	♀	Bilinmiyor
	D-89	10 ay	♂	Bilinmiyor
	D-90	1	♂	Bilinmiyor
	D-91	2	♀	Bilinmiyor
	D-92	2	♀	Bilinmiyor
	D-93	3	♀	Bilinmiyor
	D-94	3	♂	Bilinmiyor
	D-95	3	♂	Bilinmiyor
	D-96	4	♂	Bilinmiyor
	D-97	5	♀	Bilinmiyor
	D-98	5	♀	Bilinmiyor
	D-99	11	♂	Bilinmiyor
	D-100	4 ay	♂	Bilinmiyor
	D-101	4 ay	♂	Bilinmiyor
	D-102	6 ay	♂	Bilinmiyor
	D-103	6 ay	♂	Bilinmiyor
	D-104	7 ay	♀	Bilinmiyor
	D-105	7 ay	♀	Bilinmiyor
	D-106	7 ay	♀	Bilinmiyor
	D-107	7 ay	♀	Bilinmiyor
	D-108	1	♂	Bilinmiyor
	D-109	2	♀	Bilinmiyor
	D-110	3	♂	Bilinmiyor
	D-111	3	♀	Bilinmiyor
	D-112	3	♂	Bilinmiyor
	D-113	5	♀	Bilinmiyor
Mecidiyeköy I	D-114	6	♂	+
	D-115	7	♂	+
	D-116	7 ay	♀	-
	D-117	2	♂	-
	D-118	12	♂	+
	D-119	9	♀	+

Mecidiyeköy I	D-120	4	♂	+
	D-121	9	♀	+
	D-122	1	♂	-
	D-123	9	♂	+
	D-124	11	♂	+
	D-125	1	♀	+
	D-126	3 ay	♂	+
	D-127	1	♂	-
Pendik I	D-128	2 ay	♀	-
Kadıköy I	D-129	2 ay	♀	-
Etiler I	D-130	6	♂	Bilinmiyor
	D-131	3	♀	-
Göztepe I	D-132	17	♂	+
Etiler II	D-133	2	♀	Bilinmiyor
	D-134	6 ay	♀	Bilinmiyor
Kadıköy II	D-135	3 ay	♂	-
Etiler III	D-136	3 ay	♂	+
Koşuyolu II	D-137	2	♀	Bilinmiyor
Etiler IV	D-138	5	♂	+
Yeşilköy I	D-139	2	♀	Bilinmiyor
Kadıköy I	D-140	2 ay	♂	-
	D-141	2	♀	Bilinmiyor
Sarıyer I	D-142	2	♂	Bilinmiyor
Bakırköy I	D-143	2	♀	Bilinmiyor
	D-144	1	♀	Bilinmiyor
Bostancı I	D-145	4 ay	♂	+
Ataşehir I	D-146	5	♀	+
	D-147	3 ay	♀	-
	D-148	8	♂	+
	D-149	12	♂	+
Ataköy I (Sokak hayvanları)	D-150	3	♀	+
	D-151	5	♂	-
	D-152	5	♂	-
	D-153	5	♂	-
	D-154	1	♂	-
	D-155	1	♀	+
Kadıköy III	D-156	7	♀	Bilinmiyor
Halkalı I	D-157	3 ay	♂	Bilinmiyor
İstinye I	D-158	3 ay	♂	Bilinmiyor
Bostancı I	D-159	1	♀	+
Üsküdar I	D-160	1	♂	Bilinmiyor
Etiler I	D-161	5 ay	♀	-
Caddebostan II	D-162	3	♂	Bilinmiyor
	D-163	3	♂	+
	D-164	2 ay	♀	Bilinmiyor
	D-165	3 ay	♂	Bilinmiyor
	D-166	1	♂	+
Etiler II	D-167	1	♀	+
	D-168	3 ay	♀	-
	D-169	4	♀	+
	D-170	3	♂	-
Moda I	D-171	1	♀	Bilinmiyor
Etiler II	D-172	2	♂	Bilinmiyor
	D-173	5	♂	-
	D-174	10	♂	-
	D-175	8	♂	-
	D-176	5 ay	♀	+
	D-177	3	♀	+
	D-178	5 ay	♀	-
	D-179	3	♂	Bilinmiyor
	D-180	9	♀	+
	D-181	1	♀	Bilinmiyor
	D-182	5 ay	♀	+

Beylikdüzü I	D-183	8	♀	+
Cihangir I	D-184	3	♀	+
Göztepe I	D-185	4	♀	-
Etiler I	D-186	5	♀	+
	D-187	1	♀	+
	D-188	1	♀	+
Sarıyer I	D-189	8	♀	+
Şişli I	D-190	5	♀	+
Kadıköy II	D-191	2 ay	♀	+
	D-192	1	♀	+

D: Köpek

+: Antibiyotik kullanımı mevcut

-: Antibiyotik kullanımı mevcut değil

Tablo 3-2: Örnek alınan kedilerin bulunduğu semt, yaş, cinsiyet ve bilinen bir antibiyotik tedavisinin varlığı bilgisi

KAYNAK		YAŞ (yıl)	CİNSİYET	ANTİBİYOTİK KULLANIMI
İLÇE/SEMT	ÖRNEK NO			
Bahçeşehir I	C-1	3 ay	♂	-
	C-2	5 ay	♀	+
	C-3	3 ay	♂	Bilinmiyor
	C-4	18 ay	♀	+
	C-5	7 ay	♀	Bilinmiyor
	C-6	3 ay	♀	+
	C-7	4 ay	♂	+
Avcılar I	C-8	1	♂	+
	C-9	10 ay	♀	-
	C-10	6 ay	♀	Bilinmiyor
	C-11	1	♀	-
	C-12	3	♀	Bilinmiyor
Yeşilköy II	C-13	1	♂	+
	C-14	2	♀	+
	C-15	4 ay	♂	+
	C-16	2 ay	♂	+
Caddebostan I (Sokak hayvanları)	C-17	8	♀	-
	C-18	6	♀	Bilinmiyor
	C-19	5	♀	Bilinmiyor
	C-20	5	♀	Bilinmiyor
	C-21	10 ay	♂	-
	C-22	10 ay	♀	-
	C-23	8 ay	♀	-
	C-24	8 ay	♀	-
	C-25	4	♀	+
	C-26	1	♀	Bilinmiyor
Koşuyolu I	C-27	1	♀	+
	C-28	1	♀	+
	C-29	2	♀	+
	C-30	3	♂	+
Altınşehir I (Köpek barınağında barınan sahipsiz)	C-31	1	♂	-
	C-32	4 ay	♀	-
	C-33	1	♀	-
Ataköy I (Sokak hayvanları)	C-34	3	♂	Bilinmiyor
	C-35	1	♀	Bilinmiyor
	C-36	1	♀	Bilinmiyor
	C-37	1	♀	Bilinmiyor
	C-38	1	♂	Bilinmiyor
	C-39	1	♀	Bilinmiyor
	C-40	1	♂	Bilinmiyor
	C-41	1	♂	Bilinmiyor

Ataköy I (Sokak hayvanları)	C-42	3	♂	Bilinmiyor
	C-43	1	♀	Bilinmiyor
	C-44	1	♂	Bilinmiyor
	C-45	1	♂	Bilinmiyor
	C-46	3	♂	Bilinmiyor
	C-47	1	♂	Bilinmiyor
	C-48	2	♀	Bilinmiyor
	C-49	3	♀	Bilinmiyor
Mecidiyeköy I	C-50	3 ay	♀	+
	C-51	9 ay	♀	+
	C-52	10 ay	♂	-
	C-53	6	♀	+
Yeşilköy II	C-54	12	♂	+
	C-55	7	♂	+
	C-56	1	♂	+
	C-57	7 ay	♀	-
	C-58	7	♀	+
	C-59	4	♂	Bilinmiyor
	C-60	1	♀	+
	C-61	11 ay	♀	+
Etiler I	C-62	5	♂	Bilinmiyor
Bostancı I	C-63	3 ay	♂	-
Kadıköy I	C-64	8 ay	♂	+
Moda I	C-65	6	♂	Bilinmiyor
Büyüçekmece II	C-66	10 ay	♂	Bilinmiyor
Bostancı II	C-67	1	♀	-
Kadıköy II	C-68	3	♀	Bilinmiyor
Caddebostan I (Sokak hayvanları)	C-69	1	♂	Bilinmiyor
	C-70	1	♀	Bilinmiyor
	C-71	7	♀	Bilinmiyor
	C-72	7	♀	Bilinmiyor
	C-73	5	♂	Bilinmiyor
	C-74	4	♂	Bilinmiyor
	C-75	2	♀	Bilinmiyor
	C-76	6	♀	Bilinmiyor
	C-77	5	♂	Bilinmiyor
	C-78	4	♀	Bilinmiyor
	C-79	2	♀	Bilinmiyor
	C-80	2	♀	Bilinmiyor
	C-81	3	♀	Bilinmiyor
	C-82	1	♂	Bilinmiyor
	C-83	4	♂	+
	C-84	2	♀	+
	C-85	4	♂	Bilinmiyor
	C-86	5	♂	Bilinmiyor
	C-87	3	♀	Bilinmiyor
	C-88	5	♀	+
Atakent I	C-89	1	♂	Bilinmiyor
	C-90	11	♂	+
	C-91	2	♂	+
	C-92	1	♀	-
Etiler I	C-93	2 ay	♀	+
	C-94	2	♀	-
	C-95	2 ay	♀	-
Nişantaşı I	C-96	2	♂	Bilinmiyor
	C-97	3	♀	+
Etiler II	C-98	2 ay	♀	-
Ataşehir II	C-99	6	♂	Bilinmiyor
Çamlıca I	C-100	7	♂	+
Beyoğlu I	C-101	2	♂	Bilinmiyor
	C-102	3	♂	Bilinmiyor
	C-103	4	♂	+
	C-104	3	♀	+

Beyoğlu I	C-105	7	+	+
	C-106	2	+	Bilinmiyor
	C-107	2	+	-
	C-108	6	+	+
	C-109	2	+	+
	C-110	2	+	Bilinmiyor
	C-111	4	+	-
	C-112	4	+	+
Caddebostan II	C-113	3	+	+
	C-114	3	+	+
	C-115	5	+	Bilinmiyor
	C-116	2	+	+
	C-117	3	+	+
Ataşehir I	C-118	15 ay	+	Bilinmiyor
	C-119	4	+	+
	C-120	1	+	Bilinmiyor
	C-121	7	+	+
	C-122	6	+	Bilinmiyor
	C-123	4	+	+
	C-124	2	+	Bilinmiyor
	C-125	2	+	Bilinmiyor
Avcılar II	C-126	2	+	Bilinmiyor
	C-127	4	+	+
	C-128	2	+	+
Caddebostan III	C-129	9	+	Bilinmiyor
	C-130	5	+	Bilinmiyor
	C-131	10	+	+
	C-132	6 ay	+	-
	C-133	9 ay	+	Bilinmiyor
	C-134	7	+	-
	C-135	3 ay	+	-
	C-136	1 ay	+	Bilinmiyor
	C-137	3	+	Bilinmiyor
	C-138	9	+	Bilinmiyor
	C-139	6	+	-
	C-140	2	+	+
	C-141	2	+	+
	C-142	2	+	Bilinmiyor
Ataköy II (Sokak hayvanları)	C-143	1	+	+
	C-144	1	+	-
	C-145	1	+	Bilinmiyor
	C-146	3	+	Bilinmiyor
	C-147	1	+	Bilinmiyor
	C-148	1	+	Bilinmiyor
	C-149	1	+	Bilinmiyor
	C-150	1	+	Bilinmiyor
	C-151	1	+	Bilinmiyor
	C-152	1	+	+
	C-153	1	+	Bilinmiyor
	C-154	1	+	+
	C-155	1	+	Bilinmiyor
	C-156	2	+	Bilinmiyor
	C-157	1	+	Bilinmiyor
	C-158	1	+	Bilinmiyor
	C-159	3	+	Bilinmiyor
Kadıköy I	C-160	6	+	+
Ataşehir II	C-161	10 ay	+	+
	C-162	2	+	Bilinmiyor
	C-163	1 ay	+	Bilinmiyor
Etiler III	C-164	1	+	Bilinmiyor
Beşiktaş I	C-165	1	+	+
Avcılar III	C-166	5	+	Bilinmiyor
Acıbadem I	C-167	10	+	+

Levent I	C-168	1	♂	+
Şaşkınbakkal I	C-169	7	♀	Bilinmiyor
	C-170	3 ay	♀	Bilinmiyor
Levent II	C-171	7	♀	+
Acıbadem II	C-172	3	♂	+
	C-173	2 ay	♂	Bilinmiyor
Beşiktaş II	C-174	1	♀	+
Ataköy III (Sokak hayvanları)	C-175	2 ay	♂	Bilinmiyor
	C-176	1	♂	+
Etiler II	C-177	1	♀	Bilinmiyor
Ataköy III (Sokak hayvanları)	C-178	3	♂	-
	C-179	1	♂	-
	C-180	1	♀	-
	C-181	5	♀	Bilinmiyor
	C-182	3	♂	-
	C-183	1	♂	Bilinmiyor
	C-184	1	♂	+
	C-185	1	♂	Bilinmiyor
Beylikdüzü I	C-186	1	♂	+
	C-187	5 ay	♀	Bilinmiyor
Şirinevler I	C-188	6 ay	♂	Bilinmiyor
Bahçelievler I	C-189	1	♀	+
	C-190	1	♀	Bilinmiyor
Beylikdüzü II	C-191	3 ay	♂	Bilinmiyor
	C-192	1	♂	+

C: Kedi

+: Antibiyotik kullanımı mevcut

-: Antibiyotik kullanımı mevcut değil

3.1.2.2. %7 Defibrine Koyun Kanlı Agar

Nutrient agar (HiMedia, M001) belirtilen oranda hazırlandı, 121°C de 15 dk otoklavda sterilize edildi. Soğuduktan sonra, %7 oranında defibrine koyun kanı ilave edildi. 25'er ml petri kutularına dağıtıldı ve kullanılına kadar 4°C de saklandı.

3.1.2.3. Üre Agar

Urea agar base (HiMedia, M112) belirtilen oranda hazırlandı, 121°C de 15 dk otoklavda sterilize edildi. 50°C'ye soğuduktan sonra, son konsantrasyon %2 olacak şekilde %40 üre solüsyonu (Oxoid, SR0020) ilave edildi. 5'er ml tüplere dağıtıldı, tüpler yatık halde katılaştırıldı ve kullanılına kadar 4°C de saklandı.

3.1.2.4. Karbonhidrat Fermantasyon Test Besiyerleri

10 g bakteriyolojik pepton (Oxoid, LP0037) ve 5 g NaCl (Oxoid, LP0005) 1 L distile su içinde çözüldükten sonra, son konsantrasyon %0,0025 olacak şekilde bromkresol moru (Sigma, B5880) ilave edildi. 4'er ml tüplere dağıtıldı ve 121°C de 15 dk otoklavda sterilize edildi. Her tüpe son konsantrasyon %1 olacak şekilde laktoz (HiMedia, RM565), glikoz (HiMedia, RM6549), ramnoz (HiMedia, RM062)'un steril solüsyonları eklendi ve kullanılına kadar 4°C de saklandı.

3.1.3. Biyokimyasal Testler ve Ayırıcılar

Katalaz Testi (Sigma, H3410),
Oksidaz İdentifikasyon Stikleri (Oxoid, BR 64A),
İndol Ayırıcı, Kovaks,
MR Ayırıcı,
VP Ayırıcı-A ve VP Ayırıcı-B.

3.1.4. Antibiyotik Diskleri

Sefotaksim (CTX; 30 µg) (HiMedia, SD040),
Seftriakson (CRO; 30 µg) (HiMedia, SD065),
Seftazidim (CAZ; 30 µg) (HiMedia, SD062),
Sefpodoksim (CPD; 10 µg) (HiMedia, SD725),
Aztreonam (ATM; 30 µg) (HiMedia, SD212),
Sefoksitin (CFX; 30 µg) (HiMedia, SD041),
Sefepim (CPM; 30 µg) (HiMedia, SD219),
Seftazidim-klavulanik asit (CAZ/CLA; 30/10 µg) (HiMedia, SD207),
Sefotaksim-klavulanik asit (CTX/CLA; 30/10 µg) (HiMedia, SD724).

3.1.5. Standart Suşlar

Antibiyogramın kontrol değerlendirmesinde pozitif kontrol olarak *E.coli* ATCC 35218 (MicroSwab, MS-E027), negatif kontrol olarak *E.coli* ATCC 25922 kullanıldı.

3.1.6. PCR

3.1.6.1. Ekstraksiyon

E.coli suşlarının DNA'sını elde etmek amacıyla ROCHE High Pure PCR Template Preparation Kit (11796828001) kullanıldı.

3.1.6.2. Amplifikasyon

Primer: Forward ve revers primerlerin dizaynı Elips Sağlık Ürünleri İthalat ve İhracat Ltd. Şti.'nde yapıldı. Çalışmada kullanılan primerlerin gen dizilimleri, ampikon büyüklükleri ve kaynakları Tablo 3-3'te gösterildi.

PCR Master Miks (Thermo Scientific, K0171).

Negatif kontrol: DNaz/RNaz'dan arı distile su (Promega, P119).

Tablo 3-3: Çalışmada kullanılan primerlerin gen dizilimleri ve amplikon büyüklükleri

Hedef (ler)	Primer Adı (Forward) (Revers)	Gen Dizilimi (5'-3')	Amplikon Büyüklüğü	Kaynak
CTX-M	MA1 MA2	SCSATGTGCAGYACCAGTAA CCGCRATATGRTTGGTGGTG	550 bp	Saladin ve ark. 2002
CTX-M Grup 1	Group-1F Group-1R	AAAAATCACTGCGCCAGTTC AGCTTATTCATCGCCACGTT	415 bp	Woodford ve ark. 2006
CTX-M Grup 2	Group-2F Group-2R	CGACGCTACCCCTGCTATT CCAGCGTCAGATTTTTCAGG	552 bp	
CTX-M Grup 9	Group-9F Group-9R	CAAAGAGAGTGCAACGGATG ATTGGAAAGCGTTCATCACC	205 bp	
CTX-M Grup 8	Group-8F Group-8/25R	TCGCGTTAAGCGGATGATGC AACCACGATGTGGGTAGC	666 bp	
CTX-M Grup 25	Group-25F Group-8/25R	GCACGATGACATTCGGG AACCACGATGTGGGTAGC	327 bp	
TEM	TEM-F TEM-R	ATGAGTATTCAACATTTCCG CCAATGCTTAATCAGTGAGC	858 bp	Arlet ve ark. 1995
SHV	SHV-F SHV-R	CTTTACTCGCTTTATCG TCCCGCAGATAAATCACCA	827 bp	Chanawong ve ark. 2000
MOX-1, MOX-2, CMY-1, CMY-8-9- 10-11	MOXM-F MOXM-R	GCTGCTCAAGGAGCACAGGAT CACATTGACATAGGTGTGGTGC	520 bp	Pérez-Pérez ve Hanson, 2002
LAT-1-2-3-4, CMY- 2-3-4-5-6-7, BIL-1	CITM-F CITM-R	TGGCCAGAACTGACAGGCAAA TTTCTCCTGAACGTGGCTGGC	462 bp	
DHA-1, DHA-2	DHAM-F DHAM-R	AACCTTCACAGGTGTGCTGGGT CCGTACGCATACTGGCTTTGC	405 bp	
ACC	ACCM-F ACCM-R	AACAGCCTCAGCAGCCGGTTA TTCGCCGCAATCATCCCTAGC	346 bp	
MIR-1T, ACT-1	EBCM-F EBCM-R	TCGGTAAAGCCGATGTTGCGC CTTCCACTGCGGCTGCCAGTT	302 bp	
FOX-1-2-3-4-5b	FOXM-F FOXM-R	AACATGGGGTATCAGGGAGATG CAAAGCGCGTAACCGGATTGG	190 bp	
OXA-10	OPR1 OPR2	GTCTTTTCGAGTACGGCATT ATTTTCTTAGCGGCAACTTAC	720 bp	Vahaboglu ve ark. 1998
PER-2	PER-2-A PER-2-B	CGCTTCTGCTCTGCTGAT GGCAGCTTCTTTAACGCC	469 bp	Bauernfeind ve ark. 1996

β -laktamaz üreten kontrol suşları:

*bla*_{CTX-M} Grup 1 ve Grup 9, *bla*_{TEM}, *bla*_{SHV}: Prof. Dr. Branka Bedenic (Zagreb Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Klinik ve Moleküler Mikrobiyoloji, Zagreb, Hırvatistan);

*bla*_{CTX-M} Grup 2 ve Grup 8, *bla*_{MOX}, *bla*_{DHA}, *bla*_{ACC}, *bla*_{FOX}: Lina Cavaco (Danimarka Teknik Üniversitesi, Ulusal Gıda Enstitüsü, Epidemiyoloji ve Mikrobiyal Genomik Bölümü, Lyngby, Danimarka);

*bla*_{CTX-M} Grup 25: Dr. Yvonne Pfeifer (Robert Koch Enstitüsü, Nozokomiyal Enfeksiyonlar, Wernigerode, Almanya);

bla_{CIT}: Uzm. Dr. Serpil Coşkun (Ankara Üniversitesi, Eczacılık Fakültesi, Farmasötik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Ankara, Türkiye);

bla_{OXA-10}: Prof. Dr. Haluk Vahaboğlu (İstanbul Medeniyet Üniversitesi, Göztepe Eğitim ve Araştırma Hastanesi Enfeksiyon Hastalıkları ve Klinik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, İstanbul, Türkiye);

bla_{PER-2}: Prof. Dr. Adolf Bauernfeind (MICOER Enstitüsü, Münih, Almanya)'den elde edildi.

3.1.6.3. DNA Elektroforezi

TBE Buffer 10X (Promega, V4251): 1X oranında kullanıldı.

Agaroz jel: %1,5 oranında kullanıldı. Agaroz (Sigma, A9539) 1,2 g ve 1X TBE Buffer 80 ml, homojenizasyon sağlanana kadar eritildi. Soğuduktan sonra %0,1 oranında etidyum bromür (Sigma, E1510) eklendi. Tarakları uygun yerleştirilmiş jel kalıp tepsisinin üzerine döküldü. Oda sıcaklığında bekletilerek jelin katılaşması sağlandı ve taraklar çıkarıldı. Jel kalıbı elektroforez tankına yerleştirildi.

Yükleme Solüsyonu: 6X DNA yükleme boyası (Thermo Scientific, R0611),

DNA marker: 100-1 000 bp (Thermo Scientific, SM0241).

3.1.7. Diğer Gereçler

Otomatik pipetler (0,5-10 µl, 10-100 µl, 100-1 000 µl; Isolab)

DNaz/RNaz'dan ari kapaklı mikrosantrifüj tüpleri (Axygen)

DNaz/RNaz'dan ari filtreli pipet uçları (Axygen)

Mikrosantrifüj (Hettich)

Vorteks (Biosan)

Isı döngü cihazı (Axygen Maxygen)

Agaroz jel elektroforez sistemi (Agagel Mini-Wide)

Elektroforez cihazı (Biometra-Powerpack P25)

Jel Görüntüleme sistemi (Syngene, Ingenius)

UV Transmilatör (Infinity, Vilber Lourmat)

3.2. Yöntem

3.2.1. İzolasyon ve İdentifikasyon

Dışkı örnekleri, ön zenginleştirme amacıyla, 15 ml TSB'ye ekilerek, aerobik ortamda, 37°C'de 18 saat inkübe edildi (Murk ve ark. 2009; Overdevest ve ark. 2011).

TSB'lerden 10'ar µl sefotaksim katkılı MacConkey agarlara ekim yapılarak bir gece 37°C'de inkübasyona bırakıldılar. Besiyerinde üreyen kolonilerin makroskopik morfolojileri belirlendi. Bu kolonilerden yapılan Gram boyalı preparatlar incelendi. Uygun makroskopik ve mikroskopik morfolojiye sahip koloniler kanlı agar ve sefotaksim katkılı MacConkey agara pasajlanarak saflaştırıldı (EFSA, 2011).

İdentifikasyon için Gram boyanma özelliği, katalaz, oksidaz, sitrat, indol, MR, VP, üre, TSIA'da H₂S oluşumu ve karbonhidrat fermentasyon testleri uygulandı (Quinn ve ark. 1994).

3.2.1.1. GSBL Tarama Testi

Taze ve saf kültürlerdeki kolonilerinden bir öze dolusu alınarak serum fizyolojik içerisinde 0,5 McFarland yoğunluğunda bakteri süspansiyonu elde edildi. Süspansiyondan 0,1 ml alınarak MHA üzerine yayıldı. GSBL tarama testinde önerilen sefpodoksim, seftazidim, aztreonam, sefotaksim ve seftriakson antibiyotik diskleri yerleştirildi ve 37°C de 24 saat inkübe edildi. İnkübasyon süresi sonunda üreme inhibisyon zon çapları CLSI standartlarına göre verilen değerler dikkate alınarak değerlendirildi. Kullanılan antibiyotik disklerinin en az ikisinde verilen değerlere uygun suşlar GSBL şüpheli kabul edildi (CLSI, 2013) (Tablo 3-4).

Tablo 3-4: Enterobacteriaceae üyeleri ve *E.coli* ATCC 25922 için CLSI'nin belirttiği disk difüzyon yöntemi ile GSBL tarama testi sınır değerleri

Antibiyotik Adı	Disk içeriği	İnhibisyon zonu (mm)	<i>E.coli</i> ATCC 25922
Sefotaksim (CTX)	30 µg	≤27	29-35
Seftriakson (CRO)	30 µg	≤25	29-35
Seftazidim (CAZ)	30 µg	≤22	25-32
Sefpodoksim (CPD)	10 µg	≤17	23-28
Aztreonam (ATM)	30 µg	≤27	28-36

3.2.1.2. GSBL Doğrulama Testi

GSBL doğrulama testinde kombine disk diffüzyon yöntemi uygulandı. GSBL tarama testinde belirlenen inhibisyon zon çaplarına uygunluk gösteren GSBL şüpheli izolatların doğrulaması için; sefotaksim (CTX; 30 µg) ve sefotaksim-klavulanik asit (CTX/CLA; 30/10 µg) ile seftazidim (CAZ; 30 µg) ve seftazidim-klavulanik asit (CAZ/CLA; 30/10 µg) kombine diskleri yerleştirilerek zon çapları ölçülerek karşılaştırıldı. Sefotaksim ve sefotaksim-klavulanik asit kombine diski ile seftazidim ve seftazidim-klavulanik asit kombine diskinin zon çapı arasında (her iki antibiyotik kombinasyonunda) ≥ 5 mm ve üzerinde fark görülmesi GSBL pozitif olarak değerlendirildi (CLSI, 2013).

3.2.1.3. AmpC Tanımlama Testi

AmpC tanımlama testinde izolatlar sefoksitin ve sefepimin etkileri araştırıldı. Sefoksitine dirençli (≤ 14 mm) ve sefepime duyarlı (≥ 18 mm) izolatlar fenotipik AmpC pozitif olarak değerlendirildi (EFSA, 2011; CLSI, 2013).

Fenotipik GSBL ve/veya AmpC olarak doğrulanan tüm izolatlar, GSBL ve AmpC genleri araştırılmak üzere, %5 gliserol (Sigma, G-5516) ve TSB içeren tüplere alınarak -20°C’de saklandı.

3.2.2. PCR ile GSBL ve AmpC Grubu Enzimlerine Ait Genlerin Araştırılması

3.2.2.1. DNA Ekstraksiyonu

Örneklerden DNA ekstraksiyonu, ticari kitte belirtilen yöntemle göre gerçekleştirildi. 1 ml’de 10^9 hücre yoğunluğu içeren bakteri elde etmek amacıyla ekstraksiyon yapılacak izolatlar TSB besiyerine ekimi yapılarak 37°C’de 24 saat inkübe edildi. İzolatların ekstraksiyonu 4 McFarland yoğunluğunda olan kültürlerden yapıldı.

Çalışmaya başlamadan önce “Inhibitor Removal Buffer”a 20 ml ve yıkama tamponuna 80 ml absolüt etanol (Sigma, 2402) eklendi. Liyofilize olan proteinaz K, 4,5 ml DNaz/RNaz’dan ari distile suda çözüldü ve 50 µl hacimlere ayrılarak, çalışılincaya kadar -20°C’de saklandı.

Steril 1,5 ml’lik tüpe ml’sinde 10^9 hücre yoğunluğu içeren bakteri süspansiyonundan 200 µl konuldu ve 5 dk 5 000 rpm’de santrifüj edilerek süpernatantı dışarı atıldı. Üzerine 200 µl PBS eklendi. 5 µl lizozim solüsyonundan (10 mg/ml, 10 mM Tris-HCl ile süspanse edilmiş, pH 8) eklenerek 15 dk 37°C’de inkübe edildi. 200 µl

binding buffer ve 40 µl proteinaz K konuldu. Vortekslenerek 10 dk 70°C’de inkübe edildi. 100 µl izopropil alkol ilave edilerek karıştırıldı. Tüpteki sıvının tamamı, toplama tüpü ve filtreli tüplere aktarıldı. Toplama tüpü ve filtreli tüp 8 000 rpm’de 1 dk santrifüj edildi. Santrifüj sonrası toplama tüpü atılıp yenisi filtreli tüpün altına yerleştirildi ve 500 µl “Inhibitor removal buffer” eklenerek 8 000 rpm’de 1 dk santrifüj edildi. Santrifüj sonrası toplama tüpü atılarak yenisi filtreli tüpün altına yerleştirildi ve filtreli tüpe 500 µl yıkama tamponu eklenerek 8 000 rpm’de 1 dk santrifüj edildi. Bu basamak bir kez daha tekrarlandı. Santrifüj sonrası toplama tüpü atılmadan 10 sn 10 000 rpm’de santrifüj edildi. Santrifüj sonrası toplama tüpü atılarak filtreli tüp steril 1,5 ml’lik tüpe yerleştirildi ve üzerine 70°C’de bekleyen “Elution buffer” dan 200 µl ilave edildi. 8 000 rpm’de 1 dk santrifüj yapılarak filtreli tüpte bulunan sıvının tüpe geçmesi sağlandı. Elüsyonu tamamlanan tüpler PCR çalışmalarında kalıp DNA olarak kullanmak üzere, çalışılncaya kadar -20°C’de saklandı.

3.2.2.2. TEM Grubu Enzim Genlerinin Amplifikasyonu

PCR reaksiyonu karışımı; toplam hacim 50 µl olacak şekilde, 25 µl master miks, 22 µl DNaz/RNaz’dan ari distile su, 10 pmol forward ve revers primerlerden 1’er µl ve 1 µl kalıp DNA kullanılarak hazırlandı (Arlet ve ark. 2010).

Amplifikasyon ısı döngü cihazında; 94°C’de 3 dk başlangıç denatürasyonu, 95°C’de 30 sn denatürasyon, 55°C’de 30 sn primer bağlanması, 72°C’de 45 sn sentez döngüsünden toplam 35 döngü ve son sentez aşaması 72°C’de 5 dk olacak şekilde düzenlenen program kullanılarak yapıldı (Arlet ve ark. 2010) (Tablo 3-5).

3.2.2.3. SHV Grubu Enzim Genlerinin Amplifikasyonu

PCR reaksiyonu karışımı; toplam hacim 50 µl olacak şekilde, 25 µl master miks, 22 µl DNaz/RNaz’dan ari distile su, 30 pmol forward ve revers primerlerden 1’er µl ve 1 µl kalıp DNA kullanılarak hazırlandı (Chanawong ve ark. 2000).

Amplifikasyon ısı döngü cihazında; 95°C’de 5 dk başlangıç denatürasyonu, 95°C’de 15 sn denatürasyon, 52°C’de 30 sn primer bağlanması, 72°C’de 90 sn sentez döngüsünden toplam 30 döngü ve son sentez aşaması 72°C’de 5 dk olacak şekilde düzenlenen program kullanılarak yapıldı (Chanawong ve ark. 2000) (Tablo 3-5).

3.2.2.4. OXA-10 Geninin Amplifikasyonu

PCR reaksiyonu karışımı; toplam hacim 50 µl olacak şekilde, 20,5 µl master miks, 24,5 µl DNaz/RNaz'dan ari distile su, 50 pmol forward ve revers primerlerden 1,5'er µl ve 2 µl kalıp DNA kullanılarak hazırlandı (Vahaboğlu ve ark. 1998).

Amplifikasyon ısı döngü cihazında; 94°C'de 10 dk başlangıç denatürasyonu, 94°C'de 1 dk denatürasyon, 55°C'de 1 dk primer bağlanması, 72°C'de 1 dk sentez döngüsünden toplam 35 döngü ve son sentez aşaması 72°C'de 10 dk olacak şekilde düzenlenen program kullanılarak yapıldı (Vahaboğlu ve ark. 1998) (Tablo 3-5).

3.2.2.5. PER-2 Geninin Amplifikasyonu

PCR reaksiyonu karışımı; toplam hacim 50 µl olacak şekilde, 25 µl master miks, 22 µl DNaz/RNaz'dan ari distile su, 25 pmol forward ve revers primerlerden 1'er µl ve 1 µl kalıp DNA kullanılarak hazırlandı (Bauernfeind ve ark. 1996).

Amplifikasyon ısı döngü cihazında; 95°C'de 3 dk başlangıç denatürasyonu, 94°C'de 30 sn denatürasyon, 60°C'de 30 sn primer bağlanması, 72°C'de 30 sn sentez döngüsünden toplam 25 döngü ve son sentez aşaması 72°C'de 3 dk olacak şekilde düzenlenen program kullanılarak yapıldı (Bauernfeind ve ark. 1996) (Tablo 3-5).

Tablo 3-5: TEM, SHV, OXA-10, PER-2 ve CTX-M genlerinin PCR karışımları ve programları

Hedef	PCR karışımının içeriği*			Amplifikasyon Koşulları
	Master Miks**	Primer konsantrasyonu***	Kalıp DNA	
TEM	25 µl	0,2 µM (1 µl F) (1 µl R)	1 µl	94°C-3 dk, (95°C-30 sn, 55°C-30 sn, 72°C-45 sn)x35, 72°C-5 dk
SHV	25 µl	0,3 µM (1 µl F) (1 µl R)	1 µl	95°C-5 dk, (95°C-15 sn, 52°C-30 sn, 72°C-90 sn)x30, 72°C-5 dk
OXA-10	20,5 µl	0,5 µM (1,5 µl F) (1,5 µl R)	2 µl	94°C-10 dk, (94°C-1 dk, 55°C-1 dk, 72°C-1 dk)x35, 72°C-10 dk
PER-2	25 µl	0,25 µM (1 µl F) (1 µl R)	1 µl	95°C-3 dk, (94°C-30 sn, 60°C-30 sn, 72°C-30 sn)x25, 72°C-3 dk
CTX-M	25 µl	0,2 µM (1 µl F) (1 µl R)	1 µl	94°C-3 dk, (95°C-30 sn, 57°C-30 sn, 72°C-45 sn)x35, 72°C-5 dk

*PCR karışımının toplam hacmi 50 µl olacak şekilde DNaz/RNaz'dan ari distile su ile tamamlandı.

**Amplifikasyonda kullanılan PCR Master Miks 2X konsantrasyonda kullanıldı.

***F: Forward primer, R: Revers primer.

3.2.2.6. CTX-M Geninin Amplifikasyonu

PCR reaksiyonu karışımı; toplam hacim 50 µl olacak şekilde, 25 µl master miks, 22 µl DNaz/RNaz'dan ari distile su, 20 pmol forward ve revers primerlerden 1'er µl ve 1 µl kalıp DNA kullanılarak hazırlandı (Saladin ve ark. 2002).

Amplifikasyon ısı döngü cihazında; 94°C'de 3 dk başlangıç denatürasyonu, 95°C'de 30 sn denatürasyon, 57°C'de 30 sn primer bağlanması, 72°C'de 45 sn sentez döngüsünden toplam 35 döngü ve son sentez aşaması 72°C'de 5 dk olacak şekilde düzenlenen program kullanılarak yapıldı (Saladin ve ark. 2002) (Tablo 3-5).

3.2.2.7. Multipleks PCR ile CTX-M Grubu Enzim Genlerinin Amplifikasyonu

PCR reaksiyonu karışımı; toplam hacim 50 µl olacak şekilde, 30 µl master miks, 6 µl DNaz/RNaz'dan ari distile su, CTX-M Grup 1, 2 ve 9'a ait forward ve revers primerlerinin dahil olduğu 10 µl'lik primer havuzu ve 4 µl kalıp DNA ile hazırlandı. 10 µl primer havuzu; 10 pmol CTX-M Grup 1 forward ve revers primerlerden 0,2'şer µl, 10 pmol CTX-M Grup 2 forward ve revers primerlerden 0,2'şer µl, 10 pmol CTX-M Grup 9 forward ve revers primerlerden 0,4'er µl'nin karışımından elde edildi (Woodford ve ark. 2006). CTX-M Grup 8 ve 25 için ayrı PCR programı şeklinde; PCR reaksiyonu karışımı; toplam hacim 50 µl olacak şekilde, 34 µl master miks, 6 µl DNaz/RNaz'dan ari distile su, gruplara ait forward ve revers primerlerden 1'er µl ve 4 µl kalıp DNA ile hazırlandı. CTX-M grubu multipleks PCR çalışmasının optimizasyon çalışmalarında CTX-M Grup 8 ve 25 için anlamlı pozitif sonuçlar elde edilemediğinden dolayı her iki grup için ayrı ayrı PCR amplifikasyonları yapılmasına karar verildi.

Amplifikasyon ısı döngü cihazında; 94°C'de 5 dk başlangıç denatürasyonu, 94°C'de 25 sn denatürasyon, 52°C'de 40 sn primer bağlanması, 72°C'de 50 sn sentez döngüsünden toplam 30 döngü ve son sentez aşaması 72°C'de 6 dk olacak şekilde düzenlenen program kullanılarak yapıldı (Woodford ve ark. 2006) (Tablo 3-6).

3.2.2.8. Multipleks PCR ile AmpC Grubu Enzim Genlerinin Amplifikasyonu

PCR reaksiyonu karışımı; toplam hacim 50 µl olacak şekilde, 18 µl master miks, 18 µl DNaz/RNaz'dan ari distile su, gruplara ait forward ve revers primerlerinin dahil olduğu 10 µl primer havuzu, ve 4 µl kalıp DNA ile hazırlandı. 10 µl primer havuzu; her grup 10 pmol olmak üzere, MOX Grubu forward ve revers primerlerden 0,6'şar µl, CIT Grubu forward ve revers primerlerden 0,6'şar µl, DHA Grubu forward ve revers

primerlerden 0,6'şer µl, ACC Grubu forward ve revers primerlerden 0,5'er µl, EBC Grubu forward ve revers primerlerden 0,5'er µl, FOX Grubu forward ve revers primerlerden 0,4'er µl'nin karışımından elde edildi (Pérez-Pérez ve Hanson, 2002).

Amplifikasyon ısı döngü cihazında; 94°C'de 3 dk başlangıç denatürasyonu, 94°C'de 30 sn denatürasyon, 64°C'de 30 sn primer bağlanması, 72°C'de 60 sn sentez döngüsünden toplam 25 döngü ve son sentez aşaması 72°C'de 7 dk olacak şekilde düzenlenen program kullanılarak yapıldı (Pérez-Pérez ve Hanson, 2002) (Tablo 3-6).

Tablo 3-6: CTX-M ve AmpC grup genlerinin multipleks PCR karışımları ve programları

	Hedef Gruplar	PCR karışımının içeriği*			Amplifikasyon Koşulları
		Master Miks**	Primer konsantrasyonu***	Kalıp DNA	
CTX-M Multipleks PCR	Grup 1	30 µl	0,1 µM (0,2 µl F) (0,2 µl R)	4µl	94°C-5 dk, (94°C-25 sn, 52°C-40 sn, 72°C-50 sn)x30, 72°C-6 dk
	Grup 2		0,1 µM (0,2 µl F) (0,2 µl R)		
	Grup 9		0,1 µM (0,4 µl F) (0,4 µl R)		
CTX-M PCR	Grup 8	34 µl	0,3 µM (1 µl F) (1 µl R)	4 µl	
	Grup 25		0,3 µM (1 µl F) (1 µl R)		
AmpC Multipleks PCR	MOX Grubu	18 µl	0,1 µM (0,6 µl F) (0,6 µl R)	4 µl	94°C-3 dk, (94°C-30 sn, 64°C-30 sn, 72°C-60 sn)x25, 72°C-7 dk
	CIT Grubu		0,1 µM (0,6 µl F) (0,6 µl R)		
	DHA Grubu		0,1 µM (0,6 µl F) (0,6 µl R)		
	ACC Grubu		0,1 µM (0,5 µl F) (0,5 µl R)		
	EBC Grubu		0,1 µM (0,5 µl F) (0,5 µl R)		
	FOX Grubu		0,1 µM (0,4 µl F) (0,4 µl R)		

* PCR karışımının toplam hacmi 50 µl olacak şekilde DNaz/RNaz'dan arı distile su ile tamamlandı.

**Amplifikasyonda kullanılan PCR Master Miks 2X konsantrasyonda kullanıldı.

***Her iki multipleks PCR çalışmasında forward (F) ve revers (R) primerler ile 10 µl'lik primer havuzu oluşturuldu.

3.2.2.9. PCR Ürünlerinin Elektroforezi ile DNA'nın Saptanması

PCR ürünlerine agaroz jelde elektroforez yöntemi uygulandı. %1,5 agaroz içeren jel, 1X TBE ile 10 µg/ml etidyum bromür ile boyanarak hazırlandı. Agaroz jele, DNA marker (5 µl DNA marker ve 1 µl yükleme solüsyonu), pozitif kontrol, negatif kontrol ve örneklerle ait PCR ürünleri (5 µl amplikon + 1 µl yükleme solüsyonu) yüklendi.

Elektroforez işlemi 1XTBE tampon içerisinde 90 Voltta 60 dk sürdürüldü. İşlemin sonunda jel tanktan alınarak UV transmilatörde gözlemlendi. Oluşan bantlar kaydedildi.

Agaroz jel elektroforetik seperasyonu sonucunda, pozitif kontrollerde spesifik bant oluşumu (Tablo 3-7), negatif kontrolde ise bant olmaması yapılan PCR testinin doğruluğunu gösterdi. Örneklerin spesifik DNA pozitif değerlendirilmesi belirtilen molekül ağırlıklarında DNA bandının varlığına göre yapıldı.

Tablo 3-7: Değerlendirmede kullanılan DNA bantlarının molekül ağırlıkları

	TEM	SHV	OXA-10	PER-2	CTX-M	CTX-M Grup 1	CTX-M Grup 2	CTX-M Grup 8	CTX-M Grup 9	CTX-M Grup 25	MOX	CIT	DHA	ACC	EBC	FOX
Molekül Ağırlığı (bp)	858	827	720	469	550	415	552	666	205	327	520	462	405	346	302	190
Kaynak	Arlet ve ark. 1995	Chanawong ve ark. 2000	Vahaboglu ve ark. 1998	Bauernfeind ve ark. 1996	Saladin ve ark. 2002	Woodford ve ark. 2006					Pérez-Pérez ve Hanson, 2002					

3.2.3. İstatiksel Analiz

Köpek ve kedi dışkısında GSBL ve/veya AmpC üreten *E.coli* kolonizasyonunun cinsiyet, hayvan türü ve antibiyotik kullanma geçmişi gibi etkenlerin önemi araştırıldı.

Hayvan türü, cinsiyet ve antibiyotik kullanma geçmişi değişkenleri; sırasıyla köpek yada kedi, dişi ya da erkek ve geçmişinde herhangi bir zamanda antibiyotik uygulamasının bulunup bulunmamasına göre planlandı. Bu kategorilerin herbirinde izolatların varlığı veya yokluğu karşılaştırıldı ve istatistiksel olarak değerlendirildi.

Çalışmada, köpeklerde 85 erkek ve 107 dişi, kedilerde 89 erkek ve 103 dişi; köpeklerde 45 adet antibiyotik uygulama geçmişi bulunan ve 27 adet bulunmayan, kedilerde 66 antibiyotik uygulama geçmişi bulunan ve 30 adet bulunmayan hayvan; kolonizasyon yönünden değerlendirmeye alındı.

İstatistiki değerlendirmede veriler SPSS programında kodlanarak Pearson Ki-kare istatistiksel analizi ile yapılarak, p-değeri ≤ 0.05 olan değerler anlamlı olarak değerlendirildi.

4. BULGULAR

4.1. İzolasyon ve İdentifikasyon

Sefotaksim katkılı MacConkey agarda üremiş, laktoz pozitif, Gram negatif, katalaz pozitif, oksidaz negatif, indol pozitif, MR pozitif, VP negatif, sitrat negatif, üre negatif, TSIA'da H₂S oluşumu negatif, glukoz pozitif ve ramnoz pozitif olan 171 *E.coli* suşu izole ve identifiye edildi. İdentifiye edilen 171 *E.coli* suşunun 89'u köpeklere ve 82'si kedilere aitti.

4.2. Fenotipik GSBL Tarama Testi Sonuçları

CLSI standartlarında verilen üreme inhibisyon zon çaplarına göre köpek izolatlarının 54'ü (%60,7), kedi izolatlarının 48'i (%58,6) tarama testi pozitif bulundu (Tablo 4-1 ve 4-2).

4.3. Fenotipik GSBL Doğrulama Testi Sonuçları

GSBL tarama testi sonucu pozitif bulunan 54 köpek izolatın 38'i, 48 kedi izolatın 16'sı GSBL doğrulama testi pozitif bulundu.

Sonuç olarak sefotaksim katkılı MacConkey agardan izole edilmiş 89 köpek izolatının 38'i (%42,7), 82 kedi izolatın 16'sı (%19,6), toplamda 171 *E.coli* izolatının 54'ü (%31,6) fenotipik GSBL pozitif bulundu (Tablo 4-1 ve 4-2).

4.4. Fenotipik AmpC Tanımlama Testi Sonuçları

Sefotaksim katkılı MacConkey agardan izole edilmiş 89 köpek izolatının 3'ü, 82 kedi izolatının 1'i, toplamda 171 izolatın 4'ü fenotipik AmpC pozitif bulundu. Fenotipik AmpC pozitif bulunan 3 köpek izolatının 2'si aynı zamanda GSBL pozitif *E.coli* izolatı idi (Tablo 4-1 ve 4-2).

4.5. Fenotipik GSBL ve AmpC Testi Sonuçları

Köpek izolatları içinde fenotipik olarak GSBL pozitif 38 izolatın 36'sının sadece GSBL pozitif, 2'sinin GSBL ve AmpC pozitif, ayrıca 38 izolatın dışında bir izolatın da sadece AmpC pozitif olduğu (n=39) belirlendi (Tablo 4-1).

Kedi izolatları içinde fenotipik olarak GSBL pozitif 16 izolatın 15'inin sadece GSBL pozitif, birinin GSBL ve AmpC pozitif olduğu (n=16) belirlendi (Tablo 4-2).

Tablo 4-1: Köpeklere ait izolatların fenotipik değerlendirme sonuçları

Örnek No	GSBL Tarama Testi Üreme-inhibisyon zonu (mm)					GSBL Tarama testi sonucu	GSBL Doğrulama Testi Üreme-inhibisyon zonu (mm)				GSBL Sonuç	AmpC Tanımlama Testi		AmpC Sonuç
	CTX	CRO	CAZ	CPD	ATM		CTX	CTX/ CLA	CAZ	CAZ/CLA		CFX	CPM	
D-4	14	0	20	0	0	+	14	22	20	26	GSBL+	S	R	–
D-5	18	0	20	0	0	+	18	24	20	26	GSBL+	S	S	–
D-6	14	0	20	0	0	+	14	20	20	26	GSBL+	S	S	–
D-7	0	0	0	0	0	+	0	6	0	6	GSBL+	S	R	–
D-8	0	0	0	0	0	+	0	6	0	6	GSBL+	S	R	–
D-9	0	0	0	0	0	+	0	6	0	6	GSBL+	S	R	–
D-10	0	0	10	0	10	+	0	6	10	16	GSBL+	S	R	–
D-11	0	0	12	0	10	+	0	10	12	12	–	S	R	–
D-17	16	14	22	0	18	+	16	24	22	22	–	S	S	–
D-18	0	0	22	0	0	+	0	20	22	22	–	S	S	–
D-19	16	0	0	0	14	+	16	21	0	22	GSBL+	S	R	–
D-25	16	12	14	0	16	+	16	16	14	22	–	S	R	–
D-26	16	10	10	0	16	+	16	18	10	10	–	S	R	–
D-27	22	20	22	0	14	+	22	22	22	22	–	S	S	–
D-30	15	0	10	0	0	+	15	22	10	16	GSBL+	S	S	–
D-31	16	0	0	0	14	+	16	20	0	18	–	S	R	–
D-32	16	0	10	0	12	+	16	22	10	16	GSBL+	S	S	–
D-33	20	0	0	0	0	+	20	20	0	14	–	R	R	–
D-35	16	0	10	0	0	+	16	22	10	16	GSBL+	S	R	–
D-36	14	0	14	0	0	+	14	22	14	20	GSBL+	S	R	–
D-37	14	0	14	0	0	+	14	22	14	22	GSBL+	S	R	–
D-38	20	0	0	0	0	+	20	20	10	14	–	S	R	–
D-39	16	0	0	0	10	+	16	22	0	14	GSBL+	S	S	–
D-40	14	0	8	0	14	+	14	14	8	14	–	R	R	–
D-42	28	26	24	22	28	–					–	S	R	–
D-44	16	12	0	0	12	+	16	22	0	16	GSBL+	S	R	–
D-45	14	0	0	0	12	+	14	20	0	12	GSBL+	S	R	–
D-46	14	0	0	0	12	+	14	20	0	12	GSBL+	S	R	–
D-48	14	0	0	0	10	+	14	20	0	14	GSBL+	S	R	–
D-53	20	0	0	0	14	+	20	20	0	14	–	S	R	–
D-57	16	10	0	0	12	+	16	22	0	16	GSBL+	S	S	–
D-60	22	0	0	0	0	+	22	22	0	14	–	S	R	–
D-62	12	0	0	0	10	+	12	20	0	16	GSBL+	S	R	–
D-63	20	12	0	0	0	+	20	20	0	12	–	S	S	–
D-64	16	0	10	0	16	+	16	22	10	16	GSBL+	S	R	–
D-66	14	10	10	0	14	+	14	22	10	16	GSBL+	S	S	–
D-67	18	12	0	0	16	+	18	20	0	12	–	S	R	–
D-73	20	0	0	0	16	+	20	22	0	18	–	S	R	–
D-74	14	0	0	0	0	+	14	22	0	18	GSBL+	S	R	–
D-77	14	0	0	0	12	+	14	22	0	18	GSBL+	S	R	–

GSBL pozitifliğini, AmpC pozitifliğini göstermektedir.

CTX: Sefotaksim, CRO: Seftriakson, CAZ: Seftazidim, CPD: Sefpodosim, ATM: Aztreonam, CTX/CLA: Sefotaksim/Klavulanik asit, CAZ/CLA: Seftazidim/Klavulanik asit, CFX: Sefoksitin, CPM: Sefepim, S: Duyarlı, R: Dirençli

Örnek No	GSBL Tarama Testi Üreme-inhibisyon zonu (mm)					GSBL Tarama testi sonucu	GSBL Doğrulama Testi Üreme-inhibisyon zonu (mm)				GSBL Sonuç	AmpC Tanımlama Testi		AmpC Sonuç
	CTX	CRO	CAZ	CPD	ATM		CTX	CTX/CLA	CAZ	CAZ/CLA		CFX	CPM	
D-78	20	0	0	0	16	+	20	22	0	10	-	S	R	-
D-79	18	0	0	0	12	+	18	24	0	18	GSBL+	S	R	-
D-83	16	0	0	0	10	+	16	22	0	12	GSBL+	S	R	-
D-97	28	27	24	20	28	-					-	S	S	-
D-99	28	26	23	22	28	-					-	S	S	-
D-114	0	0	0	0	0	+	0	14	0	10	GSBL+	S	R	-
D-115	12	0	0	0	10	+	12	18	0	14	GSBL+	S	R	-
D-118	12	0	0	0	10	+	12	20	0	14	GSBL+	S	R	-
D-120	16	10	10	0	12	+	16	22	10	18	GSBL+	S	R	-
D-123	28	26	24	20	28	-					-	S	S	-
D-124	28	27	24	22	28	-					-	S	R	-
D-125	28	26	26	22	28	-					-	S	R	-
D-126	28	26	24	20	28	-					-	S	R	-
D-127	28	26	26	24	28	-					-	S	R	-
D-128	29	28	28	24	28	-					-	S	R	-
D-130	30	28	28	20	29	-					-	S	R	-
D-131	28	26	26	22	28	-					-	S	R	-
D-133	30	27	23	18	30	-					-	S	R	-
D-134	28	26	24	18	28	-					-	S	R	-
D-135	28	26	24	20	28	-					-	S	R	-
D-136	14	10	0	0	14	+	14	20	0	12	GSBL+	S	R	-
D-137	28	26	26	24	28	-					-	S	R	-
D-138	29	28	28	18	28	-					-	S	S	-
D-139	30	28	28	20	29	-					-	S	S	-
D-150	28	26	26	22	28	-					-	S	S	-
D-151	30	27	23	24	30	-					-	S	S	-
D-154	28	26	24	18	28	-					-	S	S	-
D-161	28	27	24	22	28	-					-	S	S	-
D-163	28	26	23	20	28	-					-	S	S	-
D-164	30	28	28	20	29	-					-	S	S	-
D-166	28	26	26	22	28	-					-	S	S	-
D-168	0	0	12	0	10	+	0	12	12	18	GSBL+	S	R	-
D-169	28	26	24	18	28	-					-	S	S	-
D-170	10	0	14	0	10	+	10	16	14	20	GSBL+	S	R	-
D-172	28	26	24	18	28	-					-	S	R	-
D-173	28	27	24	24	28	-					-	S	S	-
D-175	10	0	12	0	10	+	10	18	12	20	GSBL+	S	R	-
D-176	0	0	0	0	0	+	0	10	0	12	GSBL+	R	S	AmpC+
D-177	0	0	10	0	0	+	0	12	10	16	GSBL+	R	S	AmpC+
D-180	28	26	24	18	28	-					-	R	S	AmpC+
D-182	0	0	12	0	0	+	0	12	12	18	GSBL+	S	R	-
D-183	28	26	26	24	28	-					-	S	S	-

Orange: GSBL pozitifliği, Green: AmpC pozitifliğini göstermektedir.

CTX: Sefotaksim, CRO: Seftriakson, CAZ: Seftazidim, CPD: Sefpodoksım, ATM: Aztreonam, CTX/CLA: Sefotaksim/Klavulanik asit, CAZ/CLA: Seftazidim/Klavulanik asit, CFX: Sefoksitin, CPM: Sefepim, S: Duyarlı, R: Dirençli

Örnek No	GSBL Tarama Testi Üreme-inhibisyon zonu (mm)					GSBL Tarama testi sonucu	GSBL Doğrulama Testi Üreme-inhibisyon zonu (mm)				GSBL Sonuç	AmpC Tanımlama Testi		AmpC Sonuç
	CTX	CRO	CAZ	CPD	ATM		CTX	CTX/ CLA	CAZ	CAZ/CLA		CFX	CPM	
D-184	29	28	28	24	28	–					–	S	S	–
D-185	30	28	28	20	29	–					–	S	R	–
D-187	28	26	26	22	28	–					–	S	R	–
D-189	30	27	23	18	30	–					–	S	R	–
D-190	10	0	12	0	10	+	10	16	12	18	GSBL+	S	R	–
D-191	28	27	24	20	28	–					–	S	S	–
D-192	28	26	23	20	28	–					–	S	S	–

Orange: GSBL pozitifliğini, Green: AmpC pozitifliğini göstermektedir.

CTX: Sefotaksim, CRO: Seftriakson, CAZ: Seftazidim, CPD: Sefpodoksim, ATM: Aztreonam, CTX/CLA: Sefotaksim/Klavulanik asit, CAZ/CLA: Seftazidim/Klavulanik asit, CFX: Sefoksitin, CPM: Sefepim, S: Duyarlı, R: Dirençli

Tablo 4-2: Kedilere ait izolatların fenotipik değerlendirme sonuçları

Örnek No	GSBL Tarama Testi Üreme-inhibisyon zonu (mm)					GSBL Tarama testi sonucu	GSBL Doğrulama Testi Üreme-inhibisyon zonu (mm)				GSBL Sonuç	AmpC Tanımlama Testi		AmpC Sonuç
	CTX	CRO	CAZ	CPD	ATM		CTX	CTX/ CLA	CAZ	CAZ/CLA		CFX	CPM	
C-1	28	27	24	24	28	–					–	S	S	–
C-4	14	14	16	16	24	+	14	20	16	18	–	S	S	–
C-6	18	16	18	14	16	+	18	26	18	24	GSBL+	S	R	–
C-7	10	14	20	10	16	+	10	18	20	28	GSBL+	S	R	–
C-8	16	0	0	0	12	+	16	18	20	20	–	S	R	–
C-11	0	14	0	10	0	+	0	14	12	14	–	S	S	–
C-12	16	14	0	0	10	+	0	16	12	14	–	S	R	–
C-14	10	12	22	0	0	+	10	12	22	22	–	S	S	–
C-15	12	10	0	0	0	+	12	14	22	24	–	S	S	–
C-22	0	0	18	0	0	+	0	22	22	24	–	S	R	–
C-25	18	16	14	12	14	+	18	26	14	22	GSBL+	S	S	–
C-30	0	0	16	0	12	+	0	22	16	22	GSBL+	S	R	–
C-32	18	0	16	0	14	+	18	24	0	14	GSBL+	S	R	–
C-33	18	0	0	0	14	+	18	24	0	16	GSBL+	S	R	–
C-56	0	0	14	0	10	+	0	14	14	20	GSBL+	S	R	–
C-57	0	0	10	0	14	+	0	8	10	10	–	S	R	–
C-58	14	0	12	0	14	+	14	16	12	12	–	S	R	–
C-59	0	14	12	0	10	+	0	10	12	14	–	S	R	–
C-60	0	0	14	0	0	+	0	8	14	14	–	S	R	–
C-61	0	0	12	0	12	+	0	12	12	14	–	S	R	–
C-64	14	0	12	0	14	+	14	20	12	18	GSBL+	S	S	–
C-66	12	0	10	0	10	+	12	12	10	14	–	S	S	–
C-67	0	0	10	0	10	+	0	10	10	12	–	S	R	–
C-69	14	12	16	16	10	+	14	16	16	16	–	S	S	–
C-70	0	0	8	10	8	+	0	6	8	10	–	S	R	–
C-77	16	0	0	0	12	+	16	18	20	20	–	S	R	–
C-80	10	12	16	0	0	+	10	12	16	18	–	S	S	–

Orange: GSBL pozitifliğini, Green: AmpC pozitifliğini göstermektedir.

CTX: Sefotaksim, CRO: Seftriakson, CAZ: Seftazidim, CPD: Sefpodoksim, ATM: Aztreonam, CTX/CLA: Sefotaksim/Klavulanik asit, CAZ/CLA: Seftazidim/Klavulanik asit, CFX: Sefoksitin, CPM: Sefepim, S: Duyarlı, R: Dirençli

Örnek No	GSBL Tarama Testi Üreme-inhibisyon zonu (mm)					GSBL Tarama testi sonucu	GSBL Doğrulama Testi Üreme-inhibisyon zonu (mm)				GSBL Sonuç	AmpC Tanımlama Testi		AmpC Sonuç
	CTX	CRO	CAZ	CPD	ATM		CTX	CTX/ CLA	CAZ	CAZ/CLA		CFX	CPM	
C-87	0	0	10	0	14	+	0	8	10	10	–	S	R	–
C-90	14	0	12	0	14	+	14	16	12	12	–	S	R	–
C-91	0	0	12	0	12	+	0	12	12	14	–	S	R	–
C-92	14	0	12	0	14	+	14	20	12	20	GSBL+	S	R	–
C-97	12	0	10	0	10	+	12	12	10	14	–	S	S	–
C-98	10	0	10	0	14	+	10	10	10	16	–	S	R	–
C-100	18	0	0	0	0	+	18	18	0	0	–	S	R	–
C-103	14	12	16	16	10	+	14	16	16	16	–	S	S	–
C-104	14	0	12	0	14	+	14	16	12	12	–	S	R	–
C-108	0	14	12	0	10	+	0	10	12	14	–	S	R	–
C-113	8	0	10	0	0	+	8	14	10	16	GSBL+	R	S	AmpC+
C-116	0	14	0	10	0	+	0	14	12	14	–	S	S	–
C-117	14	12	16	16	10	+	14	16	16	16	–	S	S	–
C-120	0	0	18	0	0	+	0	22	18	22	–	S	R	–
C-125	10	12	16	0	0	+	10	12	16	18	–	S	S	–
C-126	0	14	12	0	10	+	0	10	12	14	–	S	R	–
C-132	29	28	28	18	28	–					–	S	R	–
C-133	30	28	28	20	29	–					–	S	S	–
C-134	28	26	26	22	28	–					–	S	S	–
C-136	30	27	23	24	30	–					–	S	S	–
C-137	28	26	24	24	28	–					–	S	S	–
C-138	28	27	24	20	28	–					–	S	S	–
C-139	28	26	23	22	28	–					–	S	S	–
C-142	30	28	28	20	29	–					–	S	S	–
C-144	8	0	12	0	8	+	8	14	12	18	GSBL+	S	R	–
C-145	28	26	26	24	28	–					–	S	S	–
C-146	29	28	28	18	28	–					–	S	S	–
C-147	30	28	28	20	29	–					–	S	R	–
C-150	28	26	26	22	28	–					–	S	R	–
C-151	30	27	23	18	30	–					–	S	R	–
C-152	0	0	10	0	8	+	0	12	10	20	GSBL+	S	R	–
C-153	22	20	20	22	24	–					–	S	S	–
C-154	0	0	10	0	0	+	0	12	10	18	GSBL+	S	R	–
C-155	29	26	26	24	28	–					–	S	R	–
C-158	28	28	28	22	28	–					–	S	R	–
C-159	29	28	28	20	28	–					–	S	R	–
C-161	28	26	24	22	28	–					–	S	R	–
C-163	28	28	26	22	29	–					–	S	R	–
C-165	0	0	10	0	14	+	0	20	10	18	GSBL+	S	R	–
C-171	10	0	14	0	16	+	10	20	14	20	GSBL+	S	R	–
C-172	28	26	26	24	28	–					–	S	S	–
C-174	29	28	28	18	28	–					–	S	S	–

GSBL pozitifliğini, AmpC pozitifliğini göstermektedir.

CTX: Sefotaksim, CRO: Seftriakson, CAZ: Seftazidim, CPD: Sefpodoksım, ATM: Aztreonam, CTX/CLA: Sefotaksim/Klavulanik asit, CAZ/CLA: Seftazidim/Klavulanik asit, CFX: Sefoksitin, CPM: Sefepim, S: Duyarlı, R: Dirençli

Örnek No	GSBL Tarama Testi Üreme-inhibisyon zonu (mm)					GSBL Tarama testi sonucu	GSBL Doğrulama Testi Üreme-inhibisyon zonu (mm)				GSBL Sonuç	AmpC Tanımlama Testi		AmpC Sonuç
	CTX	CRO	CAZ	CPD	ATM		CTX	CTX/ CLA	CAZ	CAZ/CLA		CFX	CPM	
C-175	30	28	28	20	29	–					–	S	S	–
C-176	28	26	26	22	28	–					–	S	S	–
C-179	30	27	23	18	30	–					–	S	S	–
C-180	28	26	24	24	28	–					–	S	S	–
C-184	28	27	24	22	28	–					–	S	S	–
C-185	28	26	23	20	28	–					–	S	S	–
C-186	0	0	12	0	0	+	0	16	12	18	GSBL+	S	R	–
C-187	30	27	23	18	30	–					–	S	R	–
C-188	28	26	24	18	28	–					–	S	R	–
C-189	28	27	24	24	28	–					–	S	R	–
C-190	28	26	23	20	28	–					–	S	R	–
C-191	30	28	28	24	29	–					–	S	R	–
C-192	28	26	26	22	28	–					–	S	R	–

GSBL pozitifliğini, AmpC pozitifliğini göstermektedir.

CTX: Sefotaksim, CRO: Seftriakson, CAZ: Seftazidim, CPD: Sefpodoksım, ATM: Aztreonam, CTX/CLA: Sefotaksim/Klavulanik asit, CAZ/CLA: Seftazidim/Klavulanik asit, CFX: Sefoksitin, CPM: Sefepim, S: Duyarlı, R: Dirençli

Tablo 4-3: Hayvan türüne göre fenotipik GSBL ve/veya AmpC üreten izolatların dağılımı

Sefotaksimli MacConkey'de üreyen izolat sayısı	GSBL tarama testi pozitif izolat sayısı	GSBL doğrulama testi pozitif izolat sayısı	Yalnız GSBL pozitif izolat sayısı	GSBL ve AmpC pozitif izolat sayısı	Yalnız AmpC tanımlama testi pozitif izolat sayısı
Köpek 89	54/89	38/89 (%42,7)	36/89 (%40,4)	2/89 (%2,2)	1/89 (%1,1)
Kedi 82	48/82	16/82 (%19,6)	15/82 (%18,2)	1/82 (%1,2)	-
Toplam 171	102/171	54/171 (%31,6)	51/171 (%29,9)	3/171 (%1,8)	1/171 (%0,6)

4.6. PCR Sonuçları

4.6.1. Köpek İzolatları

Fenotipik olarak yalnız GSBL pozitif 36 suşun hepsi genotipik olarak da GSBL pozitif bulundu.

Fenotipik olarak GSBL pozitif, AmpC negatif olarak belirlenen 36 suşun 4'ünde (D-32, D-35, D-114 ve D-175) genotipik olarak belirlenen GSBL geninin yanı sıra AmpC genleri de belirlendi.

Fenotipik olarak GSBL ve AmpC pozitif olduğu belirlenen 2 suшта (D-176, D-177) genotipik düzeyde GSBL yönünden pozitiflik saptandı. Ancak bu suşlar AmpC geni yönünden incelendiğinde D-176'nın genotipik düzeyde AmpC pozitif, D-177'nin ise genotipik düzeyde AmpC negatif olduğu saptandı.

Fenotipik olarak yalnız AmpC pozitif olan 1 suşta ise (D-180) genotipik olarak AmpC'nin yanı sıra, GSBL geni de bulundu.

Sonuç olarak PCR ile incelenen 39 suşun 33'ünün yalnız GSBL geni, 6'sının GSBL ve AmpC genlerini taşıdığı belirlendi (Tablo 4-4).

Tablo 4-4: Köpek izolatlarının fenotipik ve genotipik GSBL ve AmpC sonuçları

Örnek no	Fenotipik GSBL	Fenotipik AmpC	Genotipik GSBL	Genotipik AmpC
D-4	+	-	+	-
D-5	+	-	+	-
D-6	+	-	+	-
D-7	+	-	+	-
D-8	+	-	+	-
D-9	+	-	+	-
D-10	+	-	+	-
D-19	+	-	+	-
D-30	+	-	+	-
D-32	+	-	+	+
D-35	+	-	+	+
D-36	+	-	+	-
D-37	+	-	+	-
D-39	+	-	+	-
D-44	+	-	+	-
D-45	+	-	+	-
D-46	+	-	+	-
D-48	+	-	+	-
D-57	+	-	+	-
D-62	+	-	+	-
D-64	+	-	+	-
D-66	+	-	+	-
D-74	+	-	+	-
D-77	+	-	+	-
D-79	+	-	+	-
D-83	+	-	+	-
D-114	+	-	+	+
D-115	+	-	+	-
D-118	+	-	+	-
D-120	+	-	+	-
D-136	+	-	+	-
D-168	+	-	+	-
D-170	+	-	+	-
D-175	+	-	+	+
D-176	+	+	+	+
D-177	+	+	+	-
D-180	-	+	+	+
D-182	+	-	+	-
D-190	+	-	+	-

+: GSBL pozitifliğini, +: AmpC pozitifliğini göstermektedir.

4.6.2. Kedi İzolatları

Fenotipik olarak GSBL ve/veya AmpC belirlenen kedi izolatlarında (n=16), fenotipik olarak yalnız GSBL pozitif 15 suşun hepsi genotipik olarak GSBL pozitif bulundu. Fenotipik olarak GSBL ve AmpC pozitif 1 suşun (C-113) genotipik düzeyde GSBL yönünden pozitif olduğu, AmpC geninin ise negatif olduğu saptandı. Sonuç olarak 16 kedi izolatında sadece GSBL genleri belirlendi (Tablo 4-5).

Tablo 4-5: Kedi izolatlarının fenotipik ve genotipik GSBL ve AmpC sonuçları

Örnek no	Fenotipik GSBL	Fenotipik AmpC	Genotipik GSBL	Genotipik AmpC
C-6	+	-	+	-
C-7	+	-	+	-
C-25	+	-	+	-
C-30	+	-	+	-
C-32	+	-	+	-
C-33	+	-	+	-
C-56	+	-	+	-
C-64	+	-	+	-
C-92	+	-	+	-
C-113	+	+	+	-
C-144	+	-	+	-
C-152	+	-	+	-
C-154	+	-	+	-
C-165	+	-	+	-
C-171	+	-	+	-
C-186	+	-	+	-

+: GSBL pozitifliğini, +: AmpC pozitifliğini göstermektedir.

4.6.3. Köpek ve Kedi İzolatlarında Saptanan GSBL ve AmpC Genleri

***bla*_{CTX-M}**: 39 köpek (%100) ve 16 kedi izolatında (%100) *bla*_{CTX-M} geni saptandı.

***bla*_{TEM}**: 21 köpek (%53,9) ve 11 kedi izolatında (%68,8) *bla*_{TEM} geni saptandı.

***bla*_{SHV}**: 2 köpek (%5,1) ve 2 kedi izolatında (%12,6) *bla*_{SHV} geni saptandı.

CTX-M alt grupları: *bla*_{CTX-M} geni bulunan 39 köpek izolatının tümünde (%100) *bla*_{CTX-M} Grup 1 enzim geni olduğu saptandı. Kedi izolatlarında *bla*_{CTX-M} geni pozitif bulunan 16 izolatın 13'ünde (%81,2) *bla*_{CTX-M} Grup 1 geni ve 3'ünde (%18,8) *bla*_{CTX-M} Grup 9 geni saptandı.

AmpC alt grupları: Bir köpek izolatında (%2,6) *bla*_{MOX} geni, beş köpek izolatında (%12,9) *bla*_{CIT} geni saptandı.

İzolatların hiçbirinde *bla*_{OXA-10}, *bla*_{PER-2}, *bla*_{CTX-M} Grup 2, *bla*_{CTX-M} Grup 8, *bla*_{CTX-M} Grup 25, *bla*_{DHA}, *bla*_{ACC}, *bla*_{EBC} ve *bla*_{FOX} geni saptanmadı.

Köpek izolatlarında belirlenen genlerin dağılımı; %46,1'si *bla*_{TEM} + *bla*_{CTX-M} Grup 1, %35,9'u sadece *bla*_{CTX-M} Grup 1, %5,1'i *bla*_{TEM} + *bla*_{CIT} + *bla*_{CTX-M} Grup 1, %5,1'i *bla*_{CIT} + *bla*_{CTX-M} Grup 1, %2,6'sı *bla*_{MOX} + *bla*_{CTX-M} Grup 1, %2,6'sı *bla*_{SHV} + *bla*_{CIT} + *bla*_{CTX-M} Grup 1, %2,6'sı *bla*_{TEM} + *bla*_{SHV} + *bla*_{CTX-M} Grup 1 olarak bulundu.

Kedi izolatlarında belirlenen genlerin dağılımı; %43,8'i *bla*_{TEM} + *bla*_{CTX-M} Grup 1, %25'i sadece *bla*_{CTX-M} Grup 1, %12,5'i *bla*_{TEM} + *bla*_{CTX-M} Grup 9, %12,5'i *bla*_{TEM} + *bla*_{SHV} + *bla*_{CTX-M} Grup 1, %6,2'si sadece *bla*_{CTX-M} Grup 9 olarak bulundu.

Tüm izolatların PCR sonuçlarına ait veriler Tablo 4-6'da verilmiştir.

4.7. İstatiksel Analiz Sonuçları

Yapılan istatistiksel analiz sonucunda, köpek ve kedi dışkılarında GSBL ve/veya AmpC üreten *E.coli* kolonizasyonunun hayvan türü ile arasındaki ilişki istatistiksel olarak anlamlı bulundu ($p < 0,001$). Köpeklerde kedilere oranla daha fazla kolonizasyon oranı belirlendi.

Kolonizasyon ve cinsiyet arasındaki ilişki değerlendirildiğinde, köpek ve kediler için bu faktörün önem ifade etmediği ($p = 0,827$) saptandı.

Kolonizasyon ile köpek ve kedilerin geçmişinde antibiyotik uygulamasının varlığı ile ilgili, alınan bilgilerin eksik olmasına da bağlı olarak, istatistiksel olarak önemli olmadığı bulundu ($p = 0,315$).

Tablo 4-6: İzolasyon ve identifikasyon sonuçlarına toplu bakış

Örnek ismi	Fenotipik Bulgular		Genotipik bulgular															
	Fenotipik GSBL	Fenotipik AmpC	Ana Gruplar					CTX-M Multipleks PCR					AmpC Multipleks PCR					
			TEM	SHV	OXA-10	PER-2	CTX-M	Grup 1	Grup 2	Grup 8	Grup 9	Grup 25	MOX	CIT	DHA	ACC	EBC	FOX
D-4	+	-	+	-	-	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
D-5	+	-	-	-	-	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
D-6	+	-	+	-	-	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
D-7	+	-	+	-	-	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
D-8	+	-	+	-	-	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
D-9	+	-	-	-	-	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
D-10	+	-	+	-	-	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
D-19	+	-	-	-	-	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
D-30	+	-	+	-	-	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
D-32	+	-	+	-	-	-	+	+	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-
D-35	+	-	+	-	-	-	+	+	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-
D-36	+	-	-	-	-	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
D-37	+	-	+	-	-	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
D-39	+	-	-	-	-	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
D-44	+	-	-	-	-	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
D-45	+	-	+	-	-	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
D-46	+	-	+	-	-	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
D-48	+	-	+	-	-	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
D-57	+	-	-	-	-	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

 : Fenotipik GSBL pozitifliğini,
 : Fenotipik AmpC pozitifliğini,
 : TEM geni pozitifliğini,
 : SHV geni pozitifliğini,
 : CTX-M geni pozitifliğini,
 : CTX-M Grup 1 geni pozitifliğini,
 : CTX-M Grup 9 geni pozitifliğini,
 : MOX geni pozitifliğini,
 : CIT geni pozitifliğini göstermektedir.

Tablo 4-6: İzolasyon ve identifikasyon sonuçlarına toplu bakış

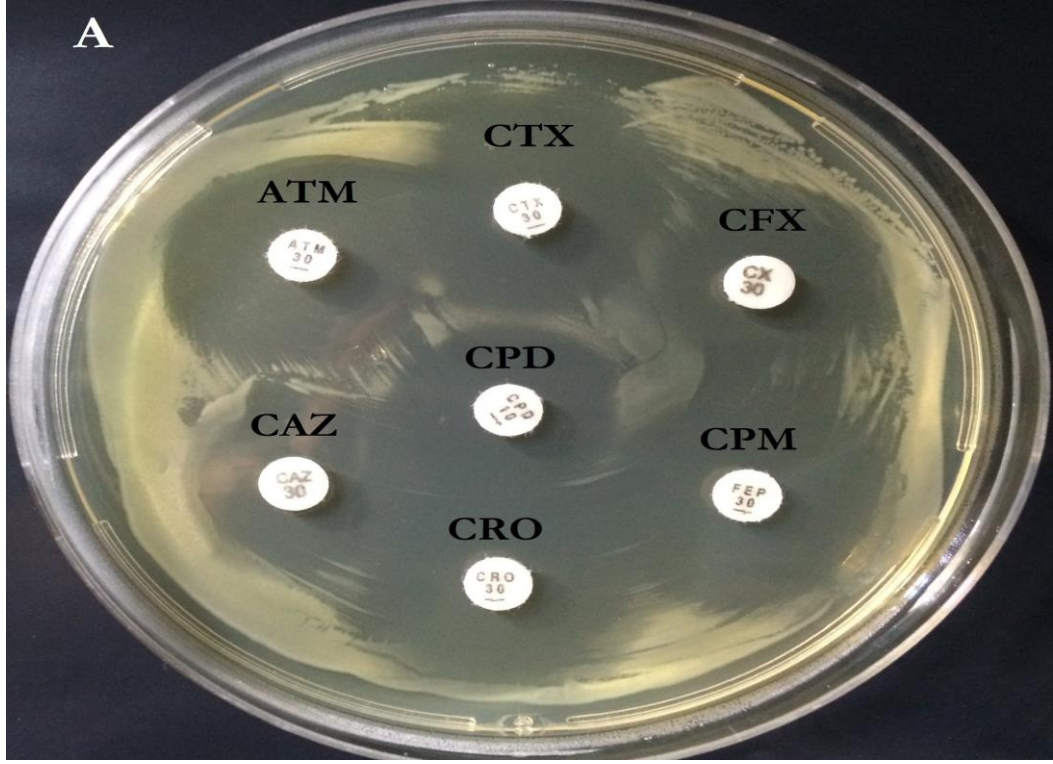
Örnek ismi	Fenotipik Bulgular		Genotipik bulgular															
	Fenotipik GSBL	Fenotipik AmpC	Ana Gruplar					CTX-M Multipleks PCR					AmpC Multipleks PCR					
			TEM	SHV	OXA-10	PER-2	CTX-M	Grup 1	Grup 2	Grup 8	Grup 9	Grup 25	MOX	CIT	DHA	ACC	EBC	FOX
D-62	+	-	-	-	-	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
D-64	+	-	-	-	-	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
D-66	+	-	+	-	-	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
D-74	+	-	-	-	-	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
D-77	+	-	-	-	-	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
D-79	+	-	+	-	-	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
D-83	+	-	+	-	-	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
D-114	+	-	-	-	-	-	+	+	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-
D-115	+	-	-	-	-	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
D-118	+	-	-	-	-	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
D-120	+	-	+	-	-	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
D-136	+	-	+	-	-	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
D-168	+	-	+	-	-	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
D-170	+	-	+	-	-	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
D-175	+	-	-	+	-	-	+	+	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-
D-176	+	+	-	-	-	-	+	+	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-
D-177	+	+	-	-	-	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
D-180	-	+	-	-	-	-	+	+	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-
D-182	+	-	+	-	-	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
D-190	+	-	+	+	-	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

 : Fenotipik GSBL pozitifliğini,
 : Fenotipik AmpC pozitifliğini,
 : TEM geni pozitifliğini,
 : SHV geni pozitifliğini,
 : CTX-M geni pozitifliğini,
 : CTX-M Grup 1 geni pozitifliğini,
 : CTX-M Grup 9 geni pozitifliğini,
 : MOX geni pozitifliğini,
 : CIT geni pozitifliğini göstermektedir.

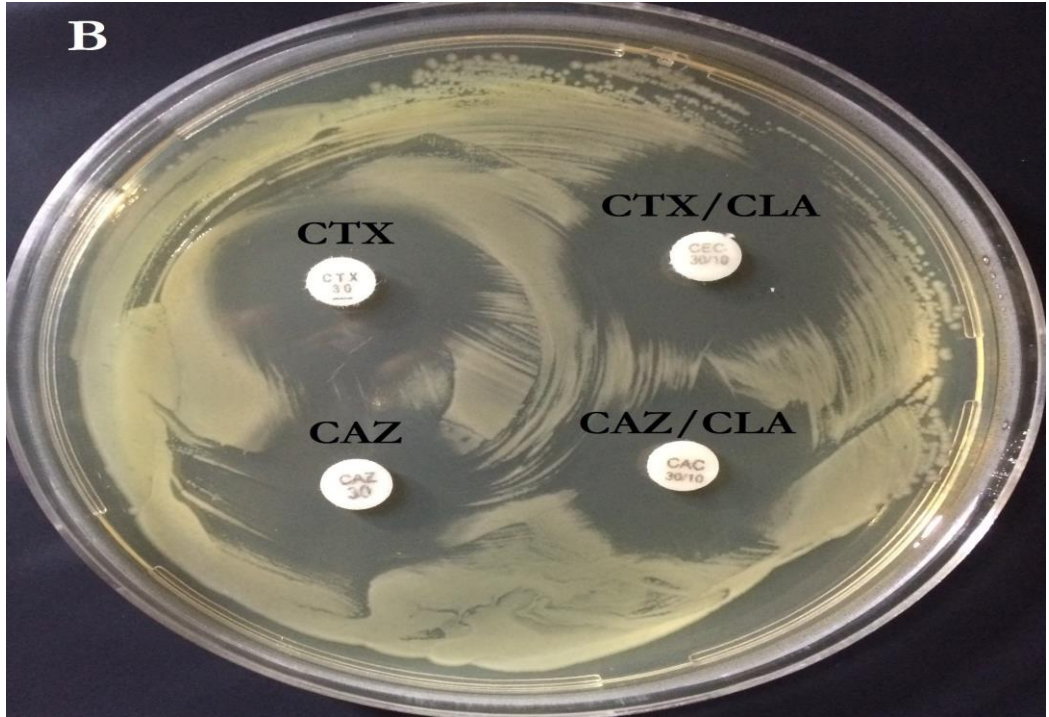
Tablo 4-6: İzolasyon ve identifikasyon sonuçlarına toplu bakış

Örnek ismi	Fenotipik Bulgular		Genotipik Bulgular															
	Fenotipik GSBL	Fenotipik AmpC	Ana Gruplar					CTX-M Multipleks PCR					AmpC Multipleks PCR					
			TEM	SHV	OXA-10	PER-2	CTX-M	Grup 1	Grup 2	Grup 8	Grup 9	Grup 25	MOX	CIT	DHA	ACC	EBC	FOX
C-6	+	-	+	-	-	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
C-7	+	-	+	-	-	-	+	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-
C-25	+	-	+	+	-	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
C-30	+	-	+	-	-	-	+	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-
C-32	+	-	+	-	-	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
C-33	+	-	+	-	-	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
C-56	+	-	+	-	-	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
C-64	+	-	-	-	-	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
C-92	+	-	+	-	-	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
C-113	+	+	-	-	-	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
C-144	+	-	-	-	-	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
C-152	+	-	+	-	-	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
C-154	+	-	+	-	-	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
C-165	+	-	-	-	-	-	+	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-
C-171	+	-	-	-	-	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
C-186	+	-	+	+	-	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

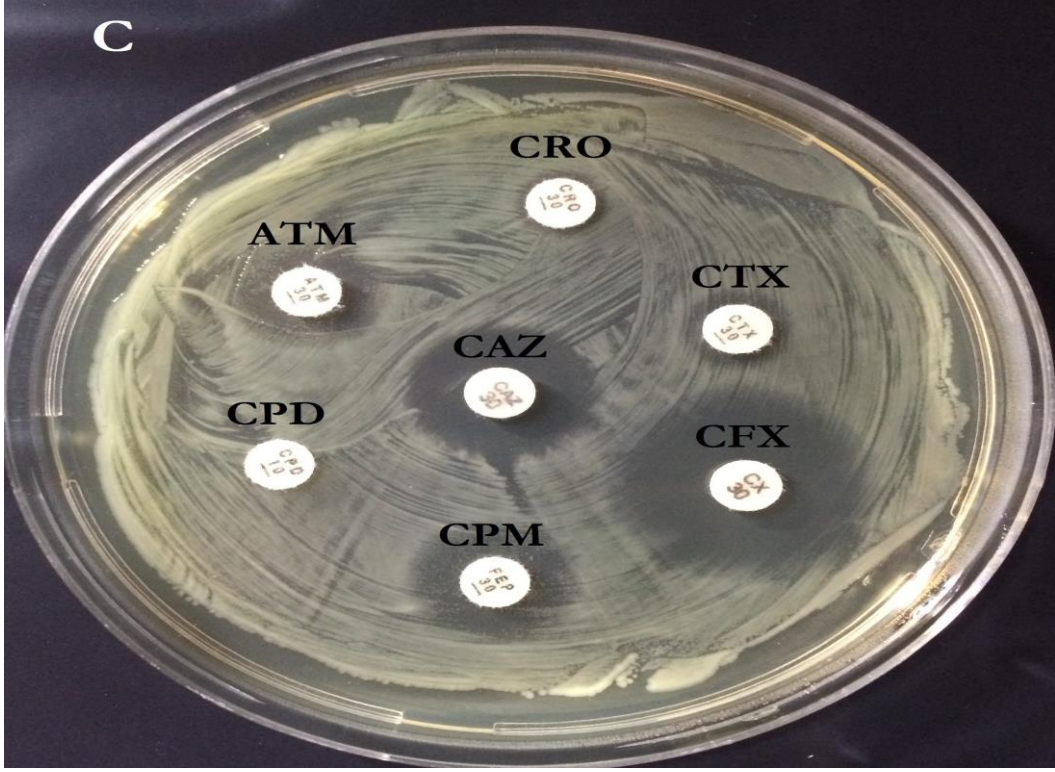
: Fenotipik GSBL pozitifliğini,
 : Fenotipik AmpC pozitifliğini,
 : TEM geni pozitifliğini,
 : SHV geni pozitifliğini,
 : CTX-M geni pozitifliğini,
 : CTX-M Grup 1 geni pozitifliğini,
 : CTX-M Grup 9 geni pozitifliğini,
 : MOX geni pozitifliğini,
 : CIT geni pozitifliğini göstermektedir.



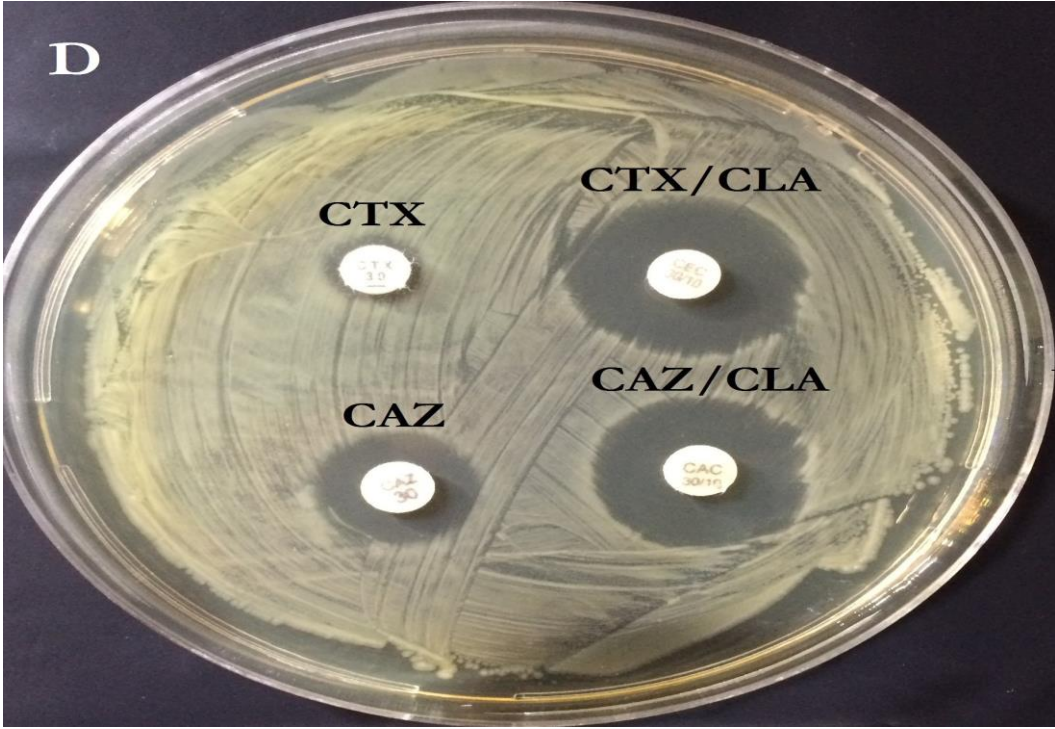
Şekil 4-1: GSBL tarama testi, negatif kontrol (*E.coli* ATCC 35218)



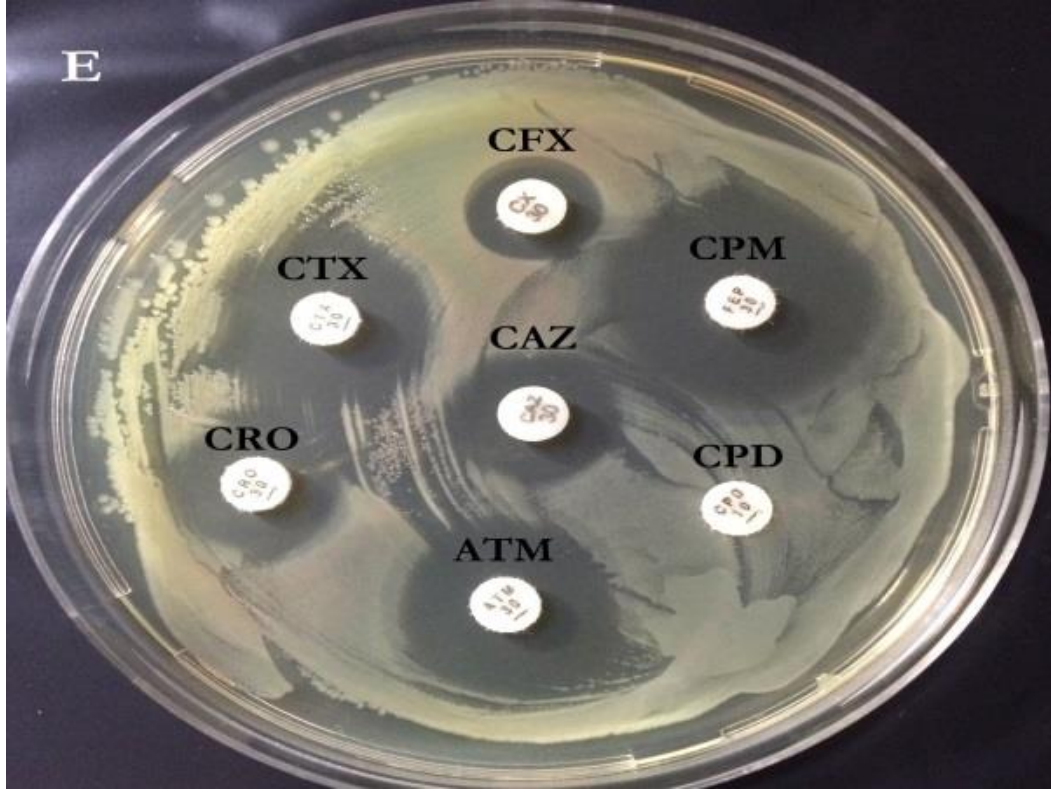
Şekil 4-2: Kombine disk yöntemi, GSBL doğrulama testi, negatif kontrol (*E.coli* ATCC 35218)



Şekil 4-3: GSBL tarama testi sonucu pozitif örnek görüntüsü (D-4)



Şekil 4-4: GSBL doğrulama testi sonucu pozitif örnek görüntüsü (D-4)



Şekil 4-5: AmpC tanımlama testi sonucu pozitif örnek görüntüsü (D-180)

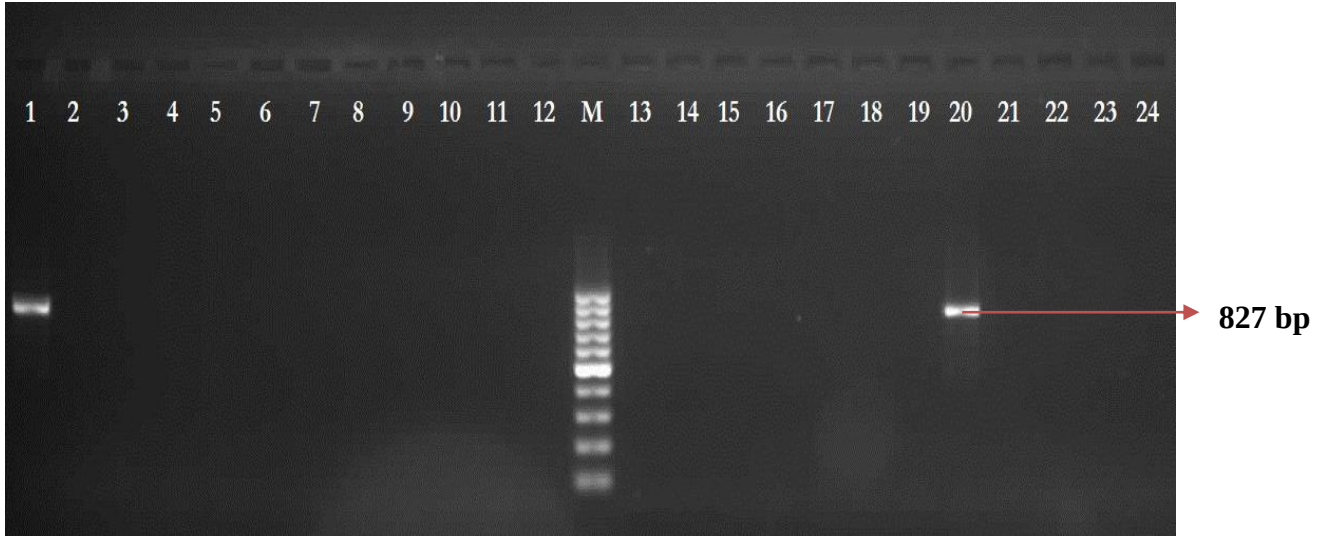


Şekil 4-6: TEM grubu PCR sonuçlarına örnekler

M: Marker, **1 ve 2:** TEM pozitif kontrol (858 bp), **3:** Negatif kontrol

Pozitif Örnekler: **4** (D-4), **6** (D-6), **7** (D-7), **8** (D-8), **9** (C-6)

Negatif Örnekler: **5** (D-5), **10** (D-57), **11** (D-62), **12** (D-64)

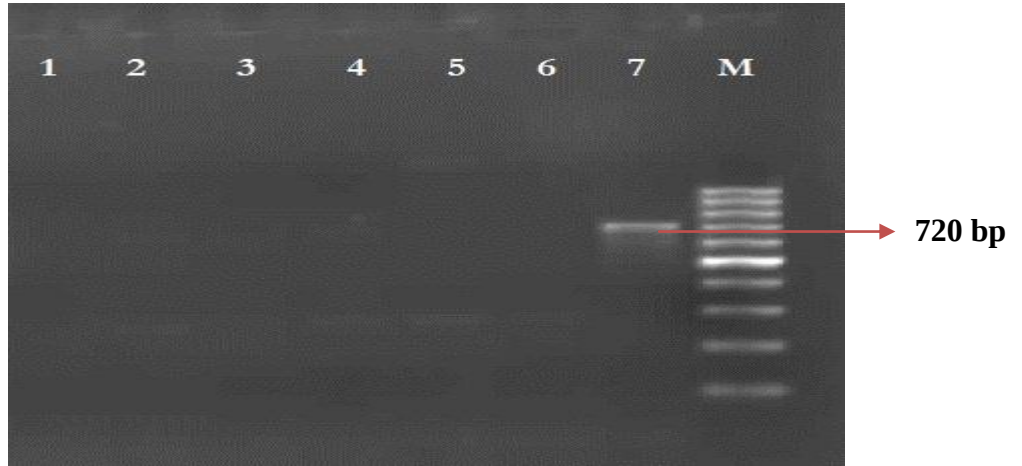


Şekil 4-7: SHV grubu PCR sonuçlarına örnekler

1: SHV pozitif kontrol (827 bp), **2 ve 3:** Negatif kontrol, **M:** Marker

Pozitif Örnekler: **20** (C-25)

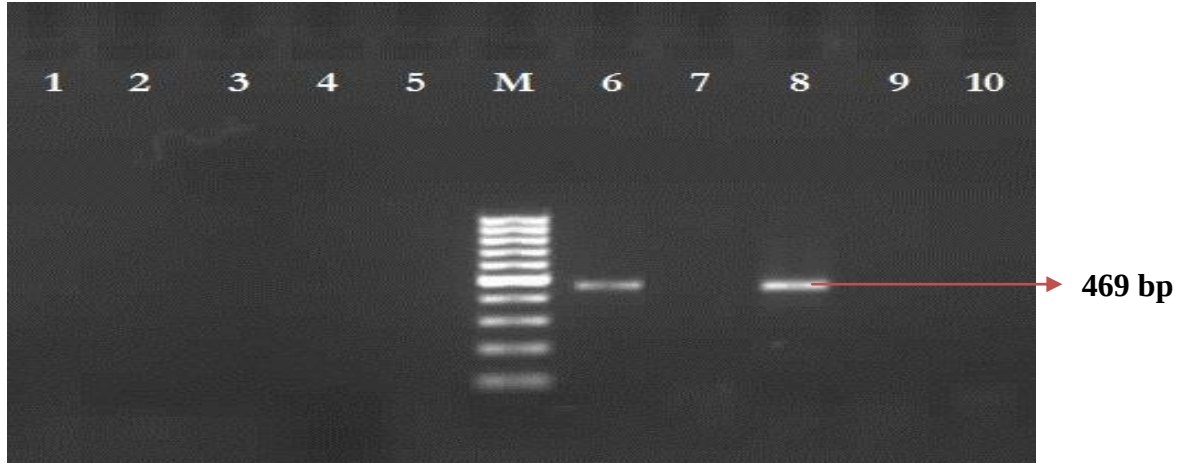
Negatif Örnekler: **4** (D-4), **5** (D-5), **6** (D-6), **7** (D-7), **8** (D-8), **9** (D-9), **10** (D-10), **11** (D-19), **12** (D-30), **13** (D-32), **14** (D-35), **15** (D-36), **16** (D-37), **17** (D-39), **18** (C-6), **19** (C-7), **21** (C-30), **22** (C-32), **23** (C-33), **24** (C-56)



Şekil 4-8: OXA-10 PCR sonuçlarına örnekler

6: Negatif kontrol, **7:** OXA-10 pozitif kontrol (722 bp), **M:** Marker

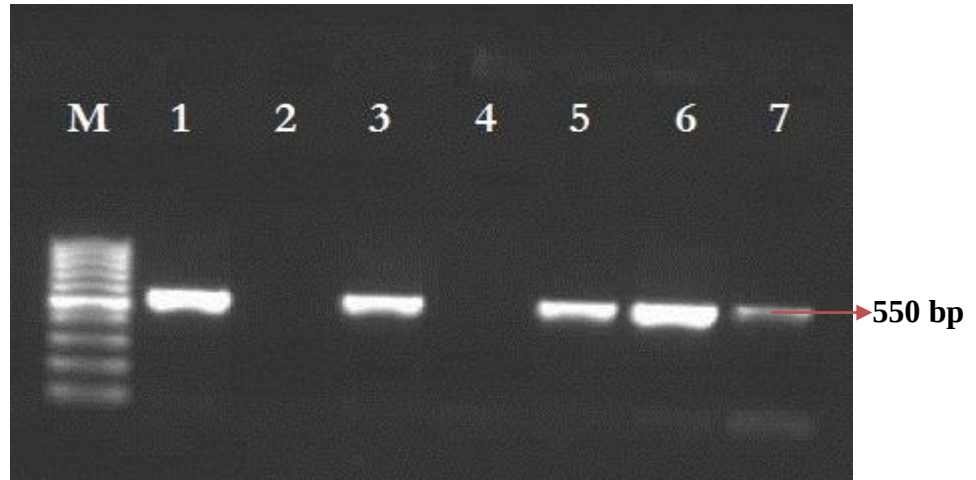
Negatif Örnekler: **1** (D-4), **2** (D-5), **3** (D-6), **4** (D-7), **5** (D-8)



Şekil 4-9: PER-2 PCR sonuçlarına örnekler

M: Marker, **6 ve 8:** PER-2 pozitif kontrol (469 bp), **7:** Negatif kontrol

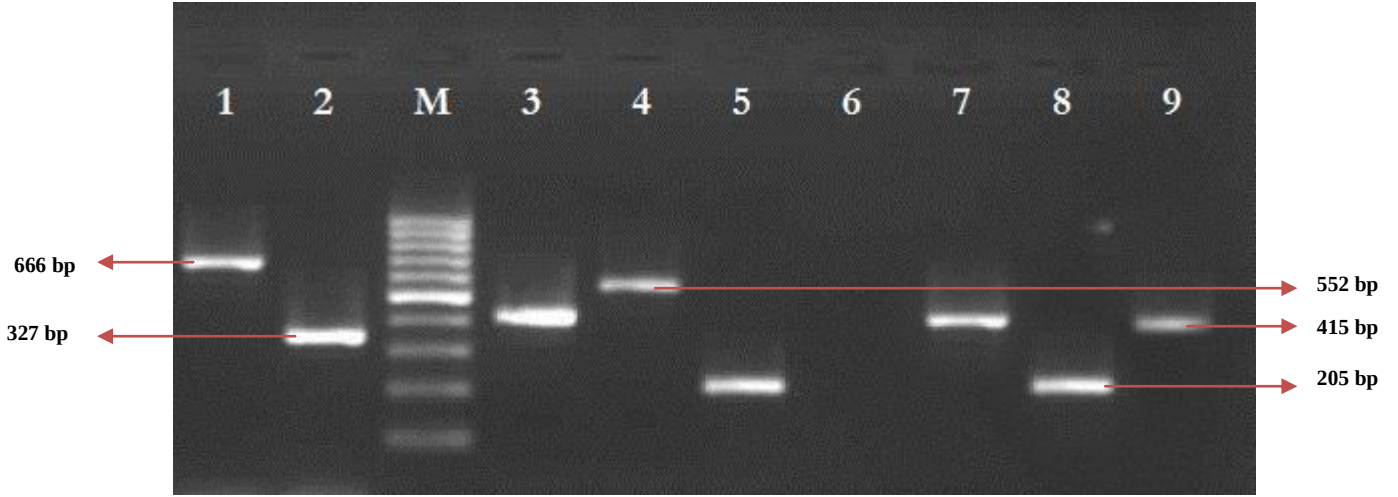
Negatif Örnekler: **1** (D-4), **2** (D-5), **3** (D-6), **4** (D-7), **5** (D-8), **9** (D-9), **10** (D-19)



Şekil 4-10: CTX-M grubu PCR sonuçlarına örnekler

M: Marker, **1 ve 3:** CTX-M pozitif kontrol (550 bp), **2 ve 4:** Negatif kontrol

Pozitif Örnekler: **5** (D-4), **6** (D-5), **7** (D-6)

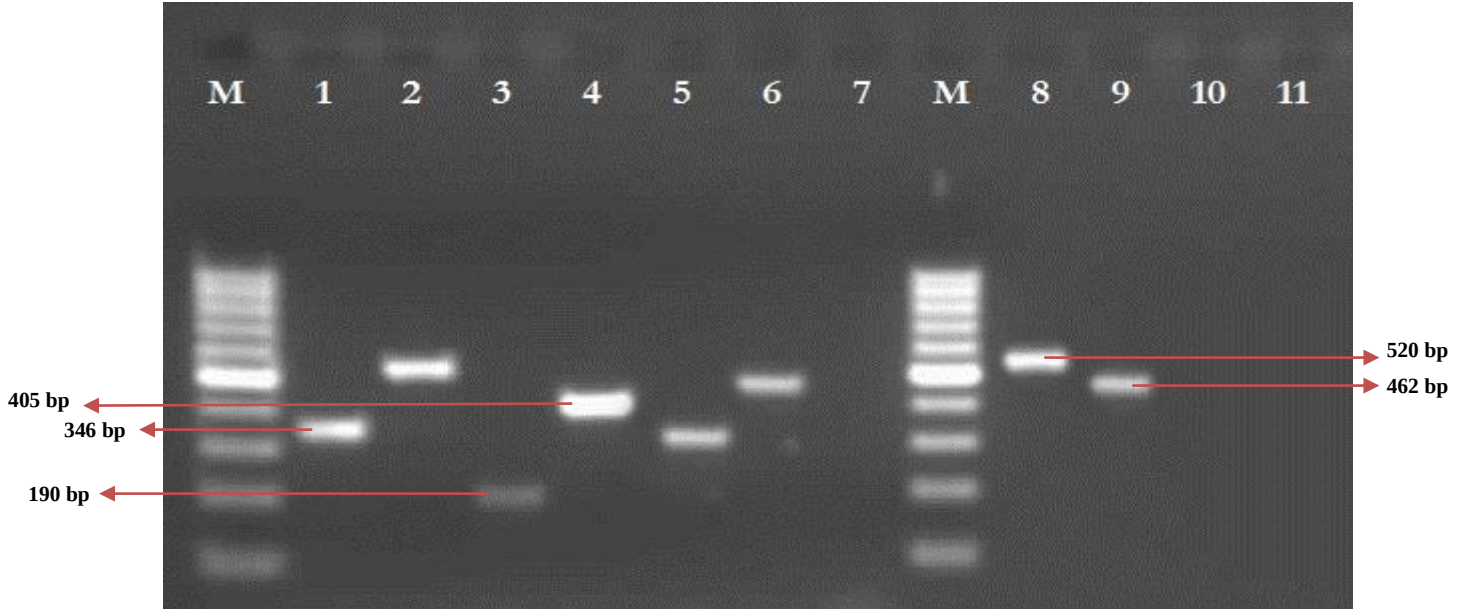


Şekil 4-11: CTX-M grupları multipleks PCR sonuçlarına örnekler

1: CTX-M Grup 8 pozitif kontrol (666 bp), **2:** CTX-M Grup 25 pozitif kontrol (327 bp), **M:** Marker, **3:** CTX-M Grup 1 pozitif kontrol (415 bp), **4:** CTX-M Grup 2 pozitif kontrol (552 bp), **5:** CTX-M Grup 9 pozitif kontrol (205 bp), **6:** Negatif kontrol

CTX-M Grup 1 pozitif örnekler: **7** (D-74), **9** (C-6)

CTX-M Grup 9 pozitif örnekler: **8** (C-7)



Şekil 4-12: AmpC grupları multipleks PCR sonuçlarına örnekler

M: Marker, **1:** ACC pozitif kontrol (346 bp), **2:** MOX pozitif kontrol (520 bp), **3:** FOX pozitif kontrol (190 bp), **4:** DHA pozitif kontrol (405 bp), **5:** EBC pozitif kontrol (302 bp), **6:** CIT pozitif kontrol (462 bp), **7:** Negatif kontrol

MOX pozitif örnekler: **8** (D-114)

CIT pozitif örnekler: **9** (D-175), **10** (D-177), **11** (D-182)

5. TARTIŞMA

Son yıllarda insan ve hayvanlarda GSBL ve AmpC üreten *E.coli* önem kazanmış, sağlıklı veya hasta bireylere ait çeşitli klinik örneklerden tanımlanmıştır. Etkenin insan (Zhanel ve ark. 2008), kedi, köpek (O’Keefe ve ark. 2010), at (Dierikx ve ark. 2012), sığır (Liebana ve ark. 2006), domuz (Brinas ve ark. 2003) ve kanatlı hayvanlardan (Costa ve ark. 2009) izolasyonu birçok ülkede bildirilmiştir.

Çeşitli ülkelerde GSBL üreten *E.coli*’nin sağlıklı köpek ve kedi dışkısında prevalansları sırasıyla; Portekiz’de köpeklerde %7,8, kedilerde %12,1 (Costa ve ark. 2008), Kanada’da köpeklerde ve kedilerde %0 (Murphy ve ark. 2009), Çin’de köpek ve kedilerde %25,4 (Sun ve ark. 2010), İngiltere’de köpeklerde %5 (Wedley ve ark. 2011), Japonya’da köpeklerde %5,9 (Harada ve ark. 2011), Kenya’da köpeklerde %21,8, kedilerde %4, (Albrechtova ve ark. 2012), İsviçre’de köpeklerde %2,9, kedilerde %2 (Gandolfi-Decristophoris ve ark. 2013), Hollanda’da köpeklerde %25, kedilerde %0 (Hordijk ve ark. 2013) ve Portekiz’de köpeklerde %15,2 (Belas ve ark. 2014) olarak saptanmıştır.

AmpC üreten *E.coli*’nin sağlıklı köpek ve kedi dışkısında prevalansları sırasıyla; Kanada’da köpeklerde %1,1, kedilerde %0 (Murphy ve ark. 2009), Portekiz’de köpeklerde ve kedilerde %0 (Costa ve ark. 2008), İngiltere’de köpeklerde %3,9 (Wedley ve ark. 2011), Portekiz’de köpeklerde %19,9 (Belas ve ark. 2014) ve Hollanda’da köpeklerde %20, kedilerde %0 (Hordijk ve ark. 2013) olarak bildirilmiştir.

Bu çalışmada GSBL üreten *E.coli* prevalansı genotipik belirlemelere göre köpeklerde %20,3 (n=39), kedilerde %8,3 (n=16); AmpC üreten *E.coli* prevalansı köpeklerde %3,7 (n=7), kedilerde %0,6 (n=1) olarak bulunmuştur. Sonuçlar karşılaştırıldığında prevalansın ülkeler arasında farklı değerlere sahip olduğu, bu değerlerin de yıllara bağlı olarak genellikle artış gösterdiği dikkati çekmektedir. Ancak yurdumuzda eşlikçi hayvanlarda bu konu ile ilgili çalışma olmaması nedeniyle elde edilen sonuçlarla ilgili bir yorum yapılamamış, son yıllarda yurtdışında elde edilen sonuçlarla değersel olarak uyum gösterdiği görülmüştür.

Sağlıklı ya da hasta köpek ve kedilere ait GSBL ve/veya AmpC üreten *E.coli* izolatlarında baskın β -laktamaz genleri ülkelere göre çeşitlilik göstermekte olup, CTX-

M Grup 1 (alt grup CTX-M-1)'in Portekiz, İtalya, Almanya, Şili, Tunus ve Hollanda'da (Costa ve ark. 2008; Carattoli ve ark. 2005; Schink ve ark. 2011; Moreno ve ark. 2008; Sallem ve ark. 2013; Hordijk ve ark. 2013); CTX-M Grup 1 (alt grup CTX-M-15)'in ABD, İngiltere, Almanya, Kenya ve Avustralya'da (O'Keefe ve ark. 2010; Timofte ve ark. 2011; Schink ve ark. 2011; Albrechtova ve ark. 2012; Platell ve ark. 2011); CTX-M Grup 9 (alt grup CTX-M-14)'un ABD, Çin ve Şili'de (O'Keefe ve ark. 2010; Sun ve ark. 2010; Moreno ve ark. 2008); TEM grubu enzimlerin Portekiz, İngiltere ve Tunus'ta (Costa ve ark. 2008; Wedley ve ark. 2011; Sallem ve ark. 2013); SHV grubu enzimlerin Portekiz, ABD, Çin ve Avustralya'da (Feria ve ark. 2002; O'Keefe ve ark. 2010; Harada ve ark. 2011; Gibson ve ark. 2010); OXA grubu enzimlerin Portekiz, İsviçre, Kenya ve Avustralya'da (Costa ve ark. 2008; Gandolfi-Decristophoris ve ark. 2013; Albrechtova ve ark. 2012; Gibson ve ark. 2010); PER grubu enzimlerin Şili'de (Moreno ve ark. 2008) daha sıklıkla izole edildiği bildirilmiştir.

AmpC'lerden CIT grubunda bulunan CMY-2'nin eşlikçi hayvanlarda en sık rastlanan gen olduğu ve Portekiz, ABD, İtalya, İngiltere, Kanada, Hollanda ve Avustralya'da izole edildiği bildirilmiştir (Belas ve ark. 2014; Carattoli ve ark. 2005; Wedley ve ark. 2011; Murphy ve ark. 2009; Hordijk ve ark. 2013; Gibson ve ark. 2010). Eşlikçi hayvan örnekleri ile yapılan çalışmalarda, *E.coli* suşlarında grup spesifik AmpC genleri araştırılmış, CIT grubu dışında, DHA grubu (alt grup DHA-1) enzimler belirlenmiş (Tamang ve ark. 2012; Belas ve ark. 2014), ancak MOX grubuna rastlanmamıştır (Pitout ve ark. 2003; Ma ve ark. 2009; Wedley ve ark. 2011; Tamang ve ark. 2012; Dierikx ve ark. 2012; Hordijk ve ark. 2013).

Eşlikçi hayvanların kommensal izolatlarında yaygın olan direnç genleri, kıtalar yönünden incelendiğinde; Avrupa Kıtası'nda CTX-M Grup 1'in (özellikle alt grup CTX-M-1 ve -15) en yaygın gen olduğu, bunu takip eden genin TEM grubu olduğu ve SHV grubu enzimlere ise daha az sıklıkla rastlanıldığı görülmektedir (Costa ve ark. 2004; Carattoli ve ark. 2005; Gandolfi-Decristophoris ve ark. 2013; Hordijk ve ark. 2013). Amerika Kıtası'nda CTX-M Grup 1 (alt grup CTX-M-15) sıklıkla belirlenirken, bunu CTX-M Grup 9 (sırasıyla alt grup CTX-M-14 ve -24) takip etmiştir (Shaheen ve ark. 2011; Moreno ve ark. 2008). Asya Kıtası'nda ağırlıklı olarak CTX-M Grup 9 enzimleri gözlemlenmiş (Lim ve ark. 2009; Ma ve ark. 2009) ve CTX-M Grup 1 (alt grup CTX-M-55 ve -64) ve Grup 9 (alt grup CTX-M-27 ve -65)'da bulunan farklı alt

grup enzimler de tanımlanmıştır (Sun ve ark. 2010). AmpC'lerden CMY-2, tüm kıtalarda sıklıkla saptanan gen olmuştur (Pomba ve ark. 2009; Ma ve ark. 2009).

Türkiye’de veteriner hekimlik alanında GSBL ve/veya AmpC üreten izolatlar ile ilgili olarak, mastitli inek sütleri (Dinç ve ark. 2012) ve sığırların rektum mukozasından alınan örneklerde (Aksoy ve ark. 2005) fenotipik olarak GSBL araştırılmış, fakat herhangi bir pozitifliğe rastlanmamıştır. Kahraman ve ark. (yayınlanmamış veri), Marmara Bölgesi’nde sağlıklı yumurtacı ve etçi tavukların dışkı ve et örneklerinde GSBL ve/veya AmpC üreten *E.coli* prevalansını dışkı örneklerinde %11,4; et örneklerinde %1,3 olarak saptamışlardır. Saptanan genlerin bulunma sıklıklarına göre sırasıyla; *bla*_{CTX-M} Grup 1, *bla*_{CIT}, *bla*_{TEM}, *bla*_{CTX-M} Grup 8 ve *bla*_{SHV} olduğunu belirlemişlerdir.

Türkiye’de insan izolatları ile ilgili GSBL çalışmalarında CTX-M Grup 1 (alt grup CTX-M-15)’in en yaygın enzim olduğu saptanmıştır (Zarakolu ve ark. 2007; Gülamber, 2009). Gonullu ve ark. (2008), Türkiye’de hastane kökenli *E.coli* suşlarının %86,8’inde CTX-M-15 enzimini belirlemişlerdir. Gür ve ark. (2008), HİTİT isimli çok merkezli sürveyans çalışmasında *E.coli*, *K.pneumoniae*, *P.aeruginosa* ve *A.baumannii* izolatlarında; CTX-M-15 (%69,4), TEM türevi (%49,4), SHV türevi (%46,7), CTX-M-3 (%28,6) ve CTX-M-1 (%2) enzimlerini saptamışlardır. Yapar (2007), çalışmasında *E.coli* izolatlarında CTX-M Grup 9 (alt grup CTX-M-14) enzimini tanımlamıştır. *E.coli* izolatlarında en yaygın AmpC’nin ise CIT grubu olduğu belirlenmiştir (Coşkun ve Altanlar, 2012b). Balıkçı (2007); Koldaş ve ark. (2011); Coşkun ve Altanlar (2012b) ve Yılmaz ve ark. (2013)’nın çalışmalarında, *E.coli* izolatlarında CIT grubundan başka, belirlenme sıklığına göre sırasıyla, EBC, FOX ve MOX gruplarına ait genler tespit etmişler ve *K.pneumoniae* izolatlarında da MOX grubu genini saptamışlardır. Türkiye dışındaki ülkelerde hayvanlarda ve insanlarda MOX grubu genlerinin yaygın olmadığı, Mısır’da 1 ve Hindistan’da 11 adet hastane kökenli *E.coli* izolatında saptandığı bildirilmiştir (Mohamudha ve ark. 2012; Wassef ve ark. 2014).

Bu çalışmada, GSBL genleri olarak köpek ve kedi izolatlarının %100’ünde *bla*_{CTX-M} geni belirlenmiştir. Köpek izolatlarının %100’ünün *bla*_{CTX-M} Grup 1 geni içerdiği, kedi izolatlarının ağırlıklı olarak *bla*_{CTX-M} Grup 1 ve daha az oranda *bla*_{CTX-M} Grup 9 geni içerdiği saptanmıştır. İkinci baskın genin, *bla*_{TEM} geni olduğu; bunu *bla*_{SHV} geninin takip ettiği belirlenmiştir. Bu sonuçlar insan ve hayvan popülasyonları

sonuçlarıyla karşılaştırıldığında, son yıllarda Avrupa ve Asya kıtalarında saptanan GSBL epidemiyolojisine uyum gösterdiği ve özellikle *bla*_{CTX-M} Grup 1'in en sık belirlenen gen olması yönüyle dünya çapındaki verilere uyumlu olduğu görülmüştür. Bazı kedi izolatlarında *bla*_{CTX-M} Grup 9 geninin belirlenmesi yönüyle Asya Kıtası'ndaki verilerle paralellik gösterdiği görülmüştür.

AmpC'lerden CIT grubunun bu çalışmada da baskın gen olması, bu genin dünya çapında yaygın olduğu görüşünü desteklemektedir.

Bu çalışmada köpek barınağında bulunan sahipli bir köpekten (D-114) izole edilen bir suşta *bla*_{MOX} geni belirlenmiştir. Önemli olan *bla*_{MOX} geninin hayvan veya eşlikçi hayvan izolatlarında şimdiye kadar hiç bildirilmemiş olmasıdır. Bu çalışma ile köpek *E.coli* izolatlarında *bla*_{MOX} geni ilk kez bildirilmiştir. Elde edilen sonuçların, *bla*_{MOX} genine sahip *E.coli* izolatlarının insan ve hayvan popülasyonları arasında yayıldığına bir göstergesi olabileceğini düşündürmüştür. Önceki çalışmalarda MOX geninin diğer Enterobacteriaceae üyelerinde varlığının belirlenmesi, bu genin bakteri türleri arasında da iletiminin gerçekleşebileceği ihtimalini göstermektedir. Ancak, araştırmacıların insan ve hayvanlarda AmpC genleri içinde daha yaygın görülen *bla*_{CMY-2} genini araştırmayı tercih etmeleri, konu ile ilgili elde edilen sonuçlara ait bilgi eksikliğinin oluşmasına neden olabileceği ihtimalini düşündürmüştür.

Bu çalışmada saptanan prevalansın ve enzim genlerinin aynı coğrafyadaki insan örneklerindeki durumu yansıttığı gözlemlenmiştir.

Özellikle Gram negatif bakterilerde çoğunlukla iki ya da daha fazla β -laktamaz direnç geninin bulunabileceği bildirilmiştir (Shahid ve ark. 2011). Bu çalışmada sonuçlar incelendiğinde β -laktamaz direnç genlerinin 2 ya da 3'lü gruplar halinde birlikte bulunduğu belirlenmiştir.

Önceki çalışmalarda bazı suşların fenotipik AmpC pozitif fakat genotipik AmpC negatif olarak görüldüğü durumlarda, bu suşların araştırılmayan diğer AmpC genlerini içerebileceği ya da kromozomal AmpC β -laktamazın aşırı ekspresyonu ile ilişkili olarak promotör/attenüasyon bölgelerinde meydana gelen mutasyon sonucu oluşan farklı bir direnç mekanizmasını içerebileceği bildirilmiştir (Reich ve ark. 2013; Murphy ve ark. 2009). Bu çalışmada, 1 köpek ve 1 kedi (D-177 ve C-113) izolatu AmpC fenotipi göstermesine rağmen AmpC'ye ait herhangi bir gen tespiti mümkün olmamıştır. Ayrıca

bu izolatlarda CTX-M Grup 1'e ait GSBL geni bulunmuştur. Bu suşların daha detaylı araştırılması gerektiği sonucuna varılmıştır.

GSBL ve AmpC üretimi birlikte olan izolatların fenotipik incelemelerinde, özellikle sefepim ile yapılan AmpC tarama testlerinde, AmpC varlığının gözden kaçabildiği (Doi ve Paterson, 2007); sefepimin AmpC'lerin yüksek ekspresyonu durumunda belirleyici olduğu bildirilmiştir (EUCAST, 2013). Ayrıca AmpC'lerin fenotipik belirlemelerinde kullanılan antimikrobiyal duyarlılık testlerinin uygulanmasında ve sonuçların değerlendirilmesinde CLSI veya EUCAST gibi standartlar tarafından onaylanan bir kriter oluşturulamamıştır.

Bu çalışmada, fenotipik GSBL pozitif, fenotipik AmpC tanımlama testi negatif 4 köpek izolatında (D-32, D-35, D-114 ve D-175), GSBL genlerine ek olarak, *bla_{CIT}* ve *bla_{MOX}*'a ait AmpC genlerinin bulunması, bu görüşü desteklemektedir. AmpC β-laktamaz üreten etkenlerin fenotipik belirlemelerine dair standart geliştirilmesinin önemli olduğu sonucuna varılmıştır. Elde edilen sonuçlara bağlı olarak, sadece fenotipik AmpC tanımlama testine dayalı AmpC yorumlamasının yeterli olmadığı, mutlaka genotipik yöntemlerin de uygulanması gerektiği sonucuna varılmıştır.

Yukarıda verilen bilgilerin dışında tam tersi bir durumun da söz konusu olduğu, GSBL ve AmpC genlerinin ikisini içeren izolatlarda, AmpC enzimlerinin, GSBL doğrulama testinde kullanılan klavulanik asitin etkisini maskeleyebilme özelliğinin var olduğu, bu nedenle GSBL prevalansının olduğundan daha az görünme ihtimalinin olduğu bildirilmiştir (O'Keefe ve ark. 2010). Ayrıca yüksek seviyede AmpC β-laktamaz üreten organizmaların, genellikle GSBL tarama testi pozitif, fakat doğrulama testlerinde klavulanik asite olan etkilerinden dolayı şüpheli ya da yanlış negatif sonuçlar verdiği bildirilmiştir (Jacoby, 2009; EUCAST, 2013).

Bu çalışmada, fenotipik GSBL sonucu negatif, AmpC tanımlama testi pozitif köpek izolatında (D-180), *bla_{CIT}*'in yanı sıra, *bla_{CTX-M}* Grup 1 geni bulunmuştur. Bu sonuçlar, GSBL tanısında genotipik yöntemlerin önemini göstermektedir.

Avrupa'da antimikrobik duyarlılık testlerinde günümüzde kullanılan yöntem EUCAST standartlarıdır. İlk olarak 1997 yılında oluşturulmuş, 2002 ve 2011 yıllarında revizyondan geçirilmiş olup Avrupa ülkelerinde kullanılmaktadır. Ülkemizde de beşeri hekimlikte antimikrobik duyarlılık testlerinde EUCAST standartlarına geçilmesi kararı

alınmış, 2014 yılı itibariyle geçiş süreci başlatılmış ve 2015 Ocak'tan itibaren EUCAST standartları kullanıma geçmiştir. EUCAST'ın Enterobacteriaceae üyelerinde disk difüzyon yöntemi ile GSBL tarama testinde önerilen yöntemde, birinci seçenekte; sefotaksim (5 µg) ya da seftriakson (30 µg) ve seftazidim (10 µg) disklerinde sırasıyla <21 mm, <23 mm ve <22 mm çaplarında inhibisyon zonları oluşması kriterdir. İkinci seçenekte; tek başına sefpodoksim (10 µg) diskinde <21 mm çapında inhibisyon zonu oluşması (CLSI'da bu değer ≤ 17 mm'dir), ilgili izolatın GSBL tarama testi pozitifliğini göstermektedir. EUCAST'ın önerdiği kombinasyon disk diffüzyon yöntemi kullanılarak yapılan GSBL doğrulama testi ise; CLSI'nın önerdiği doğrulama yöntemi ile birebir uyumaktadır (EUCAST, 2013; CLSI, 2013).

Bu çalışmada yöntemde EUCAST standardı kullanılsaydı, tarama testinde elde edilen toplam 102 pozitif izolata ilave olarak 34 izolatın da pozitif kabul edilmesi ve doğrulama testi uygulanması gerektiği görülmüştür. Sonuç olarak, EUCAST standardına göre verilen tarama değerlerine göre prevalansın daha yüksek çıkma olasılığının olduğu düşünülmüştür.

Hordijk ve ark. (2013), antibiyotik katkılı seçici besiyeri kullanımının prevalans çalışmalarında prevalansı azaltabileceğinden bahsetmiş, Damborg ve ark. (2009) dışkı örneklerinde az yoğunlukta bulunabilecek izolatların tespiti için direkt ekim metodunu önermişlerdir. Buna karşılık Costa ve ark. (2008) dışkı örneklerinden, Nebbia ve ark. (2014) idrar örneklerinden yaptıkları çalışmalarda antibiyotik katkısız besiyeri kullanmayı tercih etmişlerdir.

Bu çalışmada, seçici besiyerine antibiyotik olarak sefotaksim ilave edilmiş ve sefotaksime azalan duyarlılık ön plana alınmıştır. Antibiyotik katkılı besiyeri kullanımı, örnek çeşidinin dışkı olmasının getireceği dezavantajları nedeniyle tercih edilmiştir.

Dışkı örneklerinden yapılan ekimler sonucu GSBL ve/veya AmpC üreten *E.coli* şüpheli koloni seçiminde farklı görüşler belirtilmiştir; Hordijk ve ark. (2013), her örnekten 5 koloni saflaştırarak incelemelere alırken, Costa ve ark. (2008) ve Harada ve ark. (2011) örnek başına 2 koloniye incelemeye almıştır. Albrechtova ve ark. (2012), Gandolfi-Decristophoris ve ark. (2013) ve Belas ve ark. (2014) örnek başına bir koloniden fenotipik ve genotipik incelemeler gerçekleştirmişlerdir. Bu çalışmada, sefotaksim katkılı besiyerinde üreyen bir koloni fenotipik ve genotipik incelemelere alınmıştır. Bu yöntemle baskın suşların incelenmesi hedef alınmıştır. Aynı besiyeri

üzerinde birden fazla koloninin izolasyonunun, baskın suş haricinde daha az yoğunlukta bulunan β -laktamaz tiplerini içeren suşların inceleme şansını doğurabileceği düşünüldüyse de, örnek sayısının çokluğu nedeniyle yapılamamıştır. Ancak bu durumun prevalansı etkileyebileceği düşünülmüştür.

Sağlıklı köpeklerde GSBL ve/veya AmpC üreten *E.coli* suşlarının fekal kolonizasyonunda antibiyotik kullanılma geçmişinin bir risk faktörü olmasına yönelik araştırmalar mevcuttur (Lefebvre ve ark. 2009; Damborg ve ark. 2011; Gandolfi-Decristophoris ve ark. 2013; Belas ve ark. 2014). Lefebvre ve ark. (2009), son 2 ay içinde antibiyotik kullanılan sağlıklı köpeklerde AmpC üreten fekal *E.coli* (*bla*_{CMY-2} geni taşıyan) izolatlarının oranını %18,6 bulmuş ve antibiyotik kullanımının risk faktörü olduğunun üzerinde durmuştur. Damborg ve ark. (2011), piyoderma bulunan köpeklerde oral sefalekslin kullanımının AmpC üreten *E.coli* (*bla*_{CMY-2} geni taşıyan)'nin fekal kolonizasyona olan etkisini araştırmış ve %62 oranını bulmuşlardır. Gandolfi-Decristophoris ve ark. (2013), son 3 ay içinde antibiyotik kullanılmış sağlıklı köpeklerde fekal GSBL üreten *E.coli* izolatlarının oranını %8, antibiyotik kullanılmamış sağlıklı köpeklerde %1,3 oranını bularak, antibiyotik kullanımının fekal kolonizasyonda anlamlı olduğunu belirtmişlerdir. Belas ve ark. (2014), bir yıllık süre içinde antibiyotik kullanılan sağlıklı köpeklerde fekal GSBL ve/veya AmpC üreten *E.coli* oranını ($p=0,001$) antibiyotik kullanılmayan hayvanlara göre daha yüksek bulmuşlardır.

Bu çalışmada, geçmişinde antibiyotik uygulanmasının GSBL ve/veya AmpC üreten *E.coli*'nin köpek ve kedilerde fekal kolonizasyonuna etkisi istatistiksel olarak önemsiz bulunmuştur. Bu konu ile ilgili diğer çalışmalarla uyumsuz olmasında en önemli nedenin örnek alınan köpeklerin %62,5'inin ve kedilerin %50'sinin geçmişlerine ait antibiyotik uygulanma bilgilerinin elde edilememesi olduğu düşünülmüştür.

Araştırmacılar köpek barınağı, çiftliği ve pansiyonları gibi birçok evcil hayvanın bir arada bulunduğu ortamlarda bulunan ya da sokak hayvanlarında direnç geni taşıyan izolatların hayvanlara veya insanlara bulaşmasının ve çevreye yayılımının mümkün olduğunu vurgulamışlardır (Belas ve ark. 2014; Harada ve ark. 2011; Tamang ve ark. 2012).

Bu çalışmada, aynı ortamı paylaşan ve birbirleri ile temas halinde olan hayvanları içeren özel iki köpek barınağından biri olan Altınşehir I'de, 49 köpek ve 3 kediden alınan örneklerde %32,7 oranında GSBL (Köpek, $n=15$; kedi, $n=2$) ve %3,9

oranında AmpC üreten *E.coli* izolatu (Köpek, n=2) fenotipik ve/veya genotipik olarak saptanmış ve direnç genleri belirlenmiştir. Kumburgaz I'de bulunan köpek barınağında 47 köpekten alınan örneklerde, %10,7 oranında GSBL (n=5) ve %2,1 oranında AmpC üreten *E.coli* izolatına (n=1) rastlanmıştır. Diğer sahipli hayvanların sokakta dolaştırılma zamanları haricinde başka hayvanlarla temaslarının olmadığı bilinmektedir. Altınşehir I ve Kumburgaz I köpek barınaklarında bulunan köpeklerde saptanan direnç genlerinin ortak ve yaygın olduğu görülmüştür. Altınşehir I'de bulunan sahipsiz 3 kedinin ikisinde de aynı direnç genlerine sahip *E.coli* izolatı taşıdıkları saptanmıştır. Bütün bu veriler, toplumdan kazanılan suşlarda antibiyotik direnci probleminin artışında, birlikte yaşayan veya birbirleriyle temas halinde olan hayvanların önemli bir rolü olabileceğinin göstergesidir. Bunun dışında genelde yaşam yerleri belli sınırlar içinde olsa da, sahipli köpeklerde ve insanlarda GSBL yönünden baskın olarak aynı genin (CTX-M Grup 1) görülmesi, toplumda bu genlerin yayıldığına bir göstergesi olduğunu düşündürmüştür.

GSBL ve/veya AmpC üreten *E.coli* izolatlarının fekal kolonizasyonu ile cinsiyet arasındaki ilişki, insanlarda hayvanlara göre daha fazla oranda araştırılmıştır. İnsanlarda; erkek cinsiyetinin kolonizasyonda önemli olduğunu (Rodriguez-Bano ve ark. 2004; Arslan ve ark. 2005; Ben-Ami ve ark. 2009), dişi cinsiyetinin önemli olduğunu (Pitout ve ark. 2004b; Friedmann ve ark. 2009) ve cinsiyetin önemsiz olduğunu (Azap ve ark. 2007) bildiren çalışmalar mevcuttur. Hayvanlarda yapılan tek çalışma Belas ve ark. (2014) tarafından yapılmıştır. Belas ve ark. (2014), dişi köpeklerin erkek köpeklerden daha fazla AmpC üreten *E.coli* taşıma riski bulundurduğunu belirtmiştir. Bu riskin arkasındaki nedenin bazı bakteriyel infeksiyonların (örneğin alt üriner sistem infeksiyonu, piyometra gibi) dişilerde daha yüksek insidansa sahip olması şeklinde açıklanmıştır.

Bu çalışmada, GSBL ve/veya AmpC üreten *E.coli* izolatlarının fekal kolonizasyonu ile cinsiyet arasındaki ilişki anlamlı bulunmamıştır. Sağlıklı hayvan örnekleri yapılacak bir yorumun yeterli olmadığı düşünülmüştür.

GSBL ve/veya AmpC üreten *E.coli* izolatlarının fekal kolonizasyonu ile köpek ve kedi türleri arasındaki ilişki incelendiğinde, aynı bölgeye veya ülkeye ait köpek ve kedilerin birlikte araştırıldığı çalışmalarda, köpeklerde daha fazla kolonizasyonun gerçekleştiği görülmektedir (Carattoli ve ark. 2005; Costa ve ark. 2008; Albrechtova ve

ark. 2012; Schmiedel ve ark. 2014). İki tür arasında farklı yem arama davranışları ve köpeklerin kedilerden daha fazla kaprofajiye yatkın olmaları gibi nedenlerin etkileyebileceği belirtilmiştir (Albrechtova ve ark. 2012).

Bu çalışmada elde edilen sonuçlara göre, hayvan türlerinin GSBL ve/veya AmpC üreten *E.coli* kolonizasyonu ile ilişkisi istatistiksel olarak incelendiğinde, köpeklerin ilişkisi önemli ($p<0,001$), kedilerin ise önemsiz bulunmuştur. Bu durumun, köpeklerin özellikle koku alma duyularını kullanarak çevreleri ile daha fazla ilişkide olmaları ve dış ortama daha fazla bağımlı olmaları gibi kedilerden farklı alışkanlıklara sahip olmasından kaynaklandığı sonucuna varılmıştır. Köpeklerin dış ortamlarda kendilerine ait belirledikleri bölgeleri işaretleme amacıyla idrarıyla iz bırakma, bırakılan izleri takip etme, ayrıca tanışma, iletişim kurma amacıyla genital bölgenin koklaması gibi alışkanlıklarının bu sonucu etkilediği düşünülmüştür. Ayrıca toplumumuzda, evde beslenen hayvanların tuvalet ihtiyaçlarını karşılamak amacıyla gezdirilmeleri sırasında hayvan sahiplerinin hayvanlarına ait dışkılarını toplama alışkanlıklarının yeterli olmaması, yayılımın bu hayvan türünde baskın olabileceği ihtimalini de bulundurmaktadır. Bununla birlikte, yurdumuzda sokak hayvanlarının oldukça yaygın bulunmasının, bu yayılımı hızlandırabileceği de düşünülmüştür.

Sonuç olarak, bu çalışmada İstanbul'da sağlıklı köpek ve kedi dışkı örneklerinde GSBL ve/veya AmpC β -laktamaz üreten *E.coli* varlığı ilk defa ortaya konmuştur. Prevalansla ilgili ülkeler arasında farklı sonuçlar alınmasının, ülkelerin antibiyotik kullanım politikalarına, çalışmalarda kullanılan yöntem farklılıklarına, insan ile hayvan topluluklarında antibiyotik reçetelendirme alışkanlıklarının farklı olmasına ve kontrolsüz antibiyotik kullanımına bağlı olabileceği düşünülmüştür. Köpek ve kediler, GSBL ve/veya AmpC üreten *E.coli*'nin fekal taşıyıcılığı ile ilgili karşılaştırıldığında köpeklerin daha fazla risk taşıdığı belirlenmiştir. β -laktamaz enzimlerinin plazmid ve diğer genetik elemanlar aracılığı ile türler arasında yayılımı mümkün olduğundan, potansiyel risk faktörleri göz önüne alınarak etkili kontrol önlemleri ve akılcı antibiyotik tedavisi uygulamaları ile direnç gelişimi ve yayılımının sınırlandırılmasına yönelik çözüm önerilerinin geliştirilmesi gerektiği sonucuna varılmıştır.

Daha fazla çalışma ile antibiyotik direnci gelişimine ilişkin risk faktörlerinin değerlendirmesine, β -laktam direnç genlerinin ve mekanizmalarının transfer edilebilirliği hakkında ilişki kurulmasına ve ülkemizde beşeri hekimlikte uygulanan

sürvey çalışmalarının benzer şekilde veteriner hekimlik alanında da yapılmasına ihtiyaç vardır. Özellikle sağlıklı hayvanların antibiyotik direnci ile ilişkili genlerin yayılımında katkı sağlayacağı unutulmamalıdır.

β -laktamaz direnci ile ilgili halen bilinmeyen birçok nokta mevcuttur. Konu ile ilgili araştırmaların ülkemizde de veteriner hekimlik alanında sürdürülmesinin, toplum kaynaklı bulaşmalarda hayvanlara ait risk faktörlerinin ortaya konmasının, bir arada bulunan insan ve hayvanlar arasında direnç genleri iletiminin araştırılmasının önemli olduğu sonucuna varılmıştır.

KAYNAKLAR

Acar J.F., Moulin G., Page S.W., Pastoret P.P. (2012). Antimicrobial resistance in animal and public health: introduction and classification of antimicrobial agents. *Rev Sci Tech.* **31(1)**,15-21.

Akıncı E., Karahan M., Karabiber N., Kılıç H. (2000). Hastanede yatan hastalardan ve poliklinik hastalarından izole edilen *K.pneumoniae*, *E.coli* ve *Enterobacter* suşlarında GSBL araştırılması ve çeşitli antibiyotiklere duyarlılıklarının belirlenmesi. *ANKEM Derg.* **14**, 65.

Aksoy A., Göçmen J.S, Kaçmaz B., Canver S. (2005). İnsan ve sığırlardan izole edilen fekal *Escherichia coli* suşlarında antibiyotik direnci ve genişlemiş spektrumlu beta-laktamaz üretimi. *ANKEM Derg.* **19(3)**, 130-4.

Albrechtova K., Dolejska M., Cizek A., Tausova D., Klimes J., Bebor L., Literak I. (2012). Dogs of nomadic pastoralists in northern Kenya are reservoirs of plasmid-mediated cephalosporin-and quinolone-resistant *Escherichia coli*, including pandemic clone B2-O25-ST131. *Antimicrob Agents Chemother.* **56(7)**, 4013-7.

Antignac A., Kriz P., Tzanakaki G., Alanso J.M., Taha M.K. (2001). Polimorphism of *Neisseria meningitidis penA* gene associated with reduced susceptibility to penicilin. *J Antimicrob Chemother.* **47(3)**, 285-96.

Arlet G., Bami G., Decre D., Flippo A., Gaillot O., Lagrange P.H., Philippon A. (1995). Molecular characterisation by PCR-restriction fragment length polymorphism of TEM β -lactamases. *FEMS Microbiol Lett.* **134(2-3)**, 203-8.

Arlet G., Rouvea M., Casin I., Bouvet P.J., Lagrange P.H., Philippon A. (1994). Molecular epidemiology of *Klebsiella pneumoniae* strains that produce SHV-4 β -lactamase and which were isolated in 14 French hospitals. *J Clin Microbiol.* **32**, 2553-8.

Arpin C., Dubois V., Coulange L., Andre C., Fischer I., Noury P. ve ark. (2003). Extended-spectrum β -lactamase-producing *Enterobacteriaceae* in community and private health care centers. *Antimicrob Agents Chemother.* **47(11)**, 3506-14.

Arslan H., Azap O.K., Ergönül O., Timurkaynak F. Risk factors for ciprofloxacin resistance among *Escherichia coli* strains isolated from community-acquired urinary tract infections in Turkey. *J Antimicrob Chemother.* **56(5)**, 914-8.

Azap O.K., Arslan H., Serefhanoglu K., Colakoglu S., Erdogan H., Timurkaynak F., Senger S.S. (2010). Risk factors for extended-spectrum β -lactamase positivity in uropathogenic *Escherichia coli* isolated from community-acquired urinary tract infections. *Clin Microbiol Infect*, **16(2)**, 147-51.

Azap Ö.K., Timurkaynak F., Yapar G., Çağır Ü., Arslan H. (2006). Genişlemiş spektrumlu beta-laktamaz salgılayan ve salgılamayan *Escherichia coli*, *Klebsiella* suşlarında ko-trimoksazol, sefepim ve karbapenem duyarlılıkları. *Hastane İnfeksiyon Derg.* **10(3)**, 191-5.

Azap Ö.K., Arslan H., Karaman S.Ö., Togan T. (2007). Risk Factors for Fecal Carriage of Extended-Spectrum Beta-Lactamase Producing *Escherichia coli* and *Klebsiella* spp. in the Community. *Turk J Med Sci.* **37(1)**, 31-8.

Balıkçı A. (2007). *Escherichia coli* ve *Klebsiella cinsi* bakterilerde plazmidik AmpC tipi beta laktamaz direnci. Tıpta Uzmanlık Tezi, İstanbul Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü.

Batchelor M., Hopkins K.L., Threlfall E.J., Clifton-Hadley F.A., Stallwood A.D., Davies R.H., Liebana E. (2005). Characterization of AmpC-mediated resistance in clinical *Salmonella* isolates recovered from humans during the period 1992 to 2003 in England and Wales. *J Clin Microbiol.* **43(5)**, 2261-5.

Bauernfeind A., Chong Y., Schweighart S. (1989). Extended broad spectrum β -lactamase in *Klebsiella pneumoniae* including resistance to cephamycins. *Infection.* **17(5)**, 316-21.

Bauernfeind A., Grimm H., Schweighart S. (1990). A new plasmidic cefotaximase in a clinical isolate of *Escherichia coli*. *Infection.* **18(5)**, 294-8.

Bauernfeind A., Stemplinger I., Jungwirth R., Mangold P., Amann S., Akalin E. ve ark. (1996). Characterization of β -Lactamase gene *bla_{PER-2}*, Which Encodes an Extended-Spectrum Class A β -Lactamase. *Antimicrob Agents Chemother.* **40**, 616-20.

Belas A., Salazar A.S., Gama L.T., Couto N., Pomba C. (2014). Risk factors for faecal colonisation with *Escherichia coli* producing extended-spectrum and plasmid-mediated AmpC β -lactamases in dogs. *Vet Rec.* **175(8)**, 202.

Ben-Ami R., Rodriguez-Bano J., Arslan H., Pitout J.D., Quentin C., Calbo E.S. ve ark. (2009). A multinational survey of risk factors for infection with extended-spectrum β -lactamase-producing enterobacteriaceae in nonhospitalized patients. *Clin Infect Dis.* **49(5)**, 682-90.

Bilgi E.A., Gönüllü N., Küçükbaşmacı Ö., Altınkum S., Torun M.M., Kiraz N., (2013). Çocuklarda Üst ve Alt Solunum Yolu Enfeksiyonlarından İzole Edilen Mikroorganizmaların Antibiyotik Direnci. *JAREM.* **3**, 103-7.

Bonnet R. (2004). Growing Group of Extended-Spectrum β -Lactamases: the CTX-M Enzymes. *Antimicrob Agents Chemother.* **48(1)**, 1-14.

Bonomo R.A., Rice L.B. (1999). Inhibitor resistant class A beta-lactamases. *Front Biosci.* **4**, 34-41.

Bradford P.A. (2001). Extended spectrum β -lactamases in the 21st century: Characterization, epidemiology and detection of this important resistance threat. *Clin Microbiol Rev.* **14(4)**, 933-51.

Brinas L., Lantero M., de Diego I., Alvarez M., Zarazaga M., Torres C. (2005). Mechanisms of resistance to extended-spectrum cephalosporins in *Escherichia coli* isolates recovered in a Spanish hospital. *J Antimicrob Chemother.* **56(6)**, 1107-10.

Brinas L., Moreno M.A., Teshager T., Saenz Y., Porrero M.C, Dominguez L., Torres C. (2003). Monitoring and characterization of extended-spectrum β -lactamases in *Escherichia coli* strains from healthy and sick animals in Spain in 2003. *Antimicrob Agents Chemother.* **49(3)**, 1262-4.

Bush K., Jacoby G.A. (2010). Updated functional classification of β -lactamases. *Antimicrob Agents Chemother.* **54(3)**, 969-76.

Bush K., Jacoby G.A., Medeiros A.A. (1995). A functional classification scheme for β -lactamases and its correlation with molecular structure. *Antimicrob Agents Chemother.* **39(6)**, 1211-33.

Bülüç M., Gürol Y., Bal Ç. (2003). Genişlemiş spektrumlu beta-laktamaz oranları: 2000-2002. *Türk Mikrobiyol Cem Derg.* **33**, 31-4.

Büyükbaba Ö., Aydın D., Anğ Ö. (1996). İdrar yolu infeksiyonu etkeni Gram negatif çomaklarda genişlemiş spektrnmlu β -laktamazların çift disk sinerji yöntemi ile belirlenmesi. *Klinik Derg.* **9(1)**, 8127-30.

Carattoli A., Bertini A., Villa L., Falbo V., Hopkins K.L., Threlfall E.J. (2005). Identification of plasmids by PCR-based replicon typing. *J Microbiol Methods.* **63(3)**, 219-28.

Carattoli A., García-Fernández A., Varesi P., Fortini D., Gerardi S., Penni A. ve ark. (2008). Molecular epidemiology of *Escherichia coli* producing extended-spectrum β -lactamases isolated in Rome, Italy. *J Clin Microbiol.* **46(1)**, 103-8.

Cavaco L.M., Abatih E., Aarestrup F.M., Guardabassi L. (2008). Selection and persistence of CTX-M producing *Escherichia coli* in the intestinal flora of pigs treated with amoxicillin, ceftiofur, or cefquinome. *Antimicrob Agents Chemother.* **52**, 3612-6.

Chanawong A., M'Zali F.H., Heritage J., Lulitanond A., Hawkey P.M. (2000). Characterisation of extended-spectrum β -lactamases of the SHV family using a combination of PCR-single strand conformational polymorphism (PCR-SSCP) and PCR-restriction fragment length polymorphism (PCR-RFLP). *FEMS Microbiol Lett.* **184(1)**, 85-9.

Chee-Sanford J.C., Aminov R.I. (2001). Occurrence and diversity of tetracycline resistance genes in lagoons and groundwater underlying two swine production facilities. *Appl Environ Microbiol.* **67(4)**, 1494-502.

Chmelnitsky I., Carmeli Y., Leavitt A., Schwaber M.J., Navon-Venezia S. (2005). CTX-M-2 and a new CTX-M-39 enzyme are the major extended-spectrum beta-lactamases in multiple *Escherichia coli* clones isolates in Tel Aviv, Israel. *Antimicrob Agents Chemother.* **49(11)**, 4745-50.

Cloekaert A., Praud K., Doublet B., Bertini A., Carattoli A., Butaye P. ve ark. (2007). Dissemination of an extended-spectrum- β -lactamase *bla*_{TEM-52} gene-carrying IncI1 plasmid in various *Salmonella enterica* serovars isolated from poultry and humans in Belgium and France. *Antimicrob Agents Chemother.* **51(5)**, 1872-5.

CLSI (Clinical and Laboratory Standards Institute). (2013). M100-S23—Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing; twenty-third informational supplement. CLSI, Wayne, Pennsylvania.

Costa D., Poeta P., Brinas L., Saenz Y., Rodrigues J., Torres C. (2004). Detection of CTX-M-1 and TEM-52 β -lactamases in *Escherichia coli* strain from healthy pets in Portugal. *J Antimicrob Chemother.* **54(5)**, 960-1.

Costa D., Poeta P., Saenz Y., Coelho A.C., Matos M., Vinue L., Rodrigues J., Torres C. (2008). Prevalence of antimicrobial resistance and resistance genes in faecal *Escherichia coli* isolates recovered from healthy pets. *Vet Microbiol.* **127(1-2)**, 97-105.

Costa D., Poeta P., Saenz Y., Vinué L., Rojo-Bezares B., Jouini A. ve ark. (2006). Detection of *Escherichia coli* harbouring extended spectrum β -lactamases of the CTX-M, TEM and SHV classes in faecal samples of wild animals in Portugal. *J Antimicrob Chemother.* **58(6)**, 1311-2.

Costa D., Vinue L., Poeta P., Coelho A.C., Matos M., Saenz Y. ve ark. (2009). Prevalence of extended-spectrum beta-lactamase producing *Escherichia coli* isolates in faecal samples of broilers. *Vet Microbiol.* **138(3-4)**, 339-44.

Coşkun S., Altanlar N. (2012a). AmpC β -laktamazlar. *ANKEM Derg.* **26**, 203-14

Coşkun S., Altanlar N. (2012b). Sefoksitine dirençli *Escherichia coli* ve *Klebsiella pneumoniae* klinik izolatlarında plazmid aracılı AmpC beta-laktamaz tespiti. *Mikrobiyol Bul.* **46(3)**, 375-85.

Damborg P., Gaustad I.B., Olsen J.E., Guardabassi L. (2011). Selection of CMY-2 producing *Escherichia coli* in the faecal flora of dogs treated with cephalexin. *Vet Microbiol.* **151(3-4)**, 404-8.

Damborg P., Nielsen S.S., Guardabassi L. (2009). *Escherichia coli* shedding patterns in humans and dogs: insights into within-household transmission of phylotypes associated with urinary tract infections. *Epidemiol Infect.* **137(10)**, 1457-64.

Danel F., Hall L.M., Gur D., Livermore D.M. (1995). OXA-14, another extended-spectrum variant of OXA-10 (PSE-2) β -lactamase from *Pseudomonas aeruginosa*. *Antimicrob Agents Chemother.* **39(8)**, 1881-4.

Datta N., Kontomichalou P. (1965). Penicillinase synthesis controlled by infectious *R* factors in Enterobacteriaceae. *Nature*. **208(5007)**, 239-41.

Dierikx C.M., van der Goot J.A, Smith H.E., Kant A, Mevius D.J. (2013). Presence of ESBL/AmpC-Producing *Escherichia coli* in the Broiler Production Pyramid: A Descriptive Study. *PLoS One*. **8(11)**, e79005.

Dierikx C.M., van Duijkeren E., Schoormans A.H., van Essen-Zandbergen A., Veldman K., Kant A. ve ark. (2012). Occurrence and characteristics of extended-spectrum- β -lactamase and AmpC-producing clinical isolates derived from companion animals and horses. *J Antimicrob Chemother*. **67(6)**, 1368-74.

Dinç G., Ata Z., Temelli S. (2012). Sığır mastitislerinden izole edilen *Escherichia coli* suşlarında genişlemiş spektrumlu beta-laktamaz aktivitesi ve antibiyotik dirençlilik profilinin incelenmesi. *Ankara Üniv Vet Fak Derg*. **59**, 85-8.

Doi Y., Adams J., O'Keefe A., Quereschi Z., Ewan L., Paterson D.L. (2007). Community acquired extended-spectrum β -lactamase producers, United States. *Emerg Infect Dis*. **13(7)**, 1121-3.

Doi Y., Paterson D.L. (2007). Detection of plasmid-mediated class C β -lactamases. *Int J Infect Dis*. **11(3)**, 191-7.

Drieux L., Brossier F., Sougakoff W., Jarlier V. (2008). Phenotypic detection of extended-spectrum beta-lactamase production in Enterobacteriaceae: review and bench guide. *Clin Microbiol Infect*. **14**, 90-103.

EFSA (European Food Safety Authority). (2011). Scientific Opinion on the public health risks of bacterial strains producing extended-spectrum β -lactamases and/or AmpC β -lactamases in food and food-producing animals. EFSA Panel on Biological Hazards (BIOHAZ). *EFSA Journal*. **9(8)**, 2322,1-95.

EMA/CVMP/AWP (European Medicines Agency/Committee for Medicinal Products for Veterinary Use/The Antimicrobials Working Party). (2013). Reflection paper on the risk of antimicrobial resistance transfer from companion animals (EMA/CVMP/AWP/401740/2013). Erişim 29.05.2015. http://www.ema.europa.eu/docs/en_GB/document_library/Scientific_guideline/2013/10/WC500152665.pdf

EUCAST (The European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing). (2013). EUCAST guidelines for detection of resistance mechanisms and specific resistances of clinical and/or epidemiological importance. Version 1.0, December 2013. Erişim 29.05.2015. http://www.eucast.org/fileadmin/src/media/PDFs/EUCAST_files/Resistance_mechanisms/EUCAST_detection_of_resistance_mechanisms_v1.0_20131211.pdf.

Ewers C., Bethe A., Semmler T., Guenther S., Wieler L.H. (2012). Extended spectrum β -lactamase-producing and AmpC-producing *Escherichia coli* from livestock and companion animals, and their putative impact on public health: a global perspective. *Clin Microbiol Infect.* **18(7)**, 646-55.

Ewers C., Bethe A., Wieler H., Guenther S., Stamm I., Kopp A. ve ark. (2011). Companion animals: a relevant source of extended-spectrum β -lactamase-producing fluoroquinolone-resistant *Citrobacter freundii*. *Int J Antimicrob Agents.* **37**, 86-7.

Ewers C., Grobbel M., Stamm I., Kopp P.A., Diehl I., Semmler T. ve ark. (2010). Emergence of human pandemic O25:H4-ST131 CTX-M-15 extended-spectrum- β -lactamase-producing *Escherichia coli* among companion animals. *J Antimicrob Chemother.* **65(4)**, 651-60.

Feria C., Ferreira E., Correia J.D., Gonçalves J., Caniça M. (2002). Patterns and mechanisms of resistance to β -lactams and β -lactamase inhibitors in uropathogenic *Escherichia coli* isolated from dogs in Portugal. *J Antimicrob Chemother.* **49(1)**, 77-85.

Fiett J., Palucha A., Miaczynska B., Stankiewicz M., Przondo-Mordarska H., Hryniewicz W., Gniadkowski M. (2000). A novel complex mutant β -lactamase, TEM-68, identified in a *Klebsiella pneumoniae* isolate from an outbreak of extended spectrum β -lactamase-producing Klebsiellae. *Antimicrob Agents Chemother.* **44(6)**, 1499-505.

Fluit A.C., Visser M.R., Schmitz F.J. (2001). Molecular detection of antimicrobial resistance. *Clin Microbiol Rev.* **14(4)**, 836-71.

Friedmann R., Raveh D., Zartzer E., Rudensky B., Broide E., Attias D., Yinnon A.M. (2009). Prospective evaluation of colonization with extended spectrum β -lactamase (ESBL)-producing Enterobacteriaceae among patients at hospital admission and of subsequent colonization with ESBL-producing Enterobacteriaceae among patients during hospitalization. *Infect Control Hosp Epidemiol.* **30(6)**, 534-42.

Frye J.G., Fedorka-Cray P.J. (2007). Prevalence, distribution and characterisation of ceftiofur resistance in *Salmonella enterica* isolated from animals in the USA from 1999 to 2003. *Int J Antimicrob Agents*. **30(2)**, 134-42.

Gandolfi-Decristophoris P., Petrini O., Ruggeri-Bernardi N., Schelling E. (2013). Extended-spectrum β -lactamase-producing *Enterobacteriaceae* in healthy companion animals living in nursing homes and in the community. *Am J Infect Control*. **41(9)**, 831-5.

Gangoué-Piéboji J., Bedenic B., Koulla-Shiro S., Randegger C., Adiogo D., Ngassam P. ve ark. (2005). Extended-spectrum β -lactamase-producing *Enterobacteriaceae* in Yaounde, Cameroon. *J Clin Microbiol*. **43(7)**, 3273-7.

Garcia A., Navarro F., Miro E., Mirelis B., Campoy S., Coll P. (2005). Characterization of the highly variable region surrounding the *bla*_{CTX-M-9} gene in non-related *Escherichia coli* from Barcelona. *J Antimicrob Chemother*. **56(5)**, 819-26.

Gibson J.S., Cobbold R.N., Trott D.J. (2010). Characterization of multidrug-resistant *Escherichia coli* isolated from extraintestinal clinical infections in animals. *J Med Microbiol*. **59**, 592-8.

Gonullu N., Aktas Z., Kayacan C.B., Salcioglu M., Carattoli A., Yong D.E., Walsh T.R. (2008). Dissemination of CTX-M-15 β -lactamase genes carried on Inc FI and FII plasmids among clinical isolates of *Escherichia coli* in a university hospital in Istanbul, Turkey. *J Clin Microbiol*. **46(3)**, 1110-2.

Guardabassi L., Schwarz S., Lloyd D.H. (2004). Pet animals as reservoirs of antimicrobial-resistant bacteria. *J Antimicrob Chemother*. **54(2)**, 321-32.

Guenther S., Grobbel M., Beutlich J., Guerra B., Ulrich R.G., Wieler L.H., Ewers C. (2010). Detection of pandemic B2-O25-ST131 *Escherichia coli* harbouring the CTX-M-9 extended-spectrum β -lactamase type in a feral urban brown rat (*Rattus norvegicus*). *J Antimicrob Chemother*. **65(3)**, 582-4.

Gulmez D., Woodford N., Palepou M.F., Mushtag S., Metan G., Yakupogullari Y. ve ark. (2008). Carbapenem-resistant *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae* isolates from Turkey with OXA-like carbapenemases and outer membrane protein loss. *Int J Antimicrob Agents*. **31(6)**, 523-6.

Guo S., Brouwers H.J., Cobbold R.N., Platell J.L., Chapman T.A., Barrs V.R. ve ark. (2013). Fluoroquinolone-resistant extraintestinal pathogenic *Escherichia coli*, including O25b-ST131, isolated from faeces of hospitalized dogs in an Australian veterinary referral centre. *J Antimicrob Chemother.* **68(5)**, 1025-31.

Gülamber C. (2009). *Enterobacteriaceae* İzolatlarında CTX-M Tipi Genişlemiş Spektrumlu B-Laktamaz (GSBL) Enzim Pozitifliği ve Dağılımı. Yüksek Lisans Tezi, Afyon Kocatepe Üniv. Sağlık Bilimleri Enstitüsü.

Gür D., Gülay Z., Arıkan Ö., Aktaş Z., Kayacan Ç.B., Çakıcı Ö. ve ark. (2008). Türkiye’de hastane izolatu Gram negatif bakterilerde yeni beta-laktam antibiyotiklere direnç ve GSBL tipleri: Çok merkezli HİTİT surveyansının sonuçları. *Mikrobiyol Bul.* **42**, 537-44.

Hall L.M., Livermore D.M., Gur D., Akova M., Akalin H.E. (1993). OXA-11, an extended-spectrum variant of OXA-10 (PSE-2) β -lactamase from *Pseudomonas aeruginosa*. *Antimicrob Agents Chemother.* **37(8)**, 1637-44.

Hanson N.D., Moland E.S., Hong S.G., Propst K., Novak D.J., Cavalieri S.J. (2008). Surveillance of community-based reservoirs reveals the presence of CTX-M, imported AmpC, and OXA-30 β -lactamases in urine isolates of *Klebsiella pneumoniae* and *Escherichia coli* in a U.S. community. *Antimicrob Agents Chemother.* **52**, 3814-6.

Harada K., Morimoto E., Kataoka Y., Takahashi T. (2011). Clonal spread of antimicrobial-resistant *Escherichia coli* isolates among pups in two kennels. *Acta Vet Scand.* **53**, 11.

Ho P.L., Ho A.Y., Chow K.H., Wong R.C., Duan R.S., Ho W.L. ve ark. (2005). Occurrence and molecular analysis of extended-spectrum β -lactamase-producing *Proteus mirabilis* in Hong Kong, 1999-2002. *J Antimicrob Chemother.* **55(6)**, 840-5.

Hordijk J., Schoormans A., Kwakernaak M., Duim B., Broens E., Dierikx C. ve ark. (2013). High prevalence of fecal carriage of extended spectrum β -lactamase / AmpC-producing *Enterobacteriaceae* in cats and dogs. *Front Microbiol.* **4**, 242.

Horii T., Arakawa Y., Ohta M., Ichiyama S., Wacharotayankun R., Kato N. (1993). Plasmid-mediated AmpC-type β -lactamase isolated from *Klebsiella pneumoniae* confers resistance to broad-spectrum β -lactams, including moxalactam. *Antimicrob Agents Chemother.* **37(5)**, 984-90.

Huber H., Zweifel C., Wittenbrink M.M., Stephan R. (2013). ESBL-producing uropathogenic *Escherichia coli* isolated from dogs and cats in Switzerland. *Vet Microbiol.* **162(2-4)**, 992-6.

Jacoby G.A. (2009). AmpC β -lactamases. *Clin Microbiol Rev.* **22(1)**, 161-82.

Jacoby G.A., Bush K. (2014). β -lactamase classification and amino acid sequences for TEM, SHV and OXA extended-spectrum and inhibitör resistant enzymes. Lahey Clinic. Erişim 29.05.2015 <http://www.lahey.org/Studies/>.

Jacoby G.A., Medeiros A.A., O'Brien T.F., Pinto M.E., Jiang H. (1988). Broad-spectrum, transmissible β -lactamases. *N Engl J Med.* **319(11)**, 723-4.

Jacoby G.A., Munoz-Price L.S. (2005). The new β -lactamases. *N Engl J Med.* **352(4)**, 380-91.

Jacoby G.A., Walsh K.E., Walker V.J. (2006). Identification of extended spectrum, AmpC and carbapenem-hidrolyzing β -lactamases in *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae* by disk tests. *J Clin Microbiol.* **44(6)**, 1971-6.

Johnson J.R., Clabots C., Kuskowski M.A. (2008). Multiple-host sharing, long-term persistence, and virulence of *Escherichia coli* clones from human and animal household members. *J Clin Microbiol.* **46(12)**, 4078-82.

Jouini A., Vinue L., Slama K.B., Saenz Y., Klibi N., Hammami S. ve ark. (2007) Characterization of CTX-M and SHV extended-spectrum β -lactamases and associated resistance genes in *Escherichia coli* strains of food samples in Tunesia. *J Antimicrob Chemoth.* **60**, 1137-41.

Kahraman B.B., Sığırıcı B.D., Metiner K., Çelik B., Adıgüzel M.C., Gümüş B., İkiz S., Bağcıgil A.F., Özgür N.Y., Ak S. (yayınlanmamış veri). Tavuk Dışkılarında ve Tüketime Sunulan Etlerinde Genişlemiş Spektrumlu Beta-Laktamaz ve AmpC Beta-Laktamaz Üreten *Escherichia coli* Prevalansı. İstanbul Üniversitesi, Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu, Karar No: 2012/17. Destekleyen Proje Birimi: İstanbul Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi, Proje No: 15390.

Kaleli İ., Özen N., Şengül M., Cevahir N., Akşit F. (1998). Gram negatif bakterilerde genişletilmiş spektrumlu beta-laktamazların çift disk sinerji yöntemiyle belirlenmesi. *ANKEM Derg.* **12**, 446.

Kaneko K., Sato Y., Tokunaga S.K., Tamaki S.K., Okamoto R., Inoue M. (2005). AmpC β -lactamase-mediated cefpodoxime-resistant *Escherichia coli* isolated from faecal samples of healthy volunteers. *J Antimicrob Chemother.* **52**, 369-71.

Kaygusuz A., Öngen B., Gürler N., Töreci K. (1997). Çocuk hastalardan izole edilen Enterobacteriaceae suşlarında genişlemiş spektrumlu beta-laktamaz sıklığı. *ANKEM Derg.* **11**, 432.

Kiratisin P., Apisarnthanarak A., Laesripa C., Saifon P. (2008). Molecular characterization and epidemiology of extended-spectrum- β -lactamase-producing *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae* isolates causing health care-associated infection in Thailand, where the CTX-M family is endemic. *Antimicrob Agents Chemother.* **52(8)**, 2818-24.

Knothe H., Shah P., Krcmery V., Antal M., Mitsuhashi S. (1983). Transferable resistance to cefotaxime, cefoxitin, cefamandole and cefuroxime in clinical isolates of *Klebsiella pneumoniae* and *Serratia marcescens*. *Infection.* **11(6)**, 315-7.

Koldaş K., Mumcuoğlu İ., Karahan C., Coşkun F.A., Kurşun Ş., Aksu N. (2011). Enterobacteriaceae suşlarında plazmid kökenli AmpC β -laktamaz varlığının multipleks PZR ve fenotipik yöntemlerle araştırılması. *Türk Mikrobiyol Cem Derg.* **41**, 65-72.

Kruger T., Szabo D., Keddy K.H., Deeley K., Marsh J.W., Hujer A.M. ve ark. (2004). Infections with nontyphoidal *Salmonella* species producing TEM-63 or a novel TEM enzyme, TEM-131, in South Africa. *Antimicrob Agents Chemother.* **48**, 4263-70.

Küçükbaşmacı Ö. (2009). Dışkıda genişlemiş spektrumlu beta-laktamaz üreten Enterobacteriaceae üyelerinin prevalansının araştırılması. *Türk Mikrobiyol Cem Derg.* **39(3-4)**, 85-8.

Lee M.D., Maurer J.J. (2000). The genetic basis for emerging antibiotic resistance in veterinary pathogens. *Ann N Y Acad Sci.* **916**, 643-5.

Lefebvre S.L., Reid-Smith R.J., Waltner-Toews D., Weese J.S. (2009). Incidence of acquisition of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*, *Clostridium difficile*, and other health-care-associated pathogens by dogs that participate in animal-assisted interventions. *J Am Vet Med Assoc.* **234(11)**, 1404-17.

Lefebvre S.L., Waltner-Toews D., Peregrine A.S., Reid-Smith R., Hodge L., Arroyo L.G. ve ark. (2006). Prevalence of zoonotic agents in dogs visiting hospitalized people in Ontario: implications for infection control. *J Hosp Infect.* **62(4)**, 458-66.

Lewis J.S., Herrera M., Wickes B., Patterson J.E., Jorgensen J.H. (2007). First report of the emergence of CTX-M-type extended-spectrum β -lactamases (ESBLs) as the predominant ESBL isolated in a U.S. health care system. *Antimicrob Agents Chemother.* **51(11)**, 4015-21.

Li X.Z., Mehrotra M., Ghimire S., Adewoye L. (2007). β -Lactam resistance and β -lactamases in bacteria of animal origin. *Vet Microbiol.* **121(3-4)**, 197-214.

Liebana E., Batchelor M., Hopkins K.L., Clifton-Hadley F.A., Teale C.J., Foster A. ve ark. (2006). Longitudinal farm study of extended-spectrum β -lactamase-mediated resistance. *J Clin Microbiol.* **44(5)**, 1630-4.

Lim S.K., Lee H.S., Nam H.M., Jung S.C., Bae Y.C. (2009). CTX-M-type beta-lactamase in *Escherichia coli* isolated from sick animals in Korea. *Microb Drug Resist.* **15(2)**, 139-42.

Livermore D.M. (1991). Mechanisms of resistance to beta-lactam antibiotics. *Scand J Infect Dis Suppl.* **78**, 7-16.

Livermore D.M. (1992). Interplay of impermeability and chromosomal β -lactamase activity in imipenem-resistant *Pseudomonas aeruginosa*. *Antimicrob Agents Chemother.* **36(9)**, 2046-8.

Livermore D.M. (1995). β -lactamases in laboratory and clinical resistance. *Clin Microbiol Rev.* **8(4)**, 557-84.

Livermore D.M. (2008). Defining an extended-spectrum beta-lactamase. *Clin Microbiol Infect.* **14**, 3-10.

Livermore D.M., Canton R., Gniadkowski M., Nordmann P., Rossolini G.M., Arlet G. ve ark. (2007). CTX-M: changing the face of ESBLs in Europe. *J Antimicrob Chemother.* **59(2)**, 165-74.

Livermore D.M., Hawkey P.M. (2005). CTX-M: changing the face of ESBLs in the UK. *J Antimicrob Chemother.* **56(3)**, 451-4.

Livermore D.M., Woodford N. (2006). The β -lactamase threat in Enterobacteriaceae, *Pseudomonas* and *Acinetobacter*. *Trends Microbiol.* **14(9)**, 413-20.

Ma J., Zeng Z., Chen Z., Xu X., Wang X., Deng Y. ve ark. (2009). High prevalence of plasmid-mediated quinolone resistance determinants *qnr*, *aac* (6')-Ib-cr, and *qepA* among ceftiofur-resistant *Enterobacteriaceae* isolates from companion and food-producing animals. *Antimicrob Agents Chemother.* **53(2)**, 519-24.

Mabilat C., Courvalin P. (1990). Development of "oligotyping" for characterization and molecular epidemiology of TEM β -lactamases in members of the family *Enterobacteriaceae*. *Antimicrob Agents Chemother.* **34(11)**, 2210-6.

Martinez J.L. (2009). The role of natural environments in the evolution of resistance traits in pathogenic bacteria. *Proc Biol Sci.* **276(1667)**, 2521-30.

Matsumoto Y., Ikeda F., Kamimura T., Yokota Y. Mine Y. (1988). Novel plasmid-mediated β -lactamase from *Escherichia coli* that inactivates oxyimino-cephalosporins. *Antimicrob Agents Chemother.* **32(8)**, 1243-6.

McEwen S.A., Fedorka-Cray P.J. (2002). Antimicrobial use and resistance in animals. *Clin Infect Dis.* **34**, 93-106.

Mendonça N., Leitao J., Manageiro V., Ferreira E., Caniça M. (2007). Spread of Extended-spectrum β -lactamase CTX-M-producing *Escherichia coli* clinical isolates in community and nosocomial environments in Portugal. *Antimicrob Agents Chemother.* **51(6)**, 1946-55.

Middleton J.H., Ambrose A. (2005). Enumeration and antibiotic resistance patterns of fecal indicator organisms isolated from migratory Canada geese (*Branta canadensis*). *J Wildl Dis.* **41(2)**, 334-41.

Mohamudha P.R., Harish B.N., Parija S.C. (2012). Molecular description of plasmid-mediated AmpC β -lactamases among nosocomial isolates of *Escherichia coli* & *Klebsiella pneumoniae* from six different hospitals in India. *Indian J Med Res.* **135**, 114-9.

Moreno A., Bello H., Guggiana D., Dominguez M., Gonzalez G. (2008). Extended-spectrum β -lactamases belonging to CTX-M group produced by *Escherichia*

coli strains isolated from companion animals treated with enrofloxacin. *Vet Microbiol.* **129(1-2)**, 203-8.

Murk J.L., Heddema E.R., Hess D.L., Bogaards J.A., Vandenbroucke-Grauls C.M., Debets-Ossenkopp Y.J. (2009). Enrichment broth improved detection of extended-spectrum-beta-lactamase-producing bacteria in throat and rectal surveillance cultures of samples from patients in intensive care units. *J Clin Microbiol.* **47**, 1885-7.

Murphy C., Reid-Smith R.J., Prescott J.F., Bonnett B.N., Poppe C., Boerlin P. et al. (2009). Occurrence of antimicrobial resistant bacteria in healthy dogs and cats presented to private veterinary hospitals in southern Ontario: a preliminary study. *Can Vet J.* **50(10)**, 1047-53.

Murray P.R., Tenover F.C., Tenover J.C., Tenover P.C. (2005). *Medical Microbiology*, 5th ed., Elsevier/Mosby, Philadelphia, A.B.D.

Nebbia P., Tramuta C., Odore R., Nucera D., Zanatta R., Robino P. (2014). Genetic and phenotypic characterisation of *Escherichia coli* producing cefotaximase-type extended-spectrum β -lactamases: first evidence of the ST131 clone in cats with urinary infections in Italy. *J Feline Med Surg.* **16(12)**, 966-71.

Nikaido H. (2003). Molecular basis of bacterial outer membrane permeability revisited. *Microbiol Mol Biol Rev.* **67(4)**, 593-656.

Noble W.C., Allaker R.P. (1992). Staphylococci on the skin of pigs: isolates from two farms with different antibiotic policies. *Vet Rec.* **130(21)**, 466-8.

Nordmann P., Cuzon G., Naas T. (2009). The real threat of *Klebsiella pneumoniae* carbapenemase-producing bacteria. *Lancet Infect Dis.* **9(4)**, 228-36.

Normark B.H., Normark S. (2002). Evolution and spread of antibiotic resistance. *J Intern Med.* **252(2)**, 91-106.

Novais A., Canton R., Coque T.M., Moya A., Baquero F., Galán J.C. (2008). Mutational Events in Cefotaximase Extended-Spectrum β -Lactamases of the CTX-M-1 Cluster Involved in Ceftazidime Resistance. *Antimicrob Agents Chemother.* **52(7)**, 2377-82.

O'Keefe A., Hutton T.A., Schifferli D.M., Rankin S.C. (2010). First Detection of CTX-M and SHV Extended-Spectrum β -Lactamases in *Escherichia coli* Urinary tract

isolates from dogs and cats in the United States. *Antimicrob Agents Chemother.* **54(8)**, 3489-92.

Okamoto K., Gotoh N., Nishino T. (2001). *Pseudomonas aeruginosa* reveals high intrinsic resistance to penem antibiotics: penem resistance mechanisms and their interplay. *Antimicrob Agents Chemother.* **45(7)**, 1964-71.

Overdevest I., Willemsen I., Rijnsburger M., Eustace A., Xu L., Hawkey P. ve ark. (2011). Extended-spectrum β -lactamase genes of *Escherichia coli* in chicken meat and humans, the Netherlands. *Emerg Infect Dis.* **17(7)**, 1216-22.

Pai H., Kang C.I., Byeon J.H., Lee K.D., Park W.B., Kim H.B. ve ark. (2004). Epidemiology and clinical features of bloodstream infections caused by AmpC-type- β -lactamase-producing *Klebsiella pneumoniae*. *Antimicrob Agents Chemother.* **48**, 3720-8.

Paterson, D.L., Bonomo, R.A. (2005). Extended-spectrum β -lactamases: a clinical update. *Clin Microbiol Rev.* **18(4)**, 657-86.

Pérez-Pérez F.J., Hanson N.D. (2002). Detection of plasmid-mediated AmpC β -lactamase genes in clinical isolates by using multiplex PCR. *J Clin Microbiol.* **40(6)**, 2153-62.

Pfeifer Y., Cullik A., Witte W. (2010). Resistance to cephalosporins and carbapenems in Gram-negative bacterial pathogens. *Int J Med Microbiol.* **300(6)**, 371-9.

Philippon A., Arlet G., Jacoby G.A. (2002). Plasmid-determined AmpC type β -lactamases. *Antimicrob Agents Chemother.* **46(1)**, 1-11.

Pitout J.D. (2012). Extraintestinal pathogenic *Escherichia coli*: an update on antimicrobial resistance, laboratory diagnosis and treatment. *Expert Rev Anti Infect Ther.* **10(10)**, 1165-76.

Pitout J.D., Hanson N.D., Church D.L. (2004b). Population-based laboratory surveillance for *Escherichia coli*-producing extended-spectrum β -lactamases: importance of community isolates with *bla*_{CTX-M} genes. *Clin Infect Dis.* **38(12)**, 1736-41.

Pitout J.D., Hossain A., Hanson N.D. (2004a). Phenotypic and molecular detection of CTX-M- β -lactamases produced by *Escherichia coli* and *Klebsiella* spp. *J Clin Microbiol.* **42(12)**, 5715-21.

Pitout J.D., Laupland K.B. (2008). Extended-spectrum β -lactamase-producing *Enterobacteriaceae*: an emerging public-health concern. *Lancet Infect Dis.* **8**, 159-66.

Pitout J.D., Nordmann P., Laupland K.B., Poirel L. (2005). Emergence of *Enterobacteriaceae* producing extended-spectrum β -lactamases (ESBLs) in the community. *J Antimicrob Chemother.* **56(1)**, 52-9.

Pitout J.D., Reisbig M.D., Mulvey M., Chui L., Louie M., Crowe L. ve ark. (2003). Association between handling of pet treats and infection with *Salmonella enterica* serotype Newport expressing the AmpC β -lactamase, CMY-2. *J Clin Microbiol.* **41(10)**, 4578-82.

Platell J.L., Johnson J.R., Cobbold R.N., Trott D.J. (2011). Multidrug-resistant extraintestinal pathogenic *Escherichia coli* of sequence type ST131 in animals and foods. *Vet Microbiol.* **153(1-2)**, 99-108.

Poeta P., Radhouani H., Igrejas G., Gonçalves A., Carvalho C., Rodrigues J. ve ark. (2008). Seagulls of the Berlengas Natural Reserve of Portugal as carriers of fecal *Escherichia coli* harboring CTX-M and TEM extended-spectrum beta-lactamases. *Appl Environ Microbiol.* **74(23)**, 7439-41.

Poirel L., Potron A., Nordmann P. (2012). OXA-48-like carbapenemases: the phantom menace. *J Antimicrob Chemother.* **67(7)**, 1597-606.

Pomba C., da Fonseca J.D., Baptista B.C., Correia J.D., Martinez-Martinez L. (2009). Detection of the pandemic O25-ST131 human virulent *Escherichia coli* CTX-M-15-producing clone harboring the *qnrB2* and *aac (6')-Ib-cr* genes in a dog. *Antimicrob Agents Chemother.* **53(1)**, 327-8.

Pomba-Feria C., Caniça M. (2003). A novel sequence framework (*bla*_{TEM-1G}) encoding the parental TEM-1 β -lactamase. *FEMS Microbiol Lett.* **220(2)**, 177-80.

Quinn P.J., Carter M.E., Markey B.K., Carter G.R. (1994). *Clinical Veterinary Microbiology*. Mosby-Year Book Europe, London, 221.

Raskine L., Borrel I., Barnaud G., Boyer S., Hanau-Berçot B., Gravis J. ve ark. (2002). Novel Plasmid-Encoded Class C β -Lactamase (MOX-2) in *Klebsiella pneumoniae* from Greece. *Antimicrob Agents Chemother.* **46(7)**, 2262-5.

Rayamajhi N., Kang S.G., Lee D.Y., Kang M.L., Lee S.I., Park K.Y. ve ark. (2008). Characterization of TEM, SHV and AmpC-type β -lactamases from cephalosporin-resistant *Enterobacteriaceae* isolated from swine. *Int J Food Microbiol.* **124(2)**, 183-7.

Reich F., Atanassova V., Klein G. (2013). Extended-spectrum β -lactamase-and AmpC-producing Enterobacteria in healthy broiler chickens, Germany. *Emerg Infect Dis.* **19(8)**, 1253-9.

Riano I., Garcia-Campello M., Saenz Y., Alvarez P., Vinué L., Lantero M. ve ark. (2009). Occurrence of extended-spectrum β -lactamase-producing *Salmonella enterica* in northern Spain with evidence of CTX-M-9 clonal spread among animals and humans. *Clin Microbiol Infect.* **15(3)**, 292-5.

Rice L.B., Eckstein E.C., DeVente J., Shlaes D.M. (1996). Ceftazidime-resistant *Klebsiella pneumoniae* isolates recovered at the Cleveland department of Veterans Affairs Medical Center. *Clin Infect Dis.* **23(1)**, 118-24.

Rodriguez-Bano J., Alcalá J., Cisneros J.M., Grill F., Oliver A., Horajada J.P. ve ark. (2009). *Escherichia coli* producing SHV-type extended-spectrum β -lactamase is a significant cause of community-acquired infection. *J Antimicrob Chemother.* **63**, 781-4.

Rodriguez-Bano J., Navarro M.D., Romero L., Martinez-Martinez L., Muniain M.A., Perea E.J., Perez-Cano R., Pascual A. (2004). Epidemiology and clinical features of infections caused by extended-spectrum beta-lactamase-producing *Escherichia coli* in nonhospitalized patients. *J Clin Microbiol.* **42(3)**, 1089-94.

Romero L., Lopez L., Rodriguez-Bano J., Ramon Hernandez J., Martinez-Martinez L., Pascual A. (2005). Long-term study of the frequency of *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae* isolates producing extended-spectrum β -lactamases. *Clin Microbiol Infect.* **11(8)**, 625-31.

Saladin M., Cao V.T., Lambert T., Donay J.L., Herrmann J.L., Ould-Hocine Z. ve ark. (2002). Diversity of CTX-M β -lactamases and their promoter regions from *Enterobacteriaceae* isolated in three Parisian hospitals. *FEMS Microbiol Lett.* **209(2)**, 161-8.

Sallem R.B., Gharsa H., Slama K.B., Rojo-Bezares B., Estepa V., Porres-Osante N. ve ark. (2013). First detection of CTX-M-1 CMY-2, and QnrB19 resistance

mechanisms in fecal *Escherichia coli* isolates from healthy pets in Tunisia. *Vector Borne Zoonotic Dis.* **13(2)**, 98-102.

Schink A.K., Kadlec K., Schwarz S. (2011). Analysis of *bla*_{CTX-M}-carrying plasmids from *Escherichia coli* isolates collected in the BfT-GermVet study. *Appl Environ Microbiol.* **77(20)**, 7142-6.

Schmiedel J., Falgenhauer L., Domann E., Bauerfeind R., Prenger-Berninghoff E., Imirzalioglu C., Chakraborty T. (2014). Multiresistant extended-spectrum β -lactamase producing *Enterobacteriaceae* from humans, companion animals and horses in central Hesse, Germany. *BMC Microbiol.* **14**, 187.

Shaheen B.W., Nayak R., Boothe D.M. (2013). Emergence of a New Delhi metallo- β -lactamase (NDM-1) encoding gene in clinical *Escherichia coli* isolates recovered from companion animals in the United States. *Antimicrob Agents Chemother.* **57(6)**, 2902-3.

Shaheen B.W., Nayak R., Foley S.L., Kweon O., Deck J., Park M. ve ark. (2011). Molecular characterization of resistance to extended-spectrum cephalosporins in clinical *Escherichia coli* isolates from companion animals in the United States. *Antimicrob Agents Chemother.* **55(12)**, 5666-75.

Shahid M., Singh A., Sobia F., Rashid M., Malik A., Shukla I., Khan H.M. (2011). *bla*_{CTX-M}, *bla*_{TEM}, and *bla*_{SHV} in *Enterobacteriaceae* from North-Indian tertiary hospital: high occurrence of combination genes. *Asian Pacific J Tropical Med.* **4**, 101-5.

Sidjabat H.E., Hanson N.D., Smith-Moland E., Bell J.M., Gibson J.S., Filippich L.J. ve ark. (2007). Identification of plasmid-mediated extended-spectrum and AmpC β -lactamases in *Enterobacter* spp. isolated from dogs. *J Med Microbiol.* **56**, 426-34.

Sidjabat H.E., Townsend K.M., Hanson N.D., Bell J.M., Stokes H.W., Gobius K.S. ve ark. (2006). Identification of *bla*_{CMY-7} and associated plasmid-mediated resistance genes in multidrug-resistant *Escherichia coli* isolated from dogs at a veterinary teaching hospital in Australia. *J Antimicrob Chemother.* **57(5)**, 840-8.

Smet A., Martel A., Persoons D., Dewulf J., Heyndrickx M., Catry B. ve ark. (2008). Diversity of extended-spectrum β -lactamases and class C β -lactamases among cloacal *Escherichia coli* in Belgian broiler farms. *Antimicrob Agents Chemother.* **52(4)**, 1238-43.

Smet A., Martel A., Persoons D., Dewulf J., Heyndrickx M., Herman L. ve ark. (2010). Broad-spectrum β -lactamases among *Enterobacteriaceae* of animal origin: molecular aspects, mobility and impact on public health. *FEMS Microbiol Rev.* **34(3)**, 295-316.

So J.H., Kim J., Bae I.K., Jeong S.H., Kim S.H., Lim S.K. ve ark. (2012). Dissemination of multidrug-resistant *Escherichia coli* in Korean veterinary hospitals. *Diagn Microbiol Infect Dis.* **73(2)**, 195-9.

Song W., Lee H., Lee K., Jeong S.H., Bae I.K., Kim J.S. ve ark. (2009). CTX-M-14 and CTX-M-15 enzymes are the dominant type of extended-spectrum β -lactamase in clinical isolates of *Escherichia coli* from Korea. *J Med Microbiol.* **58**, 261-6.

Stolle I., Prenger E., Stamm I., Scheufen S., Hassdenteufel E., Guenther S. ve ark. (2013). Emergence of OXA-48 carbapenemase-producing *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae* in dogs. *J Antimicrob Chemother.* **68(12)**, 2802-8.

Su L.H., Wu T.L., Chia J.H., Chu C., Kuo A.J., Chiu C.H. (2005). Increasing ceftriaxone resistance in *Salmonella* isolates from a university hospital in Taiwan. *J Antimicrob Chemother.* **55(6)**, 846-52.

Sun Y., Zeng Z., Chen S., Ma J., He L., Liu Y. ve ark. (2010). High prevalence of *bla*_{CTX-M} extended-spectrum β -lactamase genes in *Escherichia coli* isolates from pets and emergence of CTX-M-64 in China. *Clin Microbiol Infect.* **16(9)**, 1475-81.

SVARM. (2009). *Swedish Veterinary Antimicrobial Resistance Monitoring*. ISSN 1650-6332.

Tamang M.D., Nam H.M., Jang G.C., Kim S.R., Chae M.H., Jung S.C. ve ark. (2012). Molecular characterization of extended-spectrum- β -lactamase-producing and plasmid-mediated AmpC β -lactamase-producing *Escherichia coli* isolated from stray dogs in South Korea. *Antimicrob Agents Chemother.* **56(5)**, 2705-12.

Teale C.J., Moulin G. (2012). Prudent use guidelines: a review of existing veterinary guidelines. *Rev Sci Tech Off Int Epiz.* **31(1)**, 343-54.

Teshager T., Dominguez L., Moreno M.A., Saenz Y., Torres C., Cardenosa S. (2000). Isolation of an SHV-12 β -lactamase-producing *Escherichia coli* strain from a dog with recurrent urinary tract infections. *Antimicrob Agents Chemother.* **44**, 3483-4.

Tian G.B, Wang H.N., Zou L.K., Tang J.N., Zhao Y.W., Ye M.Y., ve ark. (2009). Detection of CTX-M-15, CTX-M-22 and SHV-2 extended-spectrum β -lactamases (ESBLs) in *Escherichia coli* fecal sample isolates from pig farms in China. *Microb Drug Resist.* **6(3)**, 297–304.

Timofte D., Dandrieux J., Wattret A., Fick J., Williams N.J. (2011). Detection of extended-spectrum- β -lactamase-positive *Escherichia coli* in bile isolates from two dogs with bacterial cholangiohepatitis. *J Clin Microbiol.* **49(9)**, 3411-4.

Töreci K., Kaygusuz A., Öngen B., Gürler N. (1996). Enterobacteriaceae ailesinden ardarda izole edilen 827 suşta genişlemiş spektrumlu beta-laktamaz oluşturma sıklığı. *ANKEM Derg.* **10**, 121.

Uyanık M.H., Hancı H., Yazgı H., Karamiş M. (2010). Kan kültürlerinden soyutlanan *Escherichia coli* ve *Klebsiella pneumoniae* suşlarında GSBL sıklığı ve ertapenem dahil çeşitli antibiyotiklere in-vitro duyarlılıkları. *ANKEM Derg.* **24**, 86-91.

Vahaboglu H., Ozturk R., Akbal H., Saribas S., Tansel O., Coskuncan F. (1998). Practical approach for detection and identification of OXA-10-derived ceftazidime-hydrolyzing extended-spectrum β -lactamases. *J Clin Microbiol.* **36(3)**, 827-9.

Valverde A., Coque T.M., Sánchez-Moreno M.P., Rollán A., Baquero F., Cantón R. (2004). Dramatic increase in prevalence of fecal carriage of extended-spectrum β -lactamase-producing *Enterobacteriaceae* during nonoutbreak situations in Spain. *J Clin Microbiol.* **42(10)**, 4769-75.

Vo A.T., van Duijkeren E., Fluit A.C., Gastra W. (2007). Characteristics of extended-spectrum cephalosporin-resistant *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae* isolates from horses. *Vet Microbiol.* **124(3-4)**, 248-55.

Wassef M., Behiry I., Younan M., El Guindy N., Mostafa S., Abada E. (2014). Genotypic Identification of AmpC β -Lactamases Production in Gram Negative *Bacilli* Isolates. *Jundishapur J Microbiol.* **7(1)**, e8556.

Wedley A.L., Maddox T.W., Westgarth C., Coyne K.P., Pinchbeck G.L., Williams N.J., Dawson S. (2011). Prevalence of antimicrobial-resistant *Escherichia coli* in dogs in a cross-sectional, community-based study. *Vet Rec.* **168(13)**, 354.

Winokur P.L., Vonstein D.L., Hoffman L.J., Uhlenhopp E.K., Doern G.V. (2001). Evidence for transfer of CMY-2 AmpC β -lactamase plasmids between *Escherichia coli* and *Salmonella* isolates from food animals and humans. *Antimicrob Agents Chemother.* **45(10)**, 2716-22.

Woodford N., Fagan E.J., Ellington M.J. (2006). Multiplex PCR for rapid detection of genes encoding CTX-M extended-spectrum β -lactamases. *J Antimicrob Chemother.* **57(1)**, 154-5.

Wright J.G., Tengelsen L.A., Smith K.E., Bender J.B., Frank R.K., Grendon J.H. ve ark. (2005). Multidrug-resistant *Salmonella* Typhimurium in four animal facilities. *Emerging infectious diseases.* **11(8)**, 1235-41.

Yang K., Guiglielmo B.J. (2007). Diagnosis and treatment of extended-spectrum and AmpC β -lactamase-producing organisms. *Ann Pharmacother.* **41(9)**, 1427-35.

Yapar Ş.M. (2007). Hastane Kökenli *Escherichia coli* İzolatlarında Genişlemiş Spektrumlu Beta-Laktamazlar. Tıpta Uzmanlık Tezi, Trakya Üniversitesi Tıp Fakültesi, Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı.

Yilmaz N.O., Agus N., Bozcal E., Oner O., Uzel A. (2013). Detection of plasmid-mediated AmpC β -lactamase in *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae*. *Indian J Med Microbiol.* **31(1)**, 53-9.

Yong D., Toleman M.A., Giske C.G., Cho H.S., Sundman K., Lee K. ve ark. (2009). Characterization of a new metallo- β -lactamase gene, *bla*_{NDM-1}, and a novel erythromycin esterase gene carried on a unique genetic structure in *Klebsiella pneumoniae* sequence type 14 from India. *Antimicrob Agents Chemother.* **53**, 5046-54.

Zarakolu P., Metan G., Haşcelik G., Akova M. (2007). Hastane enfeksiyonu etkeni olarak kan kültürlerinden izole edilen *Escherichia coli* ve *Klebsiella* spp. suşlarında genişlemiş spektrumlu β -laktamaz prevalansı. *Mikrobiyol Bul.* **41**, 579-84.

Zhan G.G., DeCorby M., Laing N., Weshnoweski B., Vashisht R., Taylor F. ve ark. (2008). Antimicrobial-resistant pathogens in intensive care units in Canada: results of the Canadian National Intensive Care Unit (CAN-ICU) Study, 2005-2006. *Antimicrob Agents Chemother.* **52(4)**, 1430-7.

ETİK KURUL KARARI



T.C
İSTANBUL ÜNİVERSİTESİ
HAYVAN DENEYLERİ YEREL ETİK KURULU



Sayı: 2012/ 76

31/05/ 2012

Sn: Prof. Dr. Seyyal AK
İstanbul Üniversitesi Veteriner Fakültesi

Karar No :2012/ 76

Başvuru :25.05.2012

Sorumluluğunu üstlendiğiniz, aşağıda çalışma materyali belirtilen Veteriner Hekim Berna GÜMÜŞ'e ait "Köpek Ve Kedi Dışkılarında Genişlemiş Spektrumlu Beta Laktamaz Ve Ampc Beta Laktamaz Üreten Escherichia Coli'nin Prevalansının Belirlenmesi" isimli projeniz Kurulumuz tarafından incelenmiş ve Etik Kurul ilkelerine uygun bulunmuştur.

Çalışılacak Hayvanın	Türü	Kedi/Köpek
	Cinsiyeti	Erkek/Dişi
	Sayısı	384
Proje Başlangıç/Bitiş Tarihi		Eylül/2012-Eylül/2014

Prof. Dr. Alev AKDOĞAN KAYMAZ
İ.Ü.HADYER Başkanı

Prof. Dr. Mehmet YALTIKIRIK
İ.Ü.HADYER Başkan Yardımcısı

Prof. Dr. Pınar YAMANTÜRK ÇELİK
Üye

Doç.Dr. Uluk ÇAKATAY
Üye

Doç.Dr. Alper OKYAR
Üye

Yard.Doç.Dr. Altan ARMUTAK
Üye

Uzm.Vet.Hek.Fatma TEKELİ
Üye

Mak.Yük.Müh. Dr.Burak OLGUN
Üye

Avukat Selma DEMİR
Üye

İstanbul Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu Başkanlığı İ.Ü. Veteriner Fakültesi Dekanlık katı A
221 nolu Oda Avcılar -İSTANBUL TEL : (0 212) 4737070/ 17031 E mail : hadyek@istanbul.edu.tr

TELİF HAKKI İZİNİ

İstanbul Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü TEZLERİN ÇOĞALTILMASI VE YAYIMI İÇİN İZİN BELGESİ

Tez Yazarının

Soyadı : GÜMÜŞ..... Adı: BERNA.....

Uyruğu : TC ☒ T.C. Kimlik No: 23225110118

Diğer ☐ Belirtiniz.....

Sürekli Adresi: E/2-5 A Kapısı D: 20 Ataköy 5. Kısım/İSTANBUL

Telefon No: 05356759102..... Faks: E-Posta: gumusberna@gmail.com

Tezin yapıldığı Kurum: İSTANBUL ÜNİVERSİTESİ SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

Tez Türü: Doktora ☒ Yüksek Lisans ☐

Mezuniyet Tarihi:02/07/2015.....

Tezin Başlığı: Köpek ve kedi dışkılarında genişlemiş spektrumlu beta laktamaz ve AmpC beta laktamaz üreten Escherichia coli'nin prevalansının belirlenmesi

Tez Desteklenmişse Araştırma Projesi No: BAP 25490

Tez yazarı aşağıdaki seçeneklerden birini işaretleyerek imzalamalıdır.

☒ a) Yukarıda başlığı yazılı olan tezin, ilgilienlerin incelemesine sunulmak üzere **İstanbul Üniversitesi ve bağlı alt kurumları** tarafından arşivlenmesi, kağıt, mikroform veya elektronik formatta, İnternet dahil olmak üzere her türlü ortamda tamamen veya kısmen çoğaltılması, ödünç verilmesi dağıtımı ve yayımı için, tezime ilgili fikri mülkiyet haklarım saklı kalmak üzere hiçbir ücret (royalty) ve erteleme talep etmeksizin izin verdiğimi beyan ederim.

Tez Yazarı İmza

.....

Tarih

02/07/2015

☐ b) Tezin İstanbul Üniversitesi ve/veya bağlı alt kurumları tarafından çoğaltılması veya yayımının tarihine kadar ertelenmesini talep ediyorum. Bu tarihten sonra (a) maddesindeki koşulların geçerli olacağını kabul ve beyan ederim. (Ertelme süresi formun imzalandığı tarihten itibaren en fazla 3 (üç) yıldır.) (Tezin kopyalanması endişesi, tezin erişime açılmasının engellenmesi için bir gerekçe olarak kabul edilemez.)

Tez Yazarı İmza

.....

Tarih

.....

ÖZGEÇMİŞ

Kişisel Bilgiler

Adı	BERNA	Soyadı	GÜMÜŞ
Doğ.Yeri	İSTANBUL	Doğ.Tar.	06/11/1986
Uyruğu	T.C.	TC Kim No	23225110118
Email	gumusberna@gmail.com	Tel	02124737070

Eğitim Düzeyi

	Mezun Olduğu Kurumun Adı	Mez. Yılı
Doktora		
Yük.Lis.		
Lisans	İ.Ü. VETERİNER FAKÜLTESİ	2009
Lise	VEFA LİSESİ	2004

İş Deneyimi (Sondan geçmişe doğru sıralayın)

	Görevi	Kurum	Süre (Yıl - Yıl)
1.			-
2.			-
3.			-

Yabancı Dilleri	Okuduğunu Anlama*	Konuşma*	Yazma*	KPDS/ÜDS Puanı	(Diğer) Puanı
İNGİLİZCE	İYİ	İYİ	İYİ	75	

*Çok iyi, iyi, orta, zayıf olarak değerlendirin

	Sayısal	Eşit Ağırlık	Sözel
LES Puanı	75	77	67
(Diğer) Puanı			

Bilgisayar Bilgisi

Program	Kullanma becerisi
OFFICE	İYİ

Yayınları/Tebliğleri Sertifikaları/Ödülleri

Özel İlgi Alanları (Hobileri):

