



T.C.

MARMARA ÜNİVERSİTESİ

TIP FAKÜLTESİ ENFEKSİYON HASTALIKLARI VE KLİNİK MİKROBİYOLOJİ

ANABİLİM DALI

**Genişlemiş Spektrumlu Beta-laktamaz (GSBL)
Salgılayan *Escherichia coli* ve *Klebsiella pneumoniae*
Enfeksiyonlarında Fataliteyi Belirleyen Faktörler ve
Uygun Antibiyotik Kullanımının Rolü**

Dr. PEGAH GOLABI

UZMANLIK TEZİ

İSTANBUL 2011



T.C.

MARMARA ÜNİVERSİTESİ

TIP FAKÜLTESİ ENFEKSİYON HASTALIKLARI VE KLİNİK MİKROBİYOLOJİ

ANABİLİM DALI

**Genişlemiş Spektrumlu Beta-laktamaz (GSBL)
Salgılayan *Escherichia coli* ve *Klebsiella pneumoniae*
Enfeksiyonlarında Fataliteyi Belirleyen Faktörler ve
Uygun Antibiyotik Kullanımının Rolü**

Dr. PEGAH GOLABI

UZMANLIK TEZİ

Danışman: Prof. Dr. M. ÖNDER ERGÖNÜL

İSTANBUL 2011

ÖNSÖZ

Tüm hayatım boyunca bana destek olan, bugünlere gelmemde en büyük paya sahip olan, bize hayatını adayan annem Fatemeh Dokth Hajinia'ya, hayatım boyunca bana örnek olan, beni cesaretlendiren, varlıklarıyla hep yanımda olan, her zaman gurur duyduğum ağabeylerim Uzm. Dr. Pejman Golabi ve Dr. Puyan Golabi'ye

Uzmanlık eğitimi süresince bilgi ve deneyimlerinden yaralandığım, hoşgörü ortamı içerisinde engin bilgisi ve geniş tecrübesiyle bana yön veren bölüm başkanım Prof. Dr. Volkan Korten'e

Enfeksiyon Hastalıklarını uzmanlık dalı olarak seçmemde büyük rolü olan, gerek uzmanlık eğitimi boyunca gerekse öncesinde bana destek olan, disiplini, hoşgörü, zarafeti ve tecrübesinden yararlandığım hocam Prof. Dr. Lutfiye Mülazımoğlu'na

Tezimin planlanmasında ve gerçekleşmesinde fikirleri ve katkılarıyla çok büyük emeği olan, her detayla tek tek ilgilenen, bu süreç zarfında kendisinden çok şey öğrendiğim tez danışmanım Prof. Dr. Mehmet Önder Ergönül'e

Asistanlık eğitimim boyunca bilimsel eğitimimde büyük rolü olan Doç. Dr. Zekaver Odabaşı'na

Çalışmamın laboratuvar aşamasında beni destekleyen ve yardımlarını esirgemeyen Esra Kalkan'a, moleküler analizlerime yardımcı olan Gülşen Altınkanat'a

Asistanlık yıllarımı birlikte geçirmekten onur duyduğum birbirinden değerli arkadaşlarım Uzm. Dr. Aslı Tufan, Uzm. Dr. Aslıhan Güven, Dr. Baran Balcan, Uzm. Dr. Mehmet Akif Öztürk, Uzm. Dr. Şehnaz Olgun, Uzm. Dr. Tayfur Toptaş, Uzm. Dr. Hülya Kuşoğlu, Dr. Sema Ağar, Uzm. Dr. Sabah Tüzün'e

Bu tezin başlangıcından son cümlesine kadarki her aşamada yanımda olan, bana destek veren Dr. Mehmet Sayiner'e içten teşekkürlerimi sunarım.

Dr. Pegah GOLABI

Mart 2011, İstanbul

ÖZET

Giriş: Genişlemiş spektrumlu beta-laktamaz (GSBL) salgılayan mikroorganizmaların neden olduğu enfeksiyonlar yüksek fatalite oranlarına sahiptir. Bu çalışmada, kan kültüründe GSBL salgılayan *E.coli* ve *Klebsiella pneumoniae*'nin ürediği hastalardaki uygun olmayan başlangıç antibiyotik tedavisinin fatalite üzerindeki etkisini saptamayı amaçladık.

Materyal ve Yöntem: Ocak 2007 - Nisan 2010 tarihleri arasında Marmara Üniversitesi Hastanesi Mikrobiyoloji laboratuvarında, kan kültüründe GSBL salgılayan *E.coli* ve *K. pneumoniae* üreyen hastaların dahil edildiği retrospektif kohort çalışmasıdır. Fataliteyi etkileyen değişkenler olarak uygun antibiyotiğe geçiş günü, uygun olmayan antibiyotik kullanımı, son bir yıldaki hastane yatışları, Charlson komorbidite indeksi ve yoğun bakım ünitesinde yatış seçilmiştir. Farklı GSBL lerin tiplendirilmesinde polimeraz zincir reaksiyonu kullanıldı.

Bulgular: Çalışmaya GSBL salgılayan *E.coli* (n:76) ve *K. pneumoniae* (n:26) enfeksiyonu olan toplam 102 hasta dahil edilmiştir. Hastaların ortalama yaşı 54 tû ve %45'i kadındı. Malignite en sık görülen altta yatan hastalığı (%50).

İzolatlarda tespit edilen GSBL lerin oranı CTX-M için %72.8, TEM için %2.5, CTX-M+TEM için %21.9, CTX-M+SHV için %3.7 dir.

Tek değişkenli analizde, mortalite ile ilişkili predispozan faktörler olarak santral venöz katater varlığı, yoğun bakıma yatış, steroid kullanımı, idrar sondası varlığı, nötropeni, malignite varlığı ve mekanik ventilasyon uygulanması saptandı ($p<0.05$). Bir tanesi ölümcül olan iki karbapenem dirençli izolat saptandı. Hastaların %28.5'inde mortalite gözlemlendi. Lojistik regresyon analizinde, uygun antibiyotiğe geçişteki bir günlük gecikmenin (OR; 1.2, CI; 1.01-1.44) ve mekanik ventilasyon uygulanmasının (OR; 21.9, CI; 4.34-110) toplam fatalitenin önemli öngörülerini olduğu tespit edildi. Farklı GSBL lerin fatalite üzerine önemli bir etkisi yoktu.

Sonuç: Uygun antibiyotiğe zamanında geçiş GSBL enfeksiyonu olan hastalarda hayat kurtarıcı olabilir.

Anahtar sözcükler: GSBL, bakteremi, fatalite

ABSTRACT

Objective: Blood stream infections caused by extended-spectrum B-lactamase (ESBL)-producing organisms have a high case fatality rate. We aimed to determine the impact of inadequate initial antimicrobial treatment on fatality among the patients with blood stream infections caused by ESBL-producing *E.coli* and *Klebsiella pneumoniae*.

Methods: This is a retrospective cohort study performed between January 2007 and April 2010 in a University Hospital, by including all the bacteremic patients, who had infections with ESBL producing *E.coli* and *Klebsiella pneumoniae*. In multivariate analysis for the overall fatality, the predictors included to the model were days for switching to an appropriate antibiotic, inappropriate antibiotic use, hospitalization within a year, Charlson comorbidity index, and stay in intensive care unit (ICU). ESBL types were determined by polymerase chain reaction.

Results: In total, 102 bacteremic patients infected with ESBL producing *E.coli* (n=76) and *Klebsiella pneumoniae* (n=26) were included. The mean age of the patients was 54, and 45% was female. The proportion of ESBLs found among the isolates was 72.8% for CTX-M, 2.5% for TEM, 21.9% for CTX-M+TEM and 3.7% for CTX-M+SHV. Malignancy was the most common underlying disease (50%).

The mortality rate was found to be 28.5%. Two carbapenem resistant isolates were detected, one was fatal. In univariate analysis predisposing factors for mortality were found to be stay in ICU, steroid use, central venous catheter, foley catheter, neutropenia, malignancy and mechanic ventilation ($p < 0.05$). In multivariate analysis, one day delay for switching to an appropriate antibiotic (OR; 1.2, CI; 1.01-1.44) and mechanic ventilator (OR; 21.9, CI; 4.34-110) were detected as the significant predictors of the overall fatality. Different ESBLs had no particular impact on the fatality.

Conclusion: Timely switching to appropriate antibiotics could be life saving for ESBL infected patients.

Keywords: ESBL, bacteremia, fatality

İÇİNDEKİLER

Önsöz	i
Özet	ii
Abstract.....	iii
İçindekiler	iv
Simgeler ve Kısaltmalar	vi
Etik Kurul Onayı	vii
Giriş ve Amaç.....	1
Genel Bilgiler	2
Genişlemiş Spektrumlu Beta-Laktamazlar (GSBL)	2
GSBL Türleri	5
TEM Beta-Laktamazlar	5
SHV Beta-Laktamazlar	5
CTX-M Beta-Laktamazlar	6
OXA Beta-Laktamazlar	7
PER Beta-Laktamazlar	7
GSBL Epidemiyolojisi	8
GSBL Risk Faktörleri.....	9
GSBL Tanı Yöntemleri	10
GSBL Tarama Testleri	10
GSBL Doğrulama Testleri	11
Kombine Disk Yöntemi.....	11
Çift Disk Sinerji Yöntemi	12
E Test Yöntemi	13
Mikrodilüsyon Yöntemi	14
Üç Boyutlu Test.....	14
Vitek GSBL Testi	14
Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PZR)	14
GSBL Klinik Önemi	15
GSBL Tedavi Seçenekleri	16
Materyal ve Metod.....	19

Çalışma Grubu.....	19
Tanımlar	20
Bakteriyolojik Çalışmalar	20
Moleküler Çalışmalar	21
İstatistiksel Değerlendirmeler.....	22
Bulgular	23
Tartışma	30
Sonuç	34
GSBL Çalışması Hasta Formu	35
Charlson Komorbidite İndeksi	37
Kaynaklar	38

SİMGELER VE KISALTMALAR

- GSBL : Geniş spektrumlu Beta-laktamaz
GN : Gram negatif
CLSI : Clinical Laboratory Standards Institute
DM : Diabetes mellitus
HT : Hipertansiyon
KBY : Kronik böbrek yetmezliği
MİK : Minimum İnhibisyon Konsantrasyon
NCCLS : National Committee for Clinical Laboratory Standards
YBÜ : Yoğun Bakım Ünitesi
AMC : Amoksisilin-klavulonat
ATM : Aztreonam
CTX : Sefotaksim
CRO : Seftriakson
PZR : Polimeraz Zincir Reaksiyonu

ETİK KURUL ONAYI



MARMARA ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ ARAŞTIRMA DEĞERLENDİRME KOMİSYONU

Sayı :B.30.2.MAR.0.01.02/AEK/738
Konu :

04.11.2010

Sayın : Prof.Dr. Önder ERGÖNÜL

09.2010.0076 protokol nolu “ Geniş spektrumlu beta laktamaz (GSBL) salgılayan Escherichia coli ve Klebsiella pneumoniae enfeksiyonlarında fataliteyi belirleyen faktörler“ isimli projeniz Fakültemiz Araştırma,Değerlendirme Komisyonu tarafından incelenerek onaylanmıştır.

Prof. Dr. Hacer DİRESKENELİ
Marmara Üniversitesi Tıp Fakültesi
Araştırma Değerlendirme Komisyonu
Başkanı

GİRİŞ VE AMAÇ

Geniş spektrumlu beta-laktamaz salgılayan *Escherichia coli* ve *Klebsiella pneumoniae* enfeksiyonları son yıllarda sayıca artış göstermektedir. Plazmid aracılığıyla yayılan bu enzimlere sahip mikroorganizmalarla oluşan enfeksiyonlar yüksek tedavi başarısızlığına ve ölüm oranına sahiptir. Geniş spektrumlu beta-laktamaz üretebilen ajanlar çoklu antibiyotik direncine sahip olduklarından, özellikle uygun olmayan başlangıç antibiyotik seçilen durumlarda mortalitenin yüksek olduğu görülmektedir(1).

Geniş spektrumlu beta-laktamaz salgılayan *Escherichia coli* ve *Klebsiella pneumoniae* suşları, hem hastane kaynaklı, hem de toplumdan edinilmiş enfeksiyonların önemli bir kısmını oluşturmaktadır. Ürettikleri bu enzim sayesinde başta oksimino sefalosporinler olmak üzere birçok ilaca direnç geliştirmektedirler. Bu direncin oluşumunda özellikle CTX-M enzimi rol almakla birlikte, SHV ve TEM türevleri de sorumlu tutulmaktadır(2).

Kan kültüründe geniş spektrumlu beta-laktamaz salgılayan *E.coli* ve *K.pneumoniae* üreyen hastalarda mortalitenin artmasına sebep olan çeşitli faktörler bulunmaktadır. Hastanede yatış öyküsünün bulunması, uzun süre antibiyotik kullanılması, hastanın invaziv prosedürlere maruz kalması bu faktörlere örnek olarak verilebilir (2, 3). Özellikle hastanede yatış öyküsü olan hastalarda, yatış süresinin uzamasının mortaliteyi etkilediği belirtilmektedir. Ayrıca, hastalık etkenin saptanmasındaki gecikmeler uygun antibiyotik kullanımının gecikmesine ve bu da yine mortalitenin artmasına sebep olabilmektedir (3).

Bu çalışmanın amacı kan kültüründe GSBL salgılayan *E.coli* ve *K.pneumoniae* üreyen hastalarda başlanan ampirik antibiyotik tedavisini, ortalama ampirik antibiyotik başlama gününü ve ortalama antibiyotik değişikliğinin yapıldığı günü saptamaktır. Ayrıca geç antibiyotik değişikliğinin ve uygun olmayan başlangıç antibiyotik tedavisinin fatalite üzerindeki etkisini değerlendirmektir. Ek olarak GSBL salgılayan *E.coli* ve *K.pneumoniae* bakteremisi, uygun ampirik antibiyotik tedavisi ve tedavi sonucu arasındaki ilişkiyi göz önüne alıp, prognozu iyileştirmek için stratejiler geliştirmektir.

GENEL BİLGİLER

GENİŞLEMİŞ SPEKTRUMLU BETA-LAKTAMAZLAR (GSBL)

Sefotaksimın Avrupa’da kullanılmaya başlamasından kısa bir süre sonra, Almanya’da izole edilen bir *Klebsiella pneumoniae* suşunun oksimino-sefalosporinler olan sefotaksim, seftazidim ve seftriaksona direnç geliştirdiği ve bu direnç geninin transfer edilebildiği bildirildi(4). Bu enzimin klasik SHV-1 beta-laktamazın bir mutant formu olduğu anlaşıldı ve ‘SHV-2’ olarak tanımlandı. TEM ile ilişkili GSBL enzimleri ilk olarak 1984 yılında Fransa’da, sonra da 1988 yılında Amerika Birleşik Devletleri’nde görüldü. GSBL enzimleri yaklaşık 10 yıllık bir süre içinde tüm dünya için önemli bir sağlık sorunu haline geldi(5).

Genişlemiş spektrumlu beta-laktamazlar, mikrobiyolojik olarak oksimino sefalosporinleri hidrolize edebilen, klavulanik asit tarafından inhibe olabilen enzimler olarak tanımlanmaktadır(6).

Klasik GSBL’lerin adları plazmid ile kodlanan “Temoniera (TEM)”, “sulfhydryl variable (SHV)” ve “oxacillin (OXA)”den köken alır.

Çoğu GSBL, enterik Gram negatif bakterilerin klasik plazmid kökenli beta-laktamazları olan TEM-1, TEM-2 ve SHV-1’den köken alır. Köken alınan ana enzimin moleküler yapısındaki aminoasitlerden bir ila dördünün yerine farklı aminoasitlerin gelmesi sonucu GSBL oluşur(7).

Enzimin yapısında meydana gelen bu değişiklik, enzim-substrat ilişkisinin sağlandığı aktif bölgede yeni bir modellenmeye yol açarak geniş spektrumlu sefalosporinlerin ve aztreonamın da bu enzimlerin etki spektrumuna girmesini sağlamaktadır.

Beta-laktamazların temel olarak iki sınıflaması vardır: Ambler tarafından yapılan moleküler sınıflama ve Bush-Jacoby-Medeiros tarafından yapılan fonksiyonel sınıflama.

Yapısal özellikler ve evolüsyon açısından GSBL’ler 9 farklı grup içinde sınıflandırılmaktadır(8-11). Bu gruplar TEM, SHV, CTX-M, PER, VEB, GES/IBC, TLA, BES, ve OXA’dır. GSBL’lerin büyük çoğunluğu aktif bölgesinde bir serin molekülü içerir ve Ambler’in moleküler sınıflamasına göre A sınıfında yer alırlar(10).

Beta-laktamazların kimyasal özelliklerinin ön planda tutulduğu Bush-Medeiros-Jacoby sınıflamasında grup 2be, **2e ve 2d** de yer almaktadırlar(11). OXA grubu enzimler ise D moleküler sınıfında yer almaktadır. GSBL’ler klavulonik asit, tazobaktam ve daha az oranda

sulbaktam gibi beta-laktamaz inhibitörlerine değişken oranda duyarlıdırlar. Sefamisin türevi olan sefoksitin, sefotetan ve sefmetazol gibi antibiyotiklere ve imipenem, meropenem ya da ertapenem gibi karbapenem türlerine karşı etkili değildirler. Bu enzimler çoğunlukla bakteri suşları ve türleri arasında geçebilen büyük plazmidlerde kodlanmaktadır(6). Sefamisinlere etkili olmamaları, GSBL'leri AmpC tipi beta-laktamazlardan ayıran önemli karakteristik özellikleridir(6, 7).

Tablo 1. Beta-laktamazların sınıflandırılması(11)

Bush Jacoby Medeiros (1995)	Bush (1989)	Ambler (1980)	Richmond Sykes (1968-73)	Tercih edilen substrat	Klavulonik asit etkisi	Örnek enzimler
1	1	C	Ia, Ib, Id	Sefalosporinler	-	Gram negatif bakterilerdeki AmpC enzimleri MIR-1
2a	2a	A	-	Penisilinler	+	Gram pozitif bakterilerdeki penisilinazlar
2b	2b	A	III	Penisilinler Sefalosporinler	+	TEM-1 TEM-2 SHV-1
2be	2b'	A	-	Penisilinler Dar ve geniş spektrumlu sefalosporinler Monobaktamlar	+	TEM 3-26 SHV 2-6 K.oxytoca K1
2br	-	A	-	Penisilinler	+ -	TEM 30-36 TRC-1
2c	2c	A	II, V	Penisilinler Karbemisilin	+	PSE-1 PSE-3 PSE-4
2d	2d	D	V	Penisilinler Kloksasilin	+ -	OXA 1-11 PSE-2
2e	2e	A	Ic	Sefalosporinler	+	İndüklenebilir sefalosporinazlar (Proteus vulgaris)
2f	-	A	-	Penisilinler Sefalosporinler Karbapenemler	+	Sme-1 (Serratia marcescens)
3	3	B	-	Karbapenemler dahil bir çok beta-laktam	-	L1 (Stenotrophomonas maltophilia)
4	4	-	-	Penisilinler	-	Penisilinaz (Pseudomonas cepacia)

GSBL TÜRLERİ

TEM Beta-Laktamazlar

GSBL gelişiminden enzimin aktif bölgesinde bulunan bir aminoasidin konfüğürasyon değişikliği sorumludur. Bu değişiklik enzimin oksimino-beta-laktam grubu antibiyotiklere karşı direnç gelişimine neden olur. Enzimin 104, 164, 238 ve 240. pozisyonunda bulunan tek aminoasidin GSBL fenotipini belirleyicilik özelliğinin daha fazla olduğu tahmin edilmektedir. Bununla birlikte enzimin geniş spektrumlu antibiyotik etkinliği için birden fazla aminoasid konfüğürasyon değişikliği gerekmektedir. Farklı kombinasyon ve değişiklikler göz önünde bulundurulduğunda günümüzde sayıları her geçen gün artış gösteren TEM enzim türleriyle karşılaşılmaktadır. Bunların çok azı dışında genel olarak beta-laktam/beta-laktamaz enzim inhibitörlerine değişen oranlarda duyarlılık gösterdiği bilinmektedir. TEM-10, TEM-12 ve TEM-26 ABD’de bilinen en yaygın GSBL türleri arasındadır.

GSBL fenotipi gösteren ilk TEM türevi TEM-3’tür ve 1987 yılında bildirilmiştir(6, 12). TEM-1 gram-negatif bakterilerde en sık bulunan enzimdir ve ampisiline dirençli *E. coli*’lerin %90’ında dirençten bu enzim sorumludur. TEM-1 ve TEM-2 enzimleri sıklıkla transpozonlar tarafından kodlanan dar spektrumlu enzimlerdir; penisilin ve birinci kuşak sefalosporinleri hidroliz edebilirler. Ancak oksimino-sefalosporinlere karşı aktiviteleri yoktur. GSBL fenotipi oluşturma yönünden bazı aminoasid değişiklikleri daha önemlidir; 104. pozisyonda glutamat yerine lizin, 164. pozisyonda arjinin yerine serin veya histidin, 238. pozisyonda glisin yerine serin girmesi gibi. TEM grubu beta-laktamazlar *E.coli* ve *K.pneumoniae* başta olmak üzere *Enterobacter aerogenes*, *Morganella morganii*, *Proteus mirabilis* ve *Salmonella spp.* gibi *Enterobacteriaceae* üyelerinde sık bulunmaktadır. Nadir de olsa *P.aeruginosa*’da da bildirilmiştir(6, 9). Buna karşın TEM-4, TEM-21, TEM-24 ve TEM-42 *Pseudomonas aeruginosa*’da, TEM-17 *Capnocytophaga ochracea*’da bildirilmiştir.

SHV Beta-Laktamazlar

Bu grup enzimlerin öncüsü olan SHV-1 enzimi en sık *K.pneumoniae*’da bulunmaktadır. Genellikle de kromozomal bir enzimdir. Ampisilin, tikarsilin ve piperasiline direnç

oluşturmaktadır. Oksimino-sefalosporinlere karşı aktivitesi yoktur(12) . SHV türü enzimlerin ilk türevi 1983 yılında bulunmuş ve SHV-2 olarak tanımlanmıştır. TEM grubu GSBL'lere kıyasla SHV-1'den köken alan enzim sayısı ve aminoasid değişikliği olan pozisyonlar daha azdır. Bunlarda karakteristik değişiklik 238. pozisyonda glisin yerine serin girmesidir. Sayıları TEM kökenli enzimlerden daha az olmakla birlikte günden güne artış göstermektedir. SHV kökenli GSBL enzimleri başta Avrupa ülkeleri ve ABD olmak üzere dünyanın hemen her tarafında yaygındır. SHV-5 ve SHV-12 bilinen en yaygın GSBL türleridir. SHV grubu enzimler *K.pneumoniae*'dan başka *Citrobacter diversus*, *E.coli* ve *P.aeruginosa*'da bildirilmiştir (6).

CTX-M Beta-Laktamazlar

Bu enzimler isimlerinden de anlaşılacağı üzere, diğer oksimino beta-laktam grubu antibiyotiklere oranla sefotaksime karşı daha fazla aktivite gösteren enzimlerdir (6, 12). Az miktarda da seftazidimi hidroliz etmekle birlikte bu durum klinikte direnç yol açacak miktarda değildir. CTX-M türü beta-laktamazlar, bir mutasyonel değişiklikten ziyade, nadiren bir patojen olan ve daha çok kommensal bir bakteri olan *Kluyvera* türlerinin kromozomundaki bir beta-laktamaz genini içeren plazmidin alınması sonucu ortaya çıkar.

Sefalosporinleri hidroliz etme özellikleri de büyük olasılıkla enzimin omega halkasındaki ve beta ucundaki yapısal değişiklikler sonucudur(6, 12). Bu enzimlerin bir diğer özelliği de tazobaktamın CTX-M grubuna karşı inhibitör etkisinin klavulonik asite ve sulbaktama göre daha fazla olmasıdır. İlk CTX-M beta-laktamaz 1989 yılında Almanya'da *E.coli*'de bildirilmiştir. Daha sonra da *Salmonella spp.* başta olmak üzere birçok *Enterobacteriaceae* türünde saptanmıştır. Sayıları SHV'den daha az olmakla birlikte 40'dan fazla türünün olduğu bilinmektedir. SHV ve TEM enzimlerinden farklı olarak *Vibrio cholerae*, tifo dışı *Salmonella* ve *Shigella spp.* gibi toplumdaki enfeksiyon etkenlerinde de bildirilmektedir. Sefotaksim ve seftriaksonun toplumda yaygın kullanımının CTX-M enzimlerinin ortaya çıkışında rol oynadığı düşünülmektedir(13).

2004 yılına kadar sülfidril grubu beta-laktamaz enzimleri Macaristan'da *Klebsiella pneumoniae* suşlarında yaygın görülmekteydi. 2003 yılında Macaristan'da CTX-M-15 salgılayan *K. pneumoniae* klonu ortaya çıktı. Toplam 127 GSBL salgılayan *K.pneumoniae* izolatu Ulusal GSBL Referans Laboratuvarı'nda farklı 23 Macar hastanelerinden toplandı. 2005

yılından itibaren GSBL salgılayan *K. pneumoniae* klinik izolatlarında CTXM-15 türlerinde giderek bir artış olduğu görüldü.

OXA Beta-Laktamazlar

OXA beta-laktamazlar uzun süre sonra tanınmış olan ve daha az sıklıkla karşılaşılan enzimlerdir. Bunlar oksasilini hidrolize edebilir ve bunlarla ilişkili olan anti-stafilokoksik penisilinleri parçalarlar. OXA enzimidaki aminoasid yapıları ayrıca ESBL fenotipini belirler. OXA tipi GSBL'ler ilk olarak ülkemizden bildirilmiştir. Daha sonra Fransa'daki *Pseudomonas aeruginosa* suşlarında da görüldüğü bildirilmiştir(14)

OXA grubu enzimler Ambler grup D'de yer alan ve daha çok *P.aeruginosa*'da bulunan GSBL'lerdir. Bu enzimlerin OXA-1 den OXA-10'a kadar olanları dar spektrumlu olup substrat olarak oksasilin ve kloksasilini tercih ederler(6, 12, 15). TEM ve SHV'de olduğu gibi aminoasid dizilerindeki nokta mutasyonları sonucu oksiiimino-sefalosporinleri hidroliz edebilen geniş spektrumlu enzimler haline gelmişlerdir(15, 16). OXA-11, 14, 15 ve 16 seftazidim direncine yol açarken, OXA- 17 sefotaksime direnç oluşturmaktadır(6, 17). OXA-31 ise sefepime direnç oluştururken seftazidime duyarlıdır(17). OXA-24 ayrıca karbapenemaz aktivitesi göstermektedir. Fakat bu GSBL değildir.

PER Beta-Laktamazlar

Bu enzimlerden PER-1 ülkemizde önce *S.typhimurium*, takiben *P.aeruginosa* ve *A.baumannii* izolatlarında tanımlanmıştır(18-20). Yapılan epidemiyolojik çalışmalarda *P.aeruginosa* izolatlarının %10'u, *A.baumannii* izolatlarının % 40'ı bu enzimi taşıyarak seftazidime direnç göstermektedir(20). Bu bakterilerle nozokomiyal enfeksiyon geliştiren hastalarda, bakterinin PER-1 enzimini taşıyor olmasının mortalite açısından istatistiksel olarak anlamlı ölçüde belirleyici olduğu saptanmıştır(21). PER-1 ülkemiz dışında Fransa (Türkiye'den giden bir hastadan elde edilen bir izolatta) ve İtalya'da *P.aeruginosa* izolatlarında tanımlanmış ve Güney Kore'den bildirilen bir raporda *Acinetobacter* izolatlarının % 56'sında bulunduğu gösterilmiştir(6, 22). Bu grubun diğer üyesi PER-2 Arjantin'de *S.typhimurium* izolatlarında tanımlanmıştır(6). PER grubu enzimler özellikle seftazidim olmak üzere

aminotiazolil sefalosporinlere direnç sağlarlar(7). Penisilinler bu enzimler için zayıf birer substrat olup, piperasilin in-vitro olarak PER enzimlerine karşı aktivitesini korur. Beta-laktamaz inhibitörleri, sefamisinler ve karbapenemler de bu enzimlere karşı aktivite gösterirler.

GSBL EPİDEMİYOLOJİ

GSBL salgılayan *Enterobacteriaceae* dünyanın hemen her ülkesinden farklı oranlarda bildirilmektedir. Bunların çoğunluğu hastane kökenli izolatlar olmakla birlikte, özellikle son dönemlerde toplum kökenli izolatlara da rastlanmaktadır. GSBL salgılayan suşların sıklığı ülkeden ülkeye ve hastaneden hastaneye farklılık gösterebilmektedir (23).

Avrupa'da farklı ülkelerin yoğun bakımlarından elde edilen izolatlarda GSBL salgılayan *K. pneumoniae* suşları ortalama % 25 sıklığında saptanmıştır(24, 25). Bu oran ülkemizdeki izolatlarda %60'a varan oranlara çıkabilmektedir(24-31). GSBL salgılayan *E.coli* için bu rakam daha düşük olup, yaklaşık % 13-36 arasında rakamlar bildirilmiştir(26, 29, 30, 32). Bu rakamlar dünyanın farklı yöreleri arasında belirgin farklılıklar göstermektedir. Örneğin yapılan uluslararası bir çalışmada GSBL salgılayan *K. pneumoniae* en sık (% 45) Güney Amerika ülkelerinden bildirilmiştir. Aynı oran Güneydoğu Asya'da % 25, Avrupa ülkelerinde (%23), ABD'de % 8, Kanada'da ise % 5 olarak saptanmıştır. Geçen dekatın başında 12800 *E. coli* suşunda GSBL taşıyıcılığı da karşılaştırılmış ve oranlar Latin Amerika ülkelerinde %8.5, Batı Pasifik'de %7.9, Avrupa'da %5.3, Kanada'da %4.2 ve ABD'de %3.3 olarak bulunmuştur(23). 1998-2001 yılları arasında ABD'de yapılan geniş kapsamlı bir çalışmada yoğun bakım kökenli *K. pneumoniae* suşlarında seftazidim direnci %9.5, yoğun bakım dışından izole edilen suşlarda da %6.6 oranında saptanmıştır. *K.pneumoniae* suşuna bağlı birbirini izleyen 455 bakteremik atağın bildirildiği bir uluslar arası çalışmada, GSBL üretiminin %31 oranında olduğu ve bunların da %43.5'inin yoğun bakım ünitesinden kazanıldığı gösterilmiştir(33).

Bu izolatların bir üniteye yaygın olarak bulunması durumunda GSBL fenotipinin tek olabilme ihtimali daha yüksektir. GSBL enziminin bir üniteye görülmesi doğabilecek salgınlar açısından uyarıcı nitelik taşır. Salgınlar genellikle GSBL salgılayan bir suşun yayılımıyla olabileceği gibi, bazen de ilişkisiz suşlar arasında GSBL direnç plazmidinin kazanılması ve yayılması şeklinde gerçekleşir. Dirençli bir suş ya da plazmid çeşitli hastanelerde lokal yada geniş bir coğrafyayı etkileyebilecek şekilde tehdit oluşturabilir. Özellikle son zamanlarda

toplumsal sağlık merkezleri ve günlük bakım evlerinin GSBL salgılayan *E.coli* ve *K. pneumoniae* suşları açısından potansiyel bir tehlike oluşturabildiği ortaya konmuştur(34).

GSBL RİSK FAKTÖRLERİ

GSBL salgılayan suşlarla kolonizasyon ya da enfeksiyon gelişimi için bazı risk faktörleri tanımlanmıştır(33, 35, 36)

Bunlar:

- Yaş
- Hastanede bulunma süresi
- Yoğun bakımda kalış süresi
- Hastalığın şiddeti
- Santral venöz ya da arteriyel kateter varlığı
- Acil cerrahi girişim yks
- Gastrostomi, jejunostomi, nazogastrik tüp varlığı
- Barsak kolonizasyonu
- Total parenteral beslenme
- Düşük doğum ağırlığı
- Herhangi bir antibiyotiğin önceden uygulanmış olması
- Çeşitli sağlık kurumlarında daha önceden yatırılma ve tedavi yks
- Altta yatan ciddi hastalık
- Üriner kateter yks
- Ventilator desteği
- Dekbit lseri
- Hemodiyaliz yks

Sindirim sisteminin GSBL salgılayan *Enterobacteriaceae* bakterileri için önemli bir kaynak teşkil ettiği kabul edilmektedir(37).

GSBL TANI YÖNTEMLERİ

GSBL'ler genişlemiş spektrumlu sefalosporinleri parçalayan ve etkileri klavulonik asitle inhibe olan beta-laktamazlardır. Dolayısıyla hasta prognozu ve uygun tedavi seçimi için GSBL'lerin özel testlerle tanımlanması ve klinisyenin de bu enzimler hakkında bilgi sahibi olması gerekmektedir. Rutin testlerden bazı ipuçları elde edilebilir:

- Laboratuvarında etkilenen antibiyotiklerde azalmış duyarlılık GSBL göstergesi kabul edilir.
- Önerilen inokulumdan (5×10^5 bakteri/ml) daha yüksek bir inokulumda (5×10^7 bakteri/ml) MİK değerleri 100-500 kat yükselirse (inokulum etkisi) GSBL varlığını gösterir.
- Aztreonam ve 3. kuşak sefalosporinler için MIC ≥ 2 mg/L; seftazidim inhibisyon zon çapı ≤ 22 mm; aztreonam ve sefotaksim zon çaplarının ≤ 27 mm; seftriakson için ≤ 25 mm olduğu durumlarda GSBL doğrulama testi yapılmalıdır.
- Çoklu direnç özelliği (gentamisin ve SXT) GSBL için ipucu olabilir.

GSBL TARAMA TESTLERİ

Amerika'nın Klinik Laboratuvarlar için Standartları Belirleme Komitesi (Clinical Laboratory Standards Institute(CLSI)) önerilerine göre; disk difüzyon veya dilüsyon yöntemleriyle sefotaksim, seftriakson, seftazidim, aztreonam veya sefpodoksime karşı duyarlılığın azaldığının saptanması halinde doğrulama testleri uygulanmalıdır(38).

Tablo 2: GSBL'ler için tarama testi olarak önerilen inhibisyon zonu ve MİK değerleri (CLSI)

Antibiyotik	İnhibisyon zonu(mm)	MİK (mg/L)
Sefotaksim	≤ 27	≥ 2
Seftriakson	≤ 25	≥ 2
Seftazidim	≤ 22	≥ 2
Sefpodoksime	≤ 17	≥ 8
Aztreonam	≤ 27	≥ 2

GSBL DOĞRULAMA TESTLERİ

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

1. Kombine disk yöntemi
2. Çift disk sinerji yöntemi
3. E test yöntemi
4. Mikrodilüsyon yöntemi
5. Üç boyutlu test
6. Vitek GSBL testi
7. Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PZR)

Kombine Disk Yöntemi

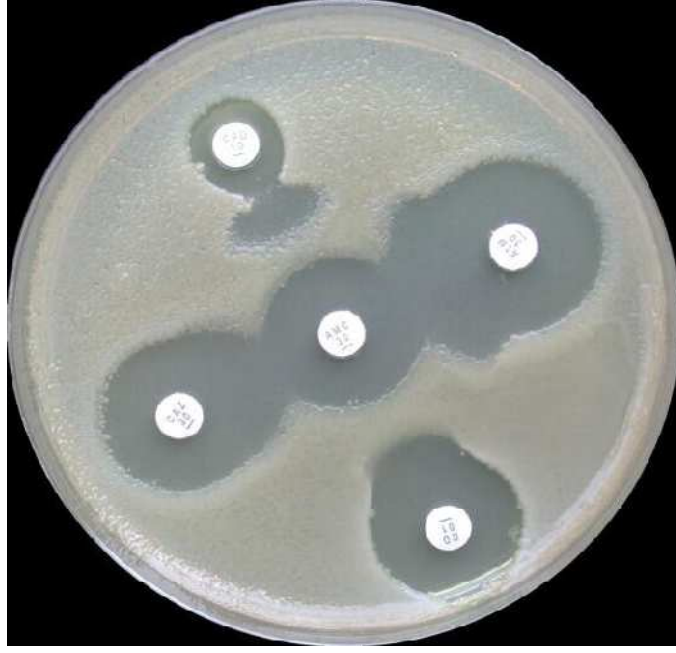
Sefotaksim (30mg) veya seftazidim (30mg) disklerine, 10mg klavulonik asit eklenir. McFarland 0,5 standardı yoğunluğunda olacak şekilde hazırlanan bakteri süspansiyonunun yayıldığı Mueller-Hinton Agar (MHA) plaklarına klavulonik asit içeren ve içermeyen sefotaksim ve seftazidim diskleri yerleştirilir. Bir gece 35°C'de inkübasyondan sonra klavulonik asit içeren ve içermeyen disklerin etrafındaki inhibisyon zonları ölçülerek karşılaştırılır. Kombinasyon diskleri etrafındaki zon, klavulonik asit içermeyen disk etrafındaki zona kıyasla ≥ 5 mm daha genişse izolat GSBL pozitif kabul edilir (Resim 1). Kombinasyon diski olarak 1 mg klavulonik asit içeren sefpodoksim (10mg) diskleri de kullanılabilir.



Resim 1. Kombine Disk Yöntemi

Çift Disk Sinerji Yöntemi

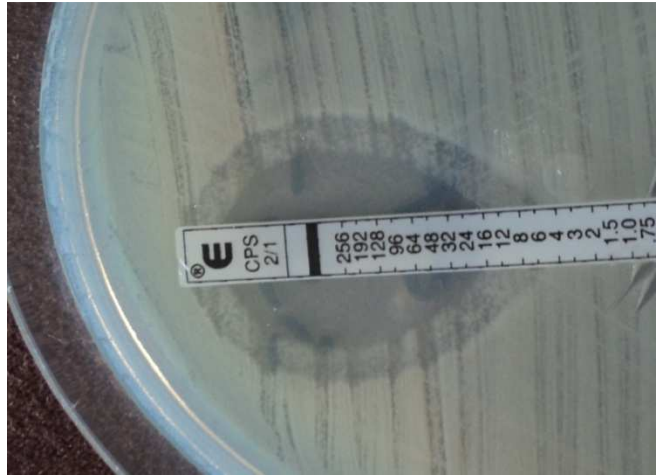
McFarland 0,5 standardı yoğunluğunda olacak şekilde hazırlanan bakteri süspansiyonu Mueller-Hinton Agar (MHA) plağına yayılır. Plağın ortasına bir amoksisilin-klavulonik asit diski (AMC 20/10mg) ile disk merkezleri arasındaki uzaklık 30 mm olacak şekilde seftazidim (CAZ), seftriakson (CRO) veya sefotaksim (CTX), aztreonam (ATM) veya sefpodoksim (POD) diskleri yerleştirilir. Bir gece 35°C'de inkübasyondan sonra sefalosporin veya ATM etrafındaki inhibisyon zonunun AMC diskine doğru genişlemesi veya arada bakterinin üremediği bir sinerji alanının bulunması GSBL varlığını gösterir (Resim 2).



Resim 2. Çift disk sinerji yöntemi

E Test Yöntemi

Test stripleri bir ucunda seftazidim (TZ), diğer ucunda seftazidim ve klavulonik asit (TZL) içerecek şekilde hazırlanmıştır. Disk difüzyon için bildirilen standartlarda hazırlanan plaklarda inkübasyondan sonra, eliptik inhibisyon zonunun stripi kestiği değer MİK değerini vermektedir. TZ ve TZL MİK değerleri birbirine oranlandığında MİK değerinde ≥ 8 kat fazla azalma olması GSBL varlığını gösterir (Resim 3). Benzer şekilde sefotaksim ve sefotaksim-klavulonik asit (CT-CTL) içeren E-test stripleri de bulunmaktadır. Özellikle CT-CTL striplerinde klavulonik asitin diğer tarafa da difüze olması nedeniyle stripin ortasında bir “fantom zon” görülebilmektedir. Bu zon GSBL göstergesi olarak kabul edilmektedir.



Resim 3. E test ile GSBL

Mikrodilüsyon Yöntemi

Sefotaksim ve seftazidim MİK değerleri, hem tek başına hem de klavulonik asit varlığında saptanır. Klavulonik asit varlığında MİK değerlerinde $\geq 3 \log_2$ (8 kat) azalma GSBL göstergesi olarak kabul edilir.

Üç Boyutlu Test

Test edilecek mikroorganizma agar yüzeyine yayıldıktan sonra agarda bir yarık açılır. Yarığın içi test edilecek mikroorganizmanın üretildiği sıvı besiyeri ile doldurulur. Antibiyotik diskleri bu yarıktan 3 mm uzak olacak şekilde dizilir. Yarığa bakan tarafta, inhibisyon zonunda bozulma, daralma pozitif olarak değerlendirilir. Rutin uygulamalarda fazla tercih edilen bir yöntem değildir.

Vitek GSBL Testi

Laboratuvarlar, Vitek kartlarını kullanırken GSBL salgılayan mikroorganizmaların minimum inhibisyon konsantrasyon değeri $< 8 \text{ mg/L}$ iken, mikroorganizmayı duyarlı olarak belirleyebilir. GSBL üretimini saptayan kartlar FDA tarafından onaylanmıştır. Vitek GSBL Testinde GSBL saptamasında sadece sefotaksim (0,5 mg/L) ve seftazidimin (0,5 mg/L) klavulanik asitle (4 mg/L) kombinasyonu kullanılır.

Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PZR)

SHV ve TEM tipi enzimlere spesifik oligonükleotid primerler kullanılarak beta-laktamaz genleri tespit edilir. Beta-laktamaz enziminin cinsini saptamak için kullanılan en kolay ve yaygın moleküler yöntem beta-laktamaz genine spesifik oligonükleotit primerlerle yapılan PZR yöntemidir. Ancak sekans analizi yapılmaksızın PZR, TEM ya da SHV varyantları arasında ayrımı sağlayamaz (6).

GSBL'LERİN KLİNİK ÖNEMİ

GSBL salgılayan bakterilerin klinikte neden olduğu sorunların başında bu enzimleri salgılayan bakterilerin yol açtığı direnç problemi gelmektedir. Bilindiği üzere bu enzimlerden birini sentezlediği saptanan gram negatif bakteriler tüm geniş spektrumlu sefalosporinler ve aztreonama karşı dirençli olabilirler(6, 15, 39). Diğer taraftan da bu enzimleri kodlayan plazmidler aynı zamanda pek çok beta-laktam dışı antibiyotiğe karşı da direnç yolu açabilen genetik materyal taşımaktadır. Dolayısıyla GSBL taşıyan bakterilerde başta aminoglikozidler olmak üzere kinolon, tetrasiklin, kloramfenikol ve trimetoprim/sülfometaksazol direnci de eş zamanlı olarak bulunabilmektedir.

Uzun süreli antibiyotik kullanımı, yoğun bakım ünitesinde yatma, altta yatan ciddi hastalığın olması, invaziv girişime maruz kalma, acil abdominal cerrahi, ventilatör kullanımı, intravasküler kateter kullanımı da GSBL salgılayan bakterilerde kolonizasyonu artırmaktadır(40).

GSBL salgılayan bir bakterinin sentezlediği enzimin farklı sefalosporinlere karşı afinitesinin değişik olması ve inokulum etkisi gibi nedenlerle üçüncü kuşak sefalosporinlere duyarlı gibi gözükabilir. Bu takdirde verilen üçüncü kuşak sefalosporin tedavisi başarısızlıkla sonuçlanabilir.

İnokulum etkisi: Bakteri yoğunluğunun arttığı durumlarda GSBL'nin in vitro koşullarda kullanılan yoğunluklarda hidrolize edemediği beta-laktamları inaktive etmesi şeklinde açıklanabilir.

GSBL salgılayan gram negatif mikroorganizmalar başlıca sepsis, üriner sistem enfeksiyonu ve solunum sistemi enfeksiyonları başta olmak üzere kateter enfeksiyonu, menenjit, kolanjit, batin içi abseye sebep olmaktadır. GSBL'nin gerektiği şekilde rapor edilmemesi nedeniyle klinisyenler konunun öneminin farkında olmamaktadırlar. Ayrıca GSBL'nin aynı veya farklı cins bakteriler ile taşınabilmesi hastanelerde özellikle yoğun bakım ünitelerinde salgınlara neden olabilir. GSBL salgılayan suşlarla gelişen enfeksiyonlarda komplikasyon riski ve mortalite oranı yüksektir(41). Özellikle uygun olmayan antibiyotik tedavisi tedavi başarısızlığına ve mortalitede artışa sebep olmaktadır(42).

TEDAVİ SEÇENEKLERİ

K.pneumoniae ve *E.coli* suşlarında yüksek düzeyde antibiyotik direnç mekanizmaları günümüzde hemen her hastanede sık karşılaşılan ciddi bir sorun haline gelmektedir. Özellikle hastane kökenli suşların birden fazla direnç mekanizmalarına sahip olmaları tedavi seçeneklerini büyük oranda kısıtlamaktadır. Bu bakteriler için en yaygın olduğu bilinen GSBL direnç türlerinin beraberinde diğer antibiyotik direnç mekanizmalarının da olabileceği unutulmamalıdır.

Bunun dışında dirençli bakterilerin yüksek oranda horizontal ve klonal yayılım potansiyelleri nedeniyle izolasyon önlemlerine ağırlık verilmelidir. Yoğun bakım ünitelerine bir başka hastaneden ya da yoğun bakım ünitesinden transfer edilen hastalar bu mikroorganizma salgınları açısından mutlaka değerlendirilmeli, taşıyıcılık yönünden araştırılmalıdır.

GSBL enfeksiyonlarının tedavisi konusunda randomize kontrollü insan çalışmaları bulunmamaktadır. Çalışmaların çoğu salgın esnasında küçük hasta gruplarına ait farklı tedavi seçeneklerini içeren derlemeler şeklinde hazırlanmıştır.

İn-vitro çalışmalar: GSBL salgılayan mikroorganizmaların oksimino beta-laktam grubu antibiyotik duyarlılıklarının değişken olduğunu, bazılarında duyarlı olabildiği halde bazı antibiyotiklere karşı direnç geliştirebildiklerini ortaya koymuştur. TEM ve SHV kökenli GSBL salgılayan bakteriler genellikle sefepim ve piperasilin-tazobaktama karşı duyarlı iken, bu duyarlılık inokülüm yoğunluğuna bağlı değişkenlik göstermektedir. İnokülüm yoğunluğu 10^5 iken bu antibiyotiklere karşı duyarlı olduğu saptanan bakterilerin, inokülüm yoğunluğunun 10^7 'ye çıkması durumunda duyarlılıklarında azalma görülmektedir(43). Bazı CTX-M ve OXA tipi GSBL enzimi salgılayan suşlar düşük inokülüm yoğunluğunda dahi sefepime karşı dirençlidirler.

Yalnızca GSBL salgılayan suşlar sefamisin türevi (sefoksitin, sefotetan ve sefmetazol) ve karbapenem grubu antibiyotiklere karşı duyarlıdır. İnokülüm yoğunluğu bunlarda çok az etki oluşturur(44). GSBL salgılayan izolatlar tipik olarak aminoglikozid ve kinolon gibi diğer ajanlara çok daha fazla oranda direnç geliştirmektedir. Bu ilişki yedi ülkeyi ilgilendiren farklı 12 hastaneden izole edilen GSBL salgılayan *K.pneumoniae* kaynaklı 85 bakteremi atağı esnasında belirlenmiştir(45). Tüm izolatlar imipenem ve meropeneme duyarlı bulunmuşlar,

ancak suşların %71'i gentamisine, %47'si piperasilin tazobaktama ve %20'si de siprofloksasine karşı dirençli bulunmuştur.

Beta-laktam / beta-laktamaz inhibitörleri: GSBL'ler genellikle klavulonik asit, sulbaktam ve tazobaktam ile inhibe olurlar. Bunların içinde GSBL'ye en etkilisi tazobaktamdır. İn vivo ve in vitro yapılan çalışmalarda beta-laktam/beta-laktamaz inhibitörlerinin GSBL salgılayan mikroorganizmalara karşı etkili olduğu gösterilmiştir. Ancak mikroorganizmalarda yüksek oranda beta-laktamaz (özellikle TEM-1) yapımı, birden fazla enzim bulunması, inhibitör dirençli beta-laktamaz (IRT) 'ların varlığı veya porin defekti olması gibi durumlarda etkisiz kalabilirler. AmpC indüklenebilir beta-laktamazlara beta-laktamaz inhibitörleri etkili değildir. Klavulonik asit beta-laktamaz indüksiyonuna neden olabilir. Bu durum Pseudomonas enfeksiyonlarında tikarsilin-klavulonik asit ile tedavi sırasında başarısızlığa neden olabilir. Ciddi sistemik enfeksiyonlarda beta-laktam/beta-laktamaz inhibitörlerinin aminoglikozitlerle birlikte kullanımı tedavi başarısını artırabilir(13).

Aminoglikozidler: Aminoglikozidler GSBL salgılayan mikroorganizmaların tedavisinde kullanılabilirler. Ancak GSBL taşıyan plazmidlerin aminoglikozid direnç genlerini de taşıyabilmesi olası olduğundan duyarlılık durumuna göre kullanılmalıdır. Ciddi enfeksiyonların tedavisinde aminoglikozidler in-vitro duyarlı bulunsa dahi tedavide başarısızlık olabileceğinden dolayı tek başına kullanılması önerilmemektedir(46). GSBL salgılayan suşlar sıklıkla aminoglikozidlere de dirençlidir(13, 47).

Kinolonlar: Beta-laktamazların beta-laktam antibiyotikler dışındaki antibiyotiklere etkisinin olmamasından dolayı, kinolonlar GSBL salgılayan mikroorganizmalarla gelişen enfeksiyonların tedavisinde kullanılacak antibiyotiklerdir. Özellikle antibiyotik baskısının arttığı durumlarda GSBL direnci ve kinolon direncinin birlikte görülme sıklığı artmaktadır. GSBL salgılayan suşlarda %10-40 arasında değişen kinolon direncinin görülmesi, kinolonların kullanımını kısıtlamaktadır(13, 47). Üriner enfeksiyonların tedavisinde in-vitro duyarlı bulunması durumunda GSBL salgılayan mikroorganizmaların tedavisinde kullanılabilir. Nozokomiyal pnömonide ve bakteremi olgularında da tercih edilebilir(48, 49).

Karbapenemler: Karbapenemler (imipenem, meropenem, ertapenem, doripenem) GSBL salgılayan mikroorganizmalarla gelişen enfeksiyonların tedavisinde ilk seçenek antibiyotiklerdir. İmipenem ya da meropenem tedavileri bakterilerin ortadan kaldırılması konusunda en iyi sonucu oluşturmaktadır. Her iki antibiyotik arasında tercih yapmak güçtür. Meropenemle yapılan çalışmalarda MİK düzeyi daha düşüktür. Ertapenem in-vitro olarak oldukça etkinlik gösterir. Ertapenemle ilgili yapılmış klinik çalışma sayısı azdır. Ancak Ertapenemin anti-psödomonal etkinliğinin olmaması nedeniyle, GSBL salgılayan *E.coli* ve *Klebsiella* suşlarında anti-psödomonal etkili beta-laktam/beta-laktamaz inhibitörlü ajanların gereksiz yere kullanımını önleyebileceğinden dolayı, bu bakterilerle oluşan enfeksiyonların tedavisinde ertapenem bir alternatif olarak göz önünde bulundurulmalıdır.

Karbapenem tedavisinin etkinliğini araştırmak için GSBL salgılayan *K.pneumoniae* kaynaklı 85 bakteremi olgusu incelendi. Karbapenem monoterapisi alan 27 hastada (24 imipenem, 3 meropenem) 14 gün içinde yalnızca bir olgu (%3.7) kaybedilmiştir. Aksine, bu mikroorganizmalara karşı etkinlik gösteren hiçbir antibiyotik kullanmayan 11 hastanın 7 (%64) ve sefalosporin veya piperasilin tazobaktam gibi bir beta-laktam/beta-laktamaz monoterapisi kullanan dokuz hastanın dördünde (%44) mortalite gelişmiştir(33). İmipenem tedavisi alan 10 hasta üzerinde yapılan bir başka çalışmada iki olgu kaybedilmiş, sekizinde tam kür elde edilmiştir(50).

Karbapenemler GSBL salgılayan mikroorganizmaların oluşturduğu enfeksiyonların tedavide tek başına kullanılabilirler. GSBL salgılayan bakteri enfeksiyonlarının tedavisinde kombine tedavinin karbapenem tedavisine üstünlüğü yoktur(13, 48, 49). Karbapenemlerin yaygın kullanımı sonucu porin değişikliğine bağlı direnç sıklığı *K. pneumoniae*, *Acinetobacter* spp, *Stenotrophomonas maltophilia* ve *Pseudomonas* spp.'de artmaktadır.

Tigesiklin: Birçok çalışmada tigesiklinin enterik gram negatif bakteriler üzerine olan etkinliğini araştırmıştır. Tigesiklinin GSBL salgılayan *C.freundii*, *E.cloacae*, *E.coli*, *Klebsiella oxytoca*, *K.pneumoniae* mikroorganizmalarının neden olduğu enfeksiyonların tedavisinde etkin olduğu gösterilmiştir(51). Tigesiklin ciddi enfeksiyonlarda kullanılacaksa, kan düzeyi düşük olduğundan MİK düzeyleri ölçülmelidir.

Kolistin: Uzun yıllardır kullanımda olmasına rağmen yan etki profili nedeniyle tercih edilmeyen bir ajandır. GSBL salgılayan *E.coli* ve *K.pneumoniae* 'nın neden olduğu enfeksiyonların tedavisinde %100 etkin olmasına karşın bunu araştıran klinik çalışma yoktur.

Effluks pompa sistemi ile karbapenem direnci geliştiren suşlar için uygulanabilecek tedavi seçenekleri arasında polimiksin B ve polimiksin E bulunmaktadır.

MATERYAL VE METOD

Çalışma Grubu

Ocak 2007 - Nisan 2010 tarihleri arasında Marmara Üniversitesi Hastanesi Mikrobiyoloji laboratuvarında, kan kültüründe GSBL salgılayan *E.coli* ve *K.pneumoniae* üreyen hastalar çalışmaya dahil edildi. Retrospektif kohort olarak düzenlenen çalışmada, hastaların dosyaları ve tıbbi kayıtlarından yaş, cinsiyet, aldığı antibiyotik tedavisi, antibiyotik duyarlılıkları, altta yatan hastalıkları (DM, malignite, HT, kalp yetmezliği vb.), son 1 yıldaki hastane ve yoğun bakım yatışları, uygun antibiyotik kullanımı, Charlson komorbidite indeksi öğrenilerek hasta kayıt formuna kaydedildi. Ayrıca hastaların operasyon öyküsü, nötropeni varlığı, kortikosteroid kullanımı, immünsüpresif ajan kullanımı göz önüne alındı. Ek olarak hastaların mekanik ventilasyon, santral venöz kateter, üriner kateterizasyon ve hemodiyaliz gibi verileri de hasta kayıt formuna işlendi.

Hastalardan kültür alınan tarih, ampirik antibiyotik başlama tarihi, ortalama olarak kaçınıcı günde antibiyotik modifikasyonu yapıldığı ve otuz günlük mortalite değerlendirildi. Geç antibiyotik tedavisinin mortalite üzerindeki etkisi araştırıldı. GSBL salgılayan suşların birden fazla izole edildiği durumlarda tespit edilen ilk ataktaki suş çalışmaya dahil edildi.

Ayrıca piperasilin/tazobaktam tedavisi alan 32 hastada ve sefaperazon/sulbaktam tedavisi alan 9 hastada bakteremi yapan ajanlarının MİK değerleri E test ile araştırıldı. MİK değerleri ile uygun tedavi arasındaki ilişki değerlendirildi.

Hastaların tedavi uygunluğu iki farklı şekilde incelendi. İlk analizde hastaların başlangıç antibiyotik tedavisi (kombine tedavide aminoglikozid veya kinolon duyarlığına bakılmaksızın) karbapenem ve/veya beta-laktam/beta-laktamaz inhibitörünün in-vitro duyarlı olması durumunda uygun tedavi olarak değerlendirildi. Oksimino-beta-laktamlar (sefotaksim,

seftriakson, seftazidim, ve aztreonam) MİK değerlerine bakılmaksızın uygun olmayan tedavi olarak kabul edildi. İkinci analizde ise, kombine tedavi alan hastaların oksimino-sefalosporinler hariç in-vitro etkili en az bir antibiyotik alıp almadığına bakıldı. İn-vitro etkili en az bir ajan kullanıyorsa uygun tedavi, kullanmıyor ise uygun olmayan tedavi olarak değerlendirildi.

Tanımlar

Bakteremi: Kan kültüründe mikroorganizmanın tespit edilmesidir.

Nötropeni: Nötrofil hücre sayısının < 500 olmasıdır.

Renal yetmezlik: Kreatinin değerinin > 2 mg\dl olması olarak tanımlandı.

Ampirik tedavi: Kan kültür ve duyarlılık sonucu bilinmeden antibiyotik tedavisinin başlanması olarak tanımlandı.

Nozokomiyal enfeksiyon: Hastaneye yatıştan 48 saat sonra gelişen enfeksiyon olarak tanımlandı.

Bakteriyolojik Çalışmalar

İzole edilen suşlar, konvansiyonel yöntemle rutin biyokimyasal testler kullanılarak tanımlandı. Çalışılan suşların antibiyotik duyarlılıkları CLSI önerileri doğrultusunda kombine disk yöntemiyle araştırıldı. İncelenecek bakteri steril saf su içerisinde 0.5% Mc Farland yoğunluğu elde edilecek şekilde sulandırıldı, hazırlanan bakteri süspansiyonu eküvyonla Müller-Hinton Agar besiyerine yayıldı. Bu amaçla seftazidim (30 µg), seftazidim/klavulanik asit (30/10 µg) ve sefotaksim (30 µg), sefotaksim/klavulanik asit (30/10 µg) diskleri aralarında en az 25'er mm olacak şekilde Müller-Hinton besiyeri üzerine yerleştirildi. 35 °C'de, 18 saatlik inkübasyondan sonra zon çapları ölçüldü. Klavulanik asitle sağlanan çaptaki > 5 mm'lik artış GSBL pozitif olarak değerlendirildi. Çalışmamızda GSBL varlığının değerlendirilmesinde pozitif kontrol suşu olarak *K.pneumoniae* ATCC700603, negatif kontrol suşu olarak *E.coli* ATCC25922 kullanıldı. Bakterilerin tanımlanması ve antibiyotik duyarlılıkları VİTEK otomatize sistemi ile yapıldı.

Moleküler Çalışmalar

Çalıştığımız kökenlerde *bla_{TEM}*, *bla_{SHV}* ve *bla_{CTX-M}* genlerinin varlığını araştırmak amacıyla polimeraz zincir reaksiyonu yapılmıştır. Polimeraz zincir reaksiyonu için kullanılan primerler ve reaksiyon şartları aşağıda belirtilmiştir.

1- *bla_{TEM}* Geni İçin

TEM-F: 5' – GAA GAC GAA AGG GCC TCG TG – 3'

TEM-R: 5' – GGT CTG ACA GTT ACC AAT GC – 3' (12)

Reaksiyon karışımı		Reaksiyon koşulları	
PCR Master Mix	25 µl		
TEM-F	3 µl	94 °C 30 sn	} 30 döngü
TEM-R	3 µl	52 °C 1 dak	
Distile su	14 µl	72 °C 1,5 dak	
DNA	5 µl	72 °C 10 dak	

2- *bla_{SHV}* Geni İçin

SHV-F: 5' – CGC CGG GTT ATT CTT ATT TGT CGC – 3'

SHV-R: 5' – TCT TTC CGA TGC CGC CGC CAG TCA – 3' (12)

Reaksiyon karışımı		Reaksiyon koşulları	
PCR Master Mix	25 µl		
SHV-F	3 µl	94 °C 45 sn	} 30 döngü
SHV-R	3 µl	65 °C 1 dak	
Distile su	14 µl	72 °C 3 dak	
DNA	5 µl	72 °C 10 dak	

3- *bla_{CTX-M}* Geni İçin

CTX-M-F: 5' – CGC TTT GCG ATG TGC AG – 3'

CTX-M-R: 5' – ACC GCG ATA TCG TTG GT – 3' (44)

Reaksiyon karışımı		Reaksiyon koşulları	
PCR Master Mix	25 µl		

CTX-M-F	3 µl	94 °C	1 dak	} 30 döngü
CTX-M-R	3 µl	54 °C	1 dak	
Distile su	14 µl	72 °C	2 dak	
DNA	5 µl	72 °C	10 dak	

İstatistiksel Değerlendirmeler

Tek değişkenli analizlerde, kategorik değişkenler için *ki-kare (x2) testi* veya *Fisher kesinleme testi*; sürekli değişkenler için *student t testi* kullanıldı. Çok değişkenli analiz ile bağımlı değişken olarak kabul edilen 30 gün fataliteyi belirlemesi muhtemel etkenler *cox tekniği* ile çalışıldı. Bağımsız değişken olarak, mekanik ventilasyon kullanımı, steroid kullanımı, son altı ayda hospitalizasyon, antibiyotik modifikasyon günü, Charlson komorbidite indeksi, kronik obstrüktif akciğer hastalığı varlığı modele dahil edildi. *P* değerinin 0,05'den küçük olması istatistiksel olarak anlamlı kabul edilmiştir. İstatistiksel analiz için STATA 11.0 (USA, Texas) programı kullanılmıştır.

BULGULAR

Çalışmaya dahil edilen 102 hastanın 46'sı kadın (%45), 56'sı erkekti (%55). Hastaların ortalama yaşı 55 ± 2.2 olarak saptandı (Tablo 3).

Tablo 3. Çalışmaya Dahil Edilen Hastaların Demografik Özellikleri

	Hasta sayısı=102 (%)
Yaş ortalaması	55 (sd:2)
Kadınlar	46 (45)
Servisler	
Dahiliye	40 (39.2)
Cerrahi	26 (25.4)
Acil	17 (16.6)
YB	19 (18.6)
Komorbiditeler	
Malignite	49 (50)
HT	39 (40.2)
DM	15 (15.4)
KAH	19 (19.5)
KBY	17 (17.5)
SVO	7 (7.2)
KOAH	10 (10.3)

Hastaların % 39.2'si dahiliye servisinde, % 18.6'sı yoğun bakım ünitelerinde, %25.4'ü cerrahi servislerde yatan hastalardı. İlk yardım ve acil servise başvuru esnasında alınan kan kültüründen GSBL salgılayan *E.coli* ve *K.pneumoniae* üreyen hastalar ise % 16.6 idi (Tablo 3).

Elli üç (%54) hastanın son 6 ay içerisinde hastaneye yatış hikayesi mevcuttu ve 56 (%57) hastanın operasyon hikayesi mevcuttu. Çalışmaya alınan hastaların 23'ü(%24) nötröpenikti ve 44 (%46) hastada santral venöz kateter mevcuttu. Hastaların 27'si (%28) kortikosteroid tedavisi, 28 (%29) kişi ise immünsüpresif tedavi almıştır. Hastaların % 89'unda son üç ay içinde antibiyotik kullanım hikayesi, %40'ında ise kinolon kullanım öyküsü vardı.

Yirmi iki (%22.4) hastada eş zamanlı alınan idrar kültüründe GSBL pozitif *E.coli* ve *K.pneumoniae* üremesi mevcuttu (Tablo 4).

Tablo 4. Çalışmaya Dahil Edilen Hastaların Bazı Özellikleri ve Risk Faktörleri

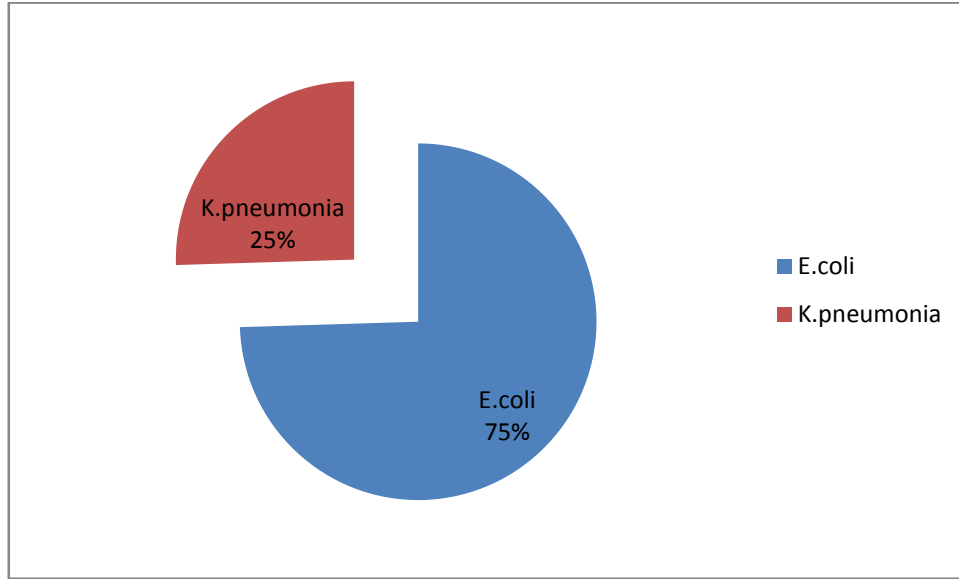
	Ölen olgular n=27 (%)	Sağ kalanlar n= 75 (%)	P
Ortalama yaş	52 (24)	55 (21)	0.523
Cinsiyet	14 (52)	28 (42)	0.407
Yoğun bakım yatışı	18 (67)	15 (23)	<0.001
Komorbiditeler			
HT	8 (29.6)	29 (42.6)	0.241
DM	3 (11.1)	10 (14.7)	0.646
KAH	6 (22.2)	13 (19.2)	0.733
KBY	5 (18.5)	12 (17.6)	0.920
SVO	2 (7.41)	5 (7.35)	0.993
KOAH	4 (14.8)	6 (8.82)	0.391
Malignite	18 (66.6)	31 (44.2)	0.048
Steroid kullanımı	17 (62.9)	10 (14.7)	<0.001
İmmünsüpresif ajan kullanımı	9(33.3)	18(26.8)	0.531
Son 6 ay içinde hastaneye yatış	15 (55.5)	36 (52.9)	0.818
Son 3 ay içinde antibiyotik kullanımı	24(88)	54(88)	0.960
Mekanik ventilasyon	18 (66.6)	8 (11.5)	0.000
Santral venöz katater	17 (62.9)	26(38.2)	0.029
Nötropeni	13 (48.1)	10 (14.7)	<0.001
İdrar sondası	18 (66.6)	17 (25)	<0.001

Hastaların %50'sinde malignite tanısı vardı, bunun %19.3'ünü hematolojik malignite oluşturuyordu. Hastaların %33'ünde ise enfeksiyon tanısı mevcuttu.

Altta yatan hastalıklara bakıldığında hipertansiyonu (HT) olanların %40.2 lik bir yüzdeye sahip olduğu, koroner arter hastalığı (KAH) olanların %19.5 lik, kronik böbrek yetmezliği (KBY) olanların %17.5 lik bir yüzdeye sahip olduğu bulundu. Diabetes mellitus

(DM) %15.4, kronik obstrüktif akciğer hastalığı (KOAH) ise %10.3 lük bir orana sahipti. Son olarak, serebrovasküler olay (SVO) geçiren hastaların %7.2 sini oluştururken, bu oran karaciğer yetmezliği olanlarda %2 olarak bulundu. Hastaların ortalama Charlson indeksi 3.62 ± 0.23 olarak saptandı.

102 GSBL salgılayan izolatın 76(%74.5)'sını *E.coli* ve 26 (%25.5)'sını *K.pneumoniae* oluşturuyordu (Şekil-1).

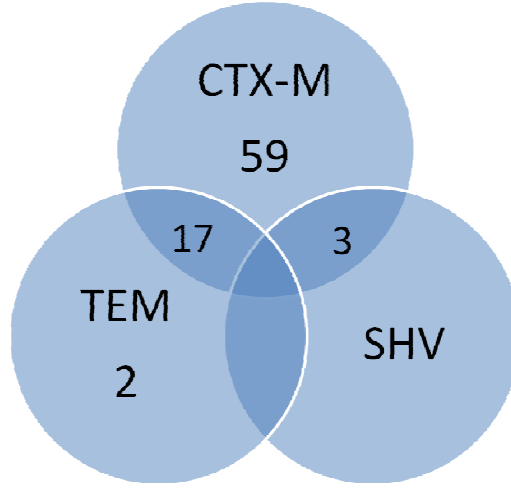


Şekil 1. Mikroorganizmaların dağılımı

GSBL'lerin tiplendirilmesinde polimeraz zincir reaksiyonu kullanıldı. 81 GSBL pozitif suş için yapılan PZR sonrasında 81 suştan 3'ünde *bla_{SHV}*, 19'unda *bla_{TEM}*, 79'unda *bla_{CTX-M}* geni saptanmıştır. Bunların 3'ünde *bla_{SHV} + bla_{CTX-M}*, 17'sinde *bla_{TEM} + bla_{CTX-M}* birlikte saptanmıştır (Tablo 5).

Tablo 5. GSBL tipleri

	Ölen olgular n= (%)	Sağ kalanlar n= (%)	P
CTX-M	25 (100)	53 (96)	0.334
SHV	2 (8)	1 (2)	0.177
TEM	6 (24)	13 (24)	0.972



Şekil 2–Kökenlerin dağılımı

Florokinolon direnci %84.4, Piperasilin/Tazobaktam direnci % 55.8, Gentamisin direnci % 51 olarak saptandı (Tablo 6). Biri ölümcül olmak üzere iki adet Karbapenem dirençli izolat tespit edildi.

Tablo 6. Antibiyotik Direnç Profilleri

Antibiyotikler	Ölen Olgular n= (%)	Sağ Kalanlar n= (%)	P
Ampisilin-Sulbaktam	0(0)	3(5)	0.24
Piperasillin- tazobaktam	13 (62)	24(55)	0.57
Seftriakson	12(92)	23(100)	0.17
Seftazidim	3(13)	2(4)	0.16
Gentamisin	13(50)	33(50)	1.00
Siprofloksasin	18(78)	55(87)	0.30
Imipenem	0 (0)	2(3)	0.42
Ertapenem	1(12)	2(12)	0.95

Hastaların hastanede ortalama kalış süreleri 23.5 gün olarak saptandı. Hastaların %34'ünün yoğun bakıma yatış gereksinimi doğdu. Yirmi altı (%27) hastanın mekanik ventilasyon ihtiyacı oldu.

Hastaların % 60'ına monoterapi, % 40'ına kombinasyon tedavisi verildi. En sık başlanan ampirik antibiyotik Piperasilin/Tazobaktamdı (%33) (tablo 7). Tedavi modifikasyonunda en çok tercih edilen ajan ise % 73.4 ile Karbapenemdi.

Tablo 7. Hastalara Başlanan Ampirik Antibiyotikler

Beta-laktam/Beta-laktamaz inhibitörü				
Ampisilin-Sulbaktam	Ölen Olgular		Sağ Kalan Olgular	
	Sayı (n)=25	Yüzde (%)	Sayı (n)=70	Yüzde (%)
Monoterapi	1	9.1	5	45.4
Kombinasyon tedavisi	1	9.1	4	36.4
Piperasillin-Tazobaktam				
Monoterapi	3	9.3	4	12.5
Kombinasyon tedavisi	9	28.2	16	50
Sefaperazon-Sulbaktam				
Monoterapi	0	0	8	88.9
Kombinasyon tedavisi	1	11.1	0	0
Sefalosporinler				
Sefepim				
Monoterapi	0	0	3	75
Kombinasyon tedavisi	0	0	1	25
Seftazidim				
Monoterapi	2	100	0	0
Kombinasyon tedavisi	0	0	0	0
Seftriakson				
Monoterapi	0	0	9	100
Kombinasyon tedavisi	0	0	0	0
Kinolonlar				
Siprofloksasin				
Monoterapi	1	25	3	75
Kombinasyon tedavisi	0	0	0	0
Moksifloksasin				

Monoterapi	2	40	3	60
Kombinasyon tedavisi	0	0	0	0
Karbapenemler				
<i>Meropenem</i>				
Monoterapi	1	16.6	5	83.4
Kombinasyon tedavisi	0	0	0	0
<i>İmipenem</i>				
Monoterapi	2	22.2	5	55.6
Kombinasyon tedavisi	2	22.2	0	0
<i>Ertapenem</i>				
Monoterapi	0	0	3	100
Kombinasyon tedavisi	0	0	0	0

Altmış üç (%61.7) hastanın nozokomiyal enfeksiyonu mevcuttu. Bu hastalardan 23'ü (%36.5) ex olmuştur.

Yirmi sekiz (%29) kişide çalışma sürecinde mortalite gözlemlendi. Başlangıç antibiyoterapisi uygun olmayan hastalarda uygun antibiyotiğe ortalama geçiş süresi 4.8 ± 0.5 gün olarak saptandı. Beş günden sonra antibiyotik tedavisi uygun antibiyotiğe modifiye edilen hastalarda fatalite, ilk beş gün içinde tedavisi uygun antibiyotiğe değiştirilen hastalara göre altı kat fazladır ($p=0.02$). Uygun antibiyotiğe geçişte ex olanlar ve ex olmayanlar arasında 30 günlük fatalitede fark saptanmazken, overall fatalitede istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmıştır ($p=0.005$).

Çalışmamızda 43 (%45.7) hastanın başlanan ampirik antibiyotik tedavisi in-vitro etkiliydi ve tedavileri uygun olarak değerlendirildi. Elli iki (%55.9) hastanın bakteremik ajanının aminoglikozid hassasiyeti mevcuttu ve 45 (%48.3) hastanın tedavisinde az bir in-vitro etkin ajan yer almaktaydı (Tablo 8).

Tablo 8. Ampirik tedavinin mortaliteye etkisinin iki farklı şekildeki analizi

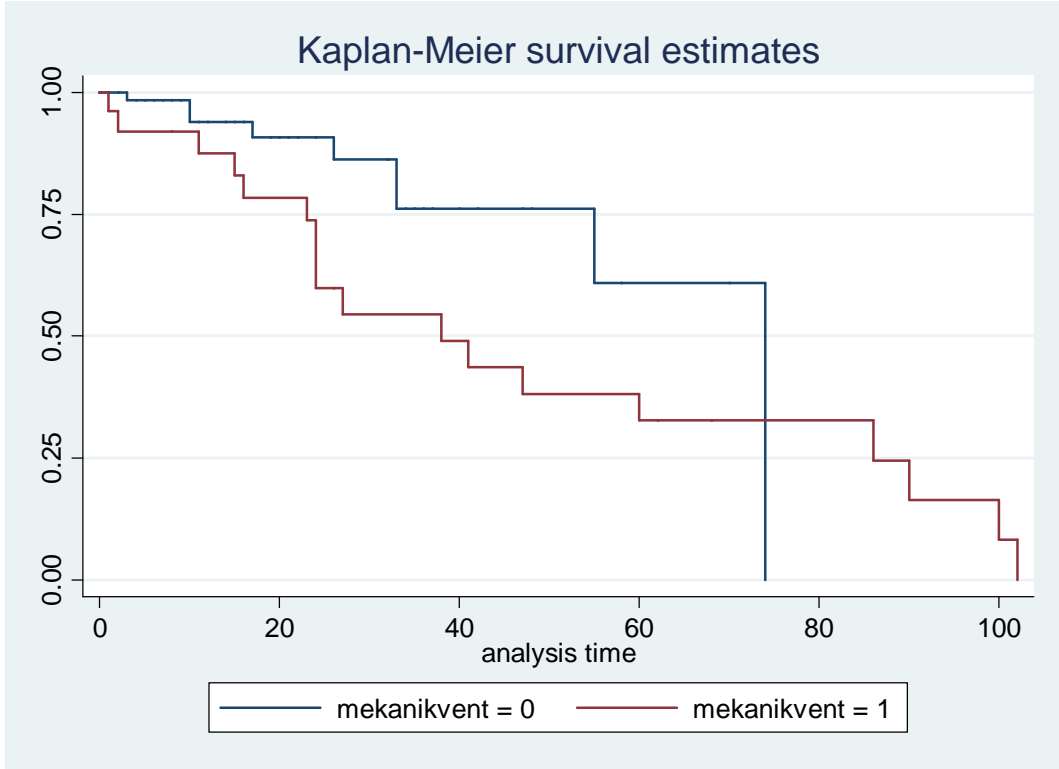
	Ölen Olgular		Sağ Kalan Olgular		P
	Sayı(n)=94	Yüzde(%)	Sayı(n)=94	Yüzde(%)	
In vitro etkili antibiyotik					0.501
Alan	10	10.6	33	35.2	
Almayan	15	16	36	38.2	
En az bir in vitro etkili antibiyotik					0.564
Alan	11	11.7	35	37.2	
Almayan	14	14.9	34	36.2	

Ampirik antibiyoterapi olarak Piperasilin/Tazobaktam başlanan 32 hastanın 12 (%37.5)' sinde mortalite gözlemlendi. Bu 12 hastanın altısında in-vitro duyarlılık sonuçları öğrenilir öğrenilmez tedavileri Karbapeneme değiştirilmişti. On sekiz (%18.3) hastaya ampirik olarak Karbapenem tedavisi başlanmıştı, bu hastalardan 5(%28)'i ex oldu.

Cox regresyon modeline yaş, cinsiyet, malignite, antibiyotiğe geçişte bir günlük gecikme, mekanik ventilasyon ve son 6 ayda hospitalizasyon alınmıştır. Yapılan analizde mekanik ventilasyon kullanımının mortaliteyi 14 kat (Hazard ratio: 14, p:0.01) arttırdığı bulunmuştur (Tablo 9)(Şekil-3).

Tablo 9. Risk Faktörlerinin Sağ Kalım Analizi ile Değerlendirilmesi

	Hazard Ratio	Güven Aralığı	P
Uygun antibiyotiğe geçişte bir günlük gecikme	0.9	0.76-1.30	0.98
Mekanik ventilasyon	14.7	1.73-125	0.01
Charlson	0.84	0.46-1.54	0.59
Yaş	1.04	0.95-1.13	0.32
Cinsiyet	2.91	0.52-16.11	0.22
Malignite	4.29	0.34-52.65	0.25
Son 6 ayda hospitalizasyon	2.70	0.34-21.32	0.34



Şekil-3. Kaplan-Meier eğrisi ile sağ kalım analizi

Yapılan lojistik regresyon analizinde uygun antibiyotiğe geçişteki bir günlük gecikmenin (OR; 1.2, CI;1.01-1.44, p;0.03), mekanik ventilatör kullanımının (OR;21.9, CI;4.34-110, p;<0.01) ve Charlson komorbidite endeksinin yüksek olması (OR;0.97, CI;0.68-1.37, p;0.867) mortalite üzerinde istatistiksel olarak anlamlı etkisinin olduğu görüldü.

TARTIŞMA

GSBL salgılayan suşlarla gelişen enfeksiyonlarda morbidite ve mortalite oranı artmaktadır. GSBL'nin laboratuvarında saptanamaması tedavide etkinlik göstermeyen antibiyotik seçimine neden olabilmekte ve bu duruma bağlı tedavi yanıtızlığı ortaya çıkabilmektedir. GSBL'ler klonal yayılım veya konjugatif plazmid ile diğer mikroorganizmalara direnci aktarabilmektedir(49). Uygun olmayan antibiyotik kullanımı ve hastane ortamındaki yayılım GSBL oranlarının dünya çapında artmasına neden olmaktadır.

Hastane kökenli *E.coli* suşlarında GSBL oranları Brezilya'da %19.6, Amerikada %5, Avrupa'da ise %13 olarak saptanmıştır(52). Tüm dünyada olduğu gibi ülkemizde de GSBL yaygınlığı ve antibiyotik direnci hızla artmaktadır. Ülkemizde yapılan çok merkezli HITIT-2 çalışmasında hastane kökenli *E.coli* suşlarında GSBL oranı %42, *K.pneumoniae* suşlarında ise GSBL oranı % 41.4 olarak bulunmuştur(53). Çalışmamızda ise hastane kökenli *E.coli* ve *K.pneumoniae* suşlarında GSBL oranı ise %61.7 idi.

GSBL salgılayan mikroorganizmalarla enfekte olan hastaların hastanede kalış süreleri uzun olup, tedavi maliyeti yüksektir. Çalışmamızda hastaların ortalama hastanede yatış süreleri 23.5 gündür.

GSBL salgılanmasında birbirinden bağımsız risk faktörlerinin olduğunu gösteren birçok çalışma yapılmıştır(1). Önceden antibiyotik kullanımı, hastane ve yoğun bakım ünitelerinde uzun süreli yatış, mekanik ventilasyon, operasyonlar, santral venöz katater varlığı, malignite, nötropeni, kemoterapi, yaş ve yanık bu risk faktörleri arasında sayılabilir. Çalışmamızda mortaliteye etkisi olan bağımsız risk faktörleri arasında mekanik ventilatör, steroid tedavisi almak, yoğun bakım ünitesinde yatış, nötropeni varlığı, santral venöz kateter, idrar sondası ve malignite yer alıyordu.

Hem hastane kökenli hem de toplum kökenli en sık görülen GSBL türü CTX-M dir (54, 55). Paterson ve arkadaşları, 7 ülkede yaptıkları GSBL salgılayan *K.pneumoniae'* nın neden olduğu kan dolaşımı enfeksiyonlarında, CTX-M tipi enzimlerin dünya çapında hızla yayıldığını ve *K. pneumoniae* enfeksiyonlarında önemli rolü olduğunu belirtmişlerdir(54). Çalışmamızda polimeraz zincir reaksiyonu ile GSBL türleri araştırılmıştır. Buna göre hastanemizde yaygın olan GSBL türünün CTX-M(%72.8) olduğu, CTX-M+TEM (%21.9), TEM(%2.5), ve CTX-M + SHV (%3.7) lik bir topluluğu oluşturduğu saptanmıştır.

GSBL salgılayan mikroorganizmaların sebep olduğu enfeksiyonların tedavileri güç olmakla birlikte bu enfeksiyonların tedavisinde seçilebilecek antibiyotikler sınırlıdır. GSBL salgılayan mikroorganizmalar bu enzimleri sayesinde birçok antibiyotiğe karşı dirençli hale geçmektedirler. Bu patojenler sefoksitin, beta-laktamaz inhibitörleri ve karbapenemlere duyarlı olarak kalmalarına rağmen penisilinler, birinci, ikinci, üçüncü kuşak sefalosporinler ve azteronama dirençli duruma geçmektedirler. GSBL salgılayan bakterilerin neden olduğu kan dolaşımı enfeksiyonlarında, karbapenemlere alternatif olabilecek tedavi seçenekleri hala tartışılmaktadır(56). Geniş spektrumlu beta-laktamaz üreten *K.pneumoniae* suşlarının neden

olduğu bakteremi veya sepsis olgularında karbapenemler dışındaki etkin antibiyotiklerle yapılan tedavilere rağmen mortalite oranı yüksek seyretmektedir. Bu yüzden GSBL salgılayan mikroorganizmaların oluşturduğu enfeksiyonların tedavisinde klinisyenler gerek ampirik gerekse profilaktik olarak yüksek maliyetli ve son seçenek tedavi olan karbapenem tedavisini tercih etmektedir. Ancak karbapenemlerin ampirik olarak yaygın kullanılması diğer nozokomiyal patojenlerde karbapenem direncinin artmasına neden olmuştur(57). Bizim çalışmamızda da biri ölümcül olmak üzere iki adet karbapenem dirençli mikroorganizma tespit edildi.

Kinolonlar GSBL salgılayan enfeksiyonların tedavisinde etkili olabilmektedirler. Bu nedenle ampirik tedavide kinolonlar, beta-laktam antibiyotikler kadar sık tercih edilmektedir. Babini ve Livermore, GSBL üreten yoğun bakım kökenli *Klebsiella* suşlarının antibiyotik duyarlılıklarını incelemiş ve dört yıllık bir dönemde bu suşlarda kinolon ve aminoglikozid direncinin iki-üç kat, piperasilin/tazobaktam direncinin ise yaklaşık iki kat arttığını göstermişlerdir. Bununla birlikte yüksek düzeyde dirençli suşların ortaya çıktığını; ayrıca karbapenem MİK'larının 2-4 µg/ml'lik üst sınır düzeylerine ulaştığını saptamışlardır(58). Bu sonuçlar, GSBL enfeksiyonlarında kullanılacak antibiyotiklerin etkinliğinde hızlı bir erozyon olduğunu göstermektedir. Ayrıca GSBL kodlayan genleri içeren plazmidler, eş zamanlı olarak çoklu direnç genlerini de içerebilmektedirler. Tüm bu faktörler GSBL ve kinolon direncinin hastalar arasında kolayca yayılmasına ve yaygınlaşmasına sebep olmuştur. Treccarichi ve arkadaşlarının İtalya'da yaptığı bir çalışmada GSBL salgılayan *E.coli* suşlarında kinolon direncini %92.3 bulmuştur(59). Çalışmamızda ise kinolon direnci % 84.4 olarak bulundu.

Bazı araştırmacılar GSBL salgılayan mikroorganizmalarla oluşan bakteremik olgularda karbapenem dışı antibiyotik tedavisinin karbapenem tedavisiyle karşılaştırıldığında mortalitenin daha yüksek olduğunu bildirmiştir(60, 61). Tumborello ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmanın sonucuna göre, GSBL salgılayan *K.pneumoniae*'nin etken olduğu bakteremik olgularda mortalitenin GSBL salgılamayan olgulara göre 2.6 kat daha yüksek olduğu belirtilmiştir(62). Kang ve arkadaşlarının yaptığı retrospektif bir çalışmada ise, GSBL salgılayan *Klebsiella pneumoniae* ve *E.coli* bakteremilerinde ampirik olarak başlanan sefalosporin tedavisinin uygun olmadığı bulunmuş fakat in-vitro test sonuçlarına göre tedavi modifikasyonu yapılan hastalarda mortalite açısından bir fark olmadığı bulunmuştur. Bu çalışmada florokinolon ve karbapenem etkin antibiyotik olarak tanımlanmıştır(63). Paterson

ve arkadaşlarının yaptığı çok merkezli prospektif bir çalışmada, GSBL salgılayan *Klebsiella pneumoniae* bakteremilerinde antibiyotik tercihinin çok önemli olduğu vurgulanmıştır. Bu çalışmada in-vitro etkili olan ajan ile tedavi ve ilk beş gün içinde karbapenem tedavisi alan hastalar karşılaştırılmış ve mortalitenin karbapenem grubunda istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde düşük olduğu saptanmıştır(33). Çalışmamızda ilk beş gün içinde uygun antibiyotik modifikasyonu yapılan hastalarda fatalitenin 6 kat azaldığı istatistiksel olarak gösterilmiştir($p=0.02$).

Tumbarello ve arkadaşları yaptıkları başka bir çalışmada, hastaneden kaynaklanan ve GSBL salgılayan *K.pneumoniae*'nin sebep olduğu bakteremik hastalar ($n=48$) ile kontrol grubunu ($n=99$) karşılaştırmışlardır. Başlangıçta uygun olmayan antibiyotik tedavisi alan grupta (sefalosporinler veya kinolon gibi) tedavi başarısızlığının daha yüksek (% 31'e karşı % 17), yine aynı grupta 21 günlük mortalitenin de daha fazla (% 52'ye karşı % 29) olduğunu saptamışlardır(1).

Gavin ve arkadaşları GSBL salgılayan *E.coli* ve *Klebsiella spp.* bakteremilerini araştırdıkları çok merkezli çalışmada piperasilin-tazobaktam MİK değerlerini değerlendirdi. Bu çalışmaya göre MİK değeri <16 mg/L olan ve üriner sistem dışı enfeksiyonu olan 11 hastanın 10'unda klinik başarı elde edilmiştir. MİK değeri >16 mg/L olan 5 hastanın 4'ü ex olmuştur, sadece birinde klinik başarı bildirilmiştir. Bu çalışma sonuçları in-vitro duyarlılık durumunda inhibitör kombinasyonlu antibiyotiklerin başarılı olabileceğini göstermektedir(64). Çalışmamızda retrospektif olarak incelenen hastalarda; piperasilin/tazobactam ve sefaperazon/sulbaktam alan hastalar ayrıca incelendi. Bu hastalarda neden olan mikroorganizmaların MİK değerleri E test ile saptandı. Piperasilin/tazobactam MİK değeri <16 mg/L olan 13 hastanın 10'unda klinik başarı elde edilmiştir. MİK değeri >16 mg/L olan 14 hastanın 7'si ex olmuştur. Sefaperazon/sulbaktam MİK değeri <16 mg/L olan 8 hastanın 9'unda klinik başarı elde edilmiştir. MİK değeri >16 mg/L olan 1 hastada ise yine klinik başarı elde edilmiştir. Çalışmamızın kısıtlayıcı noktalarından biri olgu sayısının azlığıdır. Öyle ki, ampirik piperasilin/tazobaktam ve sefaperazon/sulbaktam başlanan hasta sayısının azlığı nedeniyle MİK yüksekliği ve mortalite arasındaki ilişki istatistiksel açıdan anlamlı olarak gösterilememiştir.

SONUÇ

Sonuç olarak çalışmamızda GSBL salgılayan *E.coli* ve *K.pneumoniae* bakteremilerinde uygun olmayan tedavi verilen hastalarda mortalitenin yüksek olduğu saptanmıştır. Hastanelerde birçok hastaya antibiyotik tedavisi gerekmektedir. Ancak gereksiz ve yanlış antibiyotik kullanımının önlenmesi için politikalar geliştirilmelidir. Hastane hijyeni ve enfeksiyon kontrolü önlemlerine uyulması, bu konularda hastane personelinin eğitilmesi, rotasyonel veya siklik antibiyotik kullanımı, alınabilecek diğer önlemlerdir.

Mevcut bilgiler ışığında GSBL salgılayan suşlarla oluşan ciddi enfeksiyonların tedavisinde beta-laktam/beta-laktamaz inhibitörleri kullanılmamalı, eğer kullanılacaksa MİK değerleri göz önünde bulundurulmalıdır. Daha geniş hasta serilerinde MİK değeri ve tedavi yanıtı arasındaki ilişki incelenmelidir. Bu hasta grubunda uygun antibiyotiğe zamanında geçiş yapılması hayat kurtarıcı olabilir.

GSBL Çalışması Hasta Formu

Merkez: Hasta no: Yatak no: İsim: Yaş: Cinsiyeti: K E

Yatış tarihi: ___/___/___ Taburcu tarihi: ___/___/___ Kalış süresi: ___gün

APACHE II skoru _____ Yatış nedeni:

Son bir yıl içindeki hastaneye yatış sayısı _____ Yatışta enfeksiyon Var _____

Son 3 ay içinde operasyon Evet, cinsi _____ Açık yara Var Yok

Son durum: ___/___/___ Exitus Taburcu

Exitus ile bakteremi arasındaki gün sayısı (30 gün mortalite için): _____

E.coli Tarih ___/___/___
 DTA idrar kan Diğer _____

Klebsiella Tarih ___/___/___
 DTA idrar kan Diğer _____

Empirik Antibiyotik kullanımı:

Ceftazidim Seftriakson Diğer 3.jen sef. imipenem meropenem ertapenem
 Glikopeptid ciprofloks levofloksasin moxifloks Makrolid tigesiklin
 pip-tazo amikasin gentamisin _____

Bakteremi sırasında sırasında kullandığı antibiyotikler:

Ceftazidim Seftriakson Diğer 3.jen sef. imipenem meropenem ertapenem
 Glikopeptid ciprofloks levofloksasin moxifloks Makrolid tigesiklin
 Kolistin pip-tazo amikasin gentamisin _____

Acinetobacter klinik inf. etkeni kabul edildi ise en az 1 in-vitro etkili Ab alana dek geçen süre: ----- gün

İmmünsüpresif ajan kullanımı

Kortikosteroidler TNF blokörü Diğer_____

Hasta Transfer öyküsü

Diğer hastaneden transfer kamu özel

Hastane içi servislerden transfer

Komorbiditeler

kalp hastalığı DM Böbrek yetmezliği SVO
 pulmoner yetmezlik karaciğer yetmezliği KOAH Diğer_____

Alet kullanımı

Damar içi kateter Mekanik Ventilator idrar sondası

Tarih (gün/ay)	İmipenem	Meropenem	Sulperazon	Pip/tazo	Amikacin	Cipro	Colistin
J_ -	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>		<input type="checkbox"/>
J_ -	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>		<input type="checkbox"/>
J_ -	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>		<input type="checkbox"/>
J_ -	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>		<input type="checkbox"/>
J_ -	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>		<input type="checkbox"/>
J_ -	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>		<input type="checkbox"/>

Table 1. Clinical conditions, CCI-adapted ICD, 10th Revision. Rio de Janeiro, Southeastern Brazil, 2001–2003.

Condition	Weight	ICD-10	Description
Myocardial infarction	1	I21/I22/I25.2	Acute/Subsequent/Old myocardial infarction
Congestive heart failure	1	I50	Heart failure
Peripheral vascular diseases	1	I71	Aortic aneurysm and dissection
		I73	Other peripheral vascular diseases
		R02	Gangrene, nec
		Z958, Z959	Presence of cardiac and vascular implants and grafts
Cerebrovascular diseases	1	I60-I61	Subarachnoid or intracerebral hemorrhage
		I62	Other nontraumatic intracranial hemorrhage
		I63	Cerebral infarction
		I64	Stroke, not specified as hemorrhage or infarction
		I670	Dissection of cerebral arteries, nonruptured
		I676	Nonpyogenic thrombosis of intracranial venous system
		I678	Other specified cerebrovascular diseases
		I69	Sequelae of cerebrovascular disease
		G45	Transient cerebral ischemic attacks and related syndromes
		G46	Vascular syndromes of brain in cerebrovascular diseases
Dementia	1	F00-F03/F051	Mental disorders/Delirium superimposed on dementia
Chronic pulmonary disease	1	J40-J47	Chronic lower respiratory diseases
		J96.1	Chronic respiratory failure
		J84.1	Other interstitial pulmonary diseases with fibrosis
		I27.9	Pulmonary heart disease, unspecified
		J60-J65	Pneumoconiosis
		J66	Airway disease due to specific organic dust
		J67	Hypersensitivity pneumonitis due to organic dust
		J68	Respiratory conditions due to inhalation of chemicals, gases, fumes, vapors
Connective tissue disease	1	L93	Lupus erythematosus
		M32	Systemic lupus erythematosus
		M33	Dermatopolymyositis
		M34	Systemic sclerosis
		M05	Inflammatory polyarthropathies
		M06	Other rheumatoid arthritis
		M08	Juvenile arthritis
M35.3	Polymyalgia rheumatica		
Ulcer disease	1	K25/K26/K27/K28	Gastric/Duodenal/Peptic (site unspecified)/Gastrojejunal ulcer
Mild liver disease	1	K70/K74/K73	Alcoholic liver disease/Fibrosis and cirrhosis of liver/Chronic hepatitis nec
Diabetes	1	E10-E14	Diabetes mellitus, excluding subdivisions 2, 3, 4 e 5.
Diabetes w/end organ damage	2	E10-E14	Diabetes mellitus, subdivisions 2, 3, 4 e 5.
Hemiplegia or Paraplegia	2	G81/G82	Hemiplegia/Paraplegia and tetraplegia
Renal disease	2	N01/N03	Rapidly progressive nephritic syndrome/Chronic nephritic syndrome
		N18/N19	Chronic renal failure/Unspecified renal failure
		N25	Disorders from impaired renal tubular function
		N052-N056	Unspecified nephritic syndrome
		N072-N074	Hereditary nephropathy, nec
		N077-N079	Acquired nephropathy, nec
Any tumor, including leukemia and lymphoma	2	C00-C76	Malignant neoplasms
		C80	Malignant neoplasm without specification of site
		C81-C97	Malignant neoplasms, stated or presumed to be primary
Moderate or severe liver disease	3	K76.6/I85	Portal hypertension/Esophageal varices
Metastatic solid tumor	6	C77-C79	Secondary and unspecified malignant neoplasm
AIDS	6	B20, B22-B24	Human immunodeficiency virus [HIV]
AIDS + Any tumor, including leukemia and lymphoma	8	B21	[HIV]-related disease resulting in malignant neoplasms

nec: not elsewhere classified

KAYNAKLAR

1. Tumbarello M, Spanu T, Sanguinetti M, et al. Bloodstream infections caused by extended-spectrum-beta-lactamase-producing *Klebsiella pneumoniae*: risk factors, molecular epidemiology, and clinical outcome. *Antimicrob Agents Chemother* 2006;50:498-504
2. Tumbarello M, Sali M, Trecarichi EM, et al. Bloodstream infections caused by extended-spectrum-beta-lactamase-producing *Escherichia coli*: risk factors for inadequate initial antimicrobial therapy. *Antimicrob Agents Chemother* 2008;52:3244-3252
3. Bisson G, Fishman NO, Patel JB, Edelstein PH, Lautenbach E. Extended-spectrum beta-lactamase-producing *Escherichia coli* and *Klebsiella* species: risk factors for colonization and impact of antimicrobial formulary interventions on colonization prevalence. *Infect Control Hosp Epidemiol* 2002;23:254-260
4. Kliebe C, Nies BA, Meyer JF, Tolxdorff-Neutzling RM, Wiedemann B. Evolution of plasmid-coded resistance to broad-spectrum cephalosporins. *Antimicrob Agents Chemother* 1985;28:302-307
5. Canton R, Oliver A, Coque TM, Varela Mdel C, Perez-Diaz JC, Baquero F. Epidemiology of extended-spectrum beta-lactamase-producing *Enterobacter* isolates in a Spanish hospital during a 12-year period. *J Clin Microbiol* 2002;40:1237-1243
6. Bradford PA. Extended-spectrum beta-lactamases in the 21st century: characterization, epidemiology, and detection of this important resistance threat. *Clin Microbiol Rev* 2001;14:933-951
7. Livermore DM. Beta-lactamase-mediated resistance and opportunities for its control. *J Antimicrob Chemother* 1998;41 Suppl D:25-41
8. Gniadkowski M. Evolution and epidemiology of extended-spectrum beta-lactamases (ESBLs) and ESBL-producing microorganisms. *Clin Microbiol Infect* 2001;7:597-608
9. Weldhagen GF, Poirel L, Nordmann P. Ambler class A extended-spectrum beta-lactamases in *Pseudomonas aeruginosa*: novel developments and clinical impact. *Antimicrob Agents Chemother* 2003;47:2385-2392
10. Ambler RP. The structure of beta-lactamases. *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci* 1980;289:321-331

11. Bush K, Jacoby GA, Medeiros AA. A functional classification scheme for beta-lactamases and its correlation with molecular structure. *Antimicrob Agents Chemother* 1995;39:1211-1233
12. Sturenburg E, Mack D. Extended-spectrum beta-lactamases: implications for the clinical microbiology laboratory, therapy, and infection control. *J Infect* 2003;47:273-295
13. Bonnet R. Growing group of extended-spectrum beta-lactamases: the CTX-M enzymes. *Antimicrob Agents Chemother* 2004;48:1-14
14. Hall LM, Livermore DM, Gur D, Akova M, Akalin HE. OXA-11, an extended-spectrum variant of OXA-10 (PSE-2) beta-lactamase from *Pseudomonas aeruginosa*. *Antimicrob Agents Chemother* 1993;37:1637-1644
15. Livermore DM. beta-Lactamases in laboratory and clinical resistance. *Clin Microbiol Rev* 1995;8:557-584
16. Nordmann P, Guibert M. Extended-spectrum beta-lactamases in *Pseudomonas aeruginosa*. *J Antimicrob Chemother* 1998;42:128-131
17. Aubert D, Poirel L, Chevalier J, Leotard S, Pages JM, Nordmann P. Oxacillinase-mediated resistance to cefepime and susceptibility to ceftazidime in *Pseudomonas aeruginosa*. *Antimicrob Agents Chemother* 2001;45:1615-1620
18. Vahaboglu H, Dodanli S, Eroglu C, et al. Characterization of multiple-antibiotic-resistant *Salmonella typhimurium* strains: molecular epidemiology of PER-1-producing isolates and evidence for nosocomial plasmid exchange by a clone. *J Clin Microbiol* 1996;34:2942-2946
19. Vahaboglu H, Hall LM, Mulazimoglu L, Dodanli S, Yildirim I, Livermore DM. Resistance to extended-spectrum cephalosporins, caused by PER-1 beta-lactamase, in *Salmonella typhimurium* from Istanbul, Turkey. *J Med Microbiol* 1995;43:294-299
20. Vahaboglu H, Ozturk R, Aygun G, et al. Widespread detection of PER-1-type extended-spectrum beta-lactamases among nosocomial *Acinetobacter* and *Pseudomonas aeruginosa* isolates in Turkey: a nationwide multicenter study. *Antimicrob Agents Chemother* 1997;41:2265-2269
21. Vahaboglu H, Coskuncan F, Tansel O, et al. Clinical importance of extended-spectrum beta-lactamase (PER-1-type)-producing *Acinetobacter* spp. and *Pseudomonas aeruginosa* strains. *J Med Microbiol* 2001;50:642-645

22. Yong D, Shin JH, Kim S, et al. High prevalence of PER-1 extended-spectrum beta-lactamase-producing *Acinetobacter* spp. in Korea. *Antimicrob Agents Chemother* 2003;47:1749-1751
23. Winokur PL, Canton R, Casellas JM, Legakis N. Variations in the prevalence of strains expressing an extended-spectrum beta-lactamase phenotype and characterization of isolates from Europe, the Americas, and the Western Pacific region. *Clin Infect Dis* 2001;32 Suppl 2:S94-103
24. Babini GS, Livermore DM. Antimicrobial resistance amongst *Klebsiella* spp. collected from intensive care units in Southern and Western Europe in 1997-1998. *J Antimicrob Chemother* 2000;45:183-189
25. Livermore DM, Yuan M. Antibiotic resistance and production of extended-spectrum beta-lactamases amongst *Klebsiella* spp. from intensive care units in Europe. *J Antimicrob Chemother* 1996;38:409-424
26. Akata F, Tatman-Otkun M, Ozkan E, Tansel O, Otkun M, Tugrul M. Prevalence of extended-spectrum beta-lactamases produced by nosocomial isolates of Enterobacteriaceae in Trakya University Hospital, Turkey. *New Microbiol* 2003;26:257-262
27. Aktas E, Yigit N, Yazgi H, Ayyildiz A. Detection of antimicrobial resistance and extended-spectrum beta-lactamase production in *Klebsiella pneumoniae* strains from infected neonates. *J Int Med Res* 2002;30:445-448
28. Gulay Z, Thomson CJ, Yulug N, Amyes SG. High prevalence of extended spectrum beta-lactamase production among *Klebsiella pneumoniae* strains isolated at a University Hospital in Turkey. *J Chemother* 2000;12:145-152
29. Gunseren F, Mamikoglu L, Ozturk S, et al. A surveillance study of antimicrobial resistance of gram-negative bacteria isolated from intensive care units in eight hospitals in Turkey. *J Antimicrob Chemother* 1999;43:373-378
30. Kocazeybek BS. Antimicrobial resistance surveillance of gram-negative bacteria isolated from intensive care units of four different hospitals in Turkey. Evaluation of the prevalence of extended-spectrum and inducible beta-lactamases using different E-test strips and direct induction methods. *Chemotherapy* 2001;47:396-408
31. Koseoglu O, Kocagoz S, Gur D, Akova M. Nosocomial bloodstream infections in a Turkish university hospital: study of Gram-negative bacilli and their sensitivity patterns. *Int J Antimicrob Agents* 2001;17:477-481

32. Piroth L, Aube H, Doise JM, Vincent-Martin M. Spread of extended-spectrum beta-lactamase-producing *Klebsiella pneumoniae*: are beta-lactamase inhibitors of therapeutic value? *Clin Infect Dis* 1998;27:76-80
33. Paterson DL, Ko WC, Von Gottberg A, et al. International prospective study of *Klebsiella pneumoniae* bacteremia: implications of extended-spectrum beta-lactamase production in nosocomial Infections. *Ann Intern Med* 2004;140:26-32
34. Wiener J, Quinn JP, Bradford PA, et al. Multiple antibiotic-resistant *Klebsiella* and *Escherichia coli* in nursing homes. *JAMA* 1999;281:517-523
35. Jacoby GA. Epidemiology of extended-spectrum beta-lactamases. *Clin Infect Dis* 1998;27:81-83
36. Jacoby GA, Munoz-Price LS. The new beta-lactamases. *N Engl J Med* 2005;352:380-391
37. Lucet JC, Regnier B. [Enterobacteria producing extended spectrum beta-lactamases]. *Pathol Biol (Paris)* 1998;46:235-243
38. Wayne P. CLSI, performance standards for antimicrobial susceptibility testing: 15th informational supplement. CLSI document M100-S15.; 2005
39. Rupp ME, Fey PD. Extended spectrum beta-lactamase (ESBL)-producing Enterobacteriaceae: considerations for diagnosis, prevention and drug treatment. *Drugs* 2003;63:353-365
40. Lautenbach E, Patel JB, Bilker WB, Edelstein PH, Fishman NO. Extended-spectrum beta-lactamase-producing *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae*: risk factors for infection and impact of resistance on outcomes. *Clin Infect Dis* 2001;32:1162-1171
41. Ramphal R, Ambrose PG. Extended-spectrum beta-lactamases and clinical outcomes: current data. *Clin Infect Dis* 2006;42 Suppl 4:S164-172
42. Kang CI, Kim SH, Park WB, et al. Bloodstream infections due to extended-spectrum beta-lactamase-producing *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae*: risk factors for mortality and treatment outcome, with special emphasis on antimicrobial therapy. *Antimicrob Agents Chemother* 2004;48:4574-4581
43. Thomson KS, Moland ES. Cefepime, piperacillin-tazobactam, and the inoculum effect in tests with extended-spectrum beta-lactamase-producing Enterobacteriaceae. *Antimicrob Agents Chemother* 2001;45:3548-3554

44. Jacoby G, Han P, Tran J. Comparative in vitro activities of carbapenem L-749,345 and other antimicrobials against multiresistant gram-negative clinical pathogens. *Antimicrob Agents Chemother* 1997;41:1830-1831
45. Paterson DL, Ko WC, Von Gottberg A, et al. Antibiotic therapy for Klebsiella pneumoniae bacteremia: implications of production of extended-spectrum beta-lactamases. *Clin Infect Dis* 2004;39:31-37
46. Paterson DL. Recommendation for treatment of severe infections caused by Enterobacteriaceae producing extended-spectrum beta-lactamases (ESBLs). *Clin Microbiol Infect* 2000;6:460-463
47. Lautenbach E, Strom BL, Bilker WB, Patel JB, Edelstein PH, Fishman NO. Epidemiological investigation of fluoroquinolone resistance in infections due to extended-spectrum beta-lactamase-producing Escherichia coli and Klebsiella pneumoniae. *Clin Infect Dis* 2001;33:1288-1294
48. Paterson DL. Resistance in gram-negative bacteria: enterobacteriaceae. *Am J Med* 2006;119:S20-28; discussion S62-70
49. Perez F, Endimiani A, Hujer KM, Bonomo RA. The continuing challenge of ESBLs. *Curr Opin Pharmacol* 2007;7:459-469
50. Endimiani A, Luzzaro F, Perilli M, et al. Bacteremia due to Klebsiella pneumoniae isolates producing the TEM-52 extended-spectrum beta-lactamase: treatment outcome of patients receiving imipenem or ciprofloxacin. *Clin Infect Dis* 2004;38:243-251
51. Hope R, Warner M, Potz NA, Fagan EJ, James D, Livermore DM. Activity of tigecycline against ESBL-producing and AmpC-hyperproducing Enterobacteriaceae from south-east England. *J Antimicrob Chemother* 2006;58:1312-1314
52. Le J, Nguyen T, Okamoto M, McKamy S, Lieberman JM. Impact of empiric antibiotic use on development of infections caused by extended-spectrum beta-lactamase bacteria in a neonatal intensive care unit. *Pediatr Infect Dis J* 2008;27:314-318
53. Gur D, Hascelik G, Aydin N, et al. Antimicrobial resistance in gram-negative hospital isolates: results of the Turkish HITIT-2 Surveillance Study of 2007. *J Chemother* 2009;21:383-389
54. Paterson DL, Hujer KM, Hujer AM, et al. Extended-spectrum beta-lactamases in Klebsiella pneumoniae bloodstream isolates from seven countries: dominance and

widespread prevalence of SHV- and CTX-M-type beta-lactamases. *Antimicrob Agents Chemother* 2003;47:3554-3560

55. Pitout JD, Hanson ND, Church DL, Laupland KB. Population-based laboratory surveillance for *Escherichia coli*-producing extended-spectrum beta-lactamases: importance of community isolates with blaCTX-M genes. *Clin Infect Dis* 2004;38:1736-1741

56. Kim YK, Pai H, Lee HJ, et al. Bloodstream infections by extended-spectrum beta-lactamase-producing *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae* in children: epidemiology and clinical outcome. *Antimicrob Agents Chemother* 2002;46:1481-1491

57. Troillet N, Samore MH, Carmeli Y. Imipenem-resistant *Pseudomonas aeruginosa*: risk factors and antibiotic susceptibility patterns. *Clin Infect Dis* 1997;25:1094-1098

58. Babini GS, Yuan M, Hall LM, Livermore DM. Variable susceptibility to piperacillin/tazobactam amongst *Klebsiella* spp. with extended-spectrum beta-lactamases. *J Antimicrob Chemother* 2003;51:605-612

59. Trecarichi EM, Tumbarello M, Spanu T, et al. Incidence and clinical impact of extended-spectrum-beta-lactamase (ESBL) production and fluoroquinolone resistance in bloodstream infections caused by *Escherichia coli* in patients with hematological malignancies. *J Infect* 2009;58:299-307

60. Paterson DL, Ko WC, Von Gottberg A, et al. Outcome of cephalosporin treatment for serious infections due to apparently susceptible organisms producing extended-spectrum beta-lactamases: implications for the clinical microbiology laboratory. *J Clin Microbiol* 2001;39:2206-2212

61. Wong-Beringer A, Hindler J, Loeloff M, et al. Molecular correlation for the treatment outcomes in bloodstream infections caused by *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae* with reduced susceptibility to ceftazidime. *Clin Infect Dis* 2002;34:135-146

62. Tumbarello M, Sanguinetti M, Montuori E, et al. Predictors of mortality in patients with bloodstream infections caused by extended-spectrum-beta-lactamase-producing Enterobacteriaceae: importance of inadequate initial antimicrobial treatment. *Antimicrob Agents Chemother* 2007;51:1987-1994

63. Kang CI, Kim SH, Park WB, et al. Bloodstream infections caused by antibiotic-resistant gram-negative bacilli: risk factors for mortality and impact of inappropriate initial antimicrobial therapy on outcome. *Antimicrob Agents Chemother* 2005;49:760-766

64. Gavin PJ, Suseno MT, Thomson RB, Jr., et al. Clinical correlation of the CLSI susceptibility breakpoint for piperacillin- tazobactam against extended-spectrum-beta-lactamase-producing *Escherichia coli* and *Klebsiella* species. *Antimicrob Agents Chemother* 2006;50:2244-2247