

**T.C.
CUMHURİYET ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
MİKROBİYOLOJİ ANABİLİM DALI**

**CUMHURİYET ÜNİVERSİTESİ HASTANESİ'NDE YATAN
HASTALARDAN ALINAN KLİNİK ÖRNEKLERDEN İZOLE EDİLEN
GRAM NEGATİF BASİLLERDE GENİŞ SPEKTRUMLU BETA-
LAKTAMAZ ÜRETİMİNİN RETROSPEKTİF OLARAK ARAŞTIRILMASI**

Bio. Rakibe KAYGUSUZ

YÜKSEK LİSANS TEZİ

SİVAS
2010

**T.C.
CUMHURİYET ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
MİKROBİYOLOJİ ANABİLİM DALI**

**CUMHURİYET ÜNİVERSİTESİ HASTANESİ'NDE YATAN
HASTALARDAN ALINAN KLİNİK ÖRNEKLERDEN İZOLE EDİLEN
GRAM NEGATİF BASİLLERDE GENİŞ SPEKTRUMLU BETA-
LAKTAMAZ ÜRETİMİNİN RETROSPEKTİF OLARAK ARAŞTIRILMASI**

Bio. Rakibe KAYGUSUZ

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Danışman Öğretim Üyesi: Prof. Dr. M. Zahir BAKICI

SİVAS
2010

Bu tez Cumhuriyet Üniversitesi Senatosu'nun 24.09.2008 tarihli ve 007 sayılı toplantısında kabul edilen Fen/Sağlık Bilimleri Enstitüsü Lisansüstü Tez Yazım Kılavuzu adlı yönergeye göre hazırlanmıştır.

İÇİNDEKİLER

Sayfa

TEŞEKKÜR	iii
ÖZET	iv
İNGİLİZCE ÖZET	v
TABLolar	vi
1. GİRİŞ ve AMAÇ	1
2. GENELBİLGİLER	3
2.1. Beta laktamazların sınıflandırılması	3
2.2. Beta laktamazların biyolojik rolleri ve erken plazmid-geçişli beta laktamazlar	7
2.3. Klasik Genişletilmiş Spektrumlu Beta Laktamazlar: TEM ve SVH türevleri	7
2.3.1. Tedavi edici ve belirleyici konular	9
2.4. Diğer GSBL: K1 ve PER tipleri; hatta OXA türevleri	10
2.4.1. K1 tipleri	11
2.4.2. PER GSBL	13
2.4.3. OXA türevleri	14
3. GEREÇ VE YÖNTEM	15
4. BULGULAR	17
5. TARTIŞMA	22
6. SONUÇLAR	26
7. KAYNAKLAR	27

TEŞEKKÜR

Tezimin hazırlanması aşamasında her zaman desteğini ve yardımlarını benden esirgemeyen değerli hocam Prof. Dr. M. Zahir BAKICI'ya ve çalışma arkadaşlarıma ayrıca her zaman olduğu gibi tez yapım aşamasında da her konuda bana destek olan değerli eşime ve oğlumada sonsuz teşekkür ve saygılarımı sunarım.

ÖZET

Bu çalışmada, Cumhuriyet Üniversitesi Araştırma ve Uygulama Hastanesinde 2005-2006 yılları arasında yatan hastalardan alınıp rutin Mikrobiyoloji Laboratuvarına gönderilen klinik örneklerin kültürlerinden izole edilen *E.coli*, *Klebsiella pneumoniae* ve *Klebsiella oxytoca* gibi gram negatif bakteri türlerindeki GSBL üretimi retrospektif olarak araştırılmıştır.

İki yıllık periyot (2005 – 2006) içinde 2109 gram negatif bakteri türünde (*E.coli*, *K. pneumoniae*, *K. oxytoca*) Genişlemiş Spektrumlu Beta Laktamaz (GSBL) çalışılmıştır. Bunların 591'inde GSBL pozitif bulunmuştur. 2005'de 925 gram negatif bakteri türünden 273'ü (%30) GSBL pozitif idi. 2006'da 1184 gram negatif bakteri türünden 318'i (%27) GSBL pozitif idi. 2005 ve 2006 yılları arasında GSBL pozitif oranları arasında anlamlı bir fark bulunamamıştır ($p>0.05$).

2005 yılında 709 *E.coli* suşundan 211'inde (%30), 164 *K. pneumoniae* suşundan 44'ünde (%27) ve 52 *K. oxytoca* suşundan 18'inde (%35) GSBL pozitif bulunmuştur. 2006 yılında 831 *E. coli* suşundan 237'si (%29), 253 *K. pneumoniae* suşundan 54'ü (%21) ve 100 *K. oxytoca* suşundan 27'si (%27) GSBL pozitif bulunmuştur. GSBL pozitifliği açısından; 2005 ve 2006 yılları arasında *E.coli*, *K. pneumoniae* ve *K. oxytoca* oranlarında anlamlı bir fark bulunamamıştır ($p>0.05$).

Sonuç olarak 2005 ve 2006 yıllarında GSBL pozitif oranları açısından yıllara göre istatistiksel olarak anlamlı bir değişiklik olmamasına karşın, elde edilen oranlara bakılacak olursa GSBL pozitifliğinin halen hastanemiz için önemli bir problem olduğu görülmektedir.

SUMMARY

In this study, the production of ESBL retrospectively investigated in the Gram negative bacteria strains as *E.coli*, *Klebsiella pneumonia* and *Klebsiella oxytoca* isolated from different clinical specimens in the Microbiology laboratory, Cumhuriyet University Research and Practice Hospital in inpatients between 2005-2006 years.

2109 Gram negative bacterial strains (*E.coli*, *K. pneumoniae*, *K. oxytoca*) were investigated for extended-spectrum beta-lactamase in two-years period (2005-2006). The total number of ESBL positive producing strains was 591.273 of the 925 Gram negative bacteria strains (%30) had ESBL positive in the year 2005. 318 of the 1184 Gram negative bacteria strains (%27) had ESBL positive in the year 2006. There was no significant differences in the ratio of ESBL positive between the 2005 and 2006 years.

211 (30 %) strains of 709 *E.coli*, 44 (27 %) strains of 164 *K.pneumoniae* and 18 (35 %) strain of 52 *K.oxytoca* were found to be ESBL positive in the 2005 year. 237 (29 %) strains of 831 *E.coli*, 54 (21 %) strains of 253 *K.pneumoniae* and 27 (27 %) strain of 100 *K.oxytoca* were found to be ESBL positive in the 2006 year. In according to ESBL positive, there were no significant differences in the ratio of *E.coli*, *K.pneumoniae* and *K.oxytoca* between the 2005 and 2006 years.

In conclusion, Although there were no significant differences in the ratios of ESBL positive between the 2005 and 2006 years, ESBL positive has been seen as a problem our hospital because of high ratios of ESBL.

TABLÖLAR

Tablo 1: Beta laktamazların moleküler ve fonksiyonel sınıflaması.....	6
Tablo 2: Genişlemiş spektrumlu ve inhibitör-dirençli Beta laktamazların isimleri (sinonimleri).....	12
Tablo 3: Bazı Gram (-) basillerde GSBL (+) değerlerinin yıllara göre dağılımı	17
Tablo 4: Bazı örneklerden soyutlanan <i>E.coli</i> 'lerde GSBL pozitifliğinin yıllara göre dağılımı	18
Tablo 5: Bazı örneklerden soyutlanan <i>K. pneumoniae</i> 'larda GSBL pozitifliğinin yıllara göre dağılımı.....	20
Tablo 6: Bazı örneklerden soyutlanan <i>K. oxytoca</i> 'larda GSBL pozitifliğinin yıllara göre dağılımı	21

GİRİŞ VE AMAÇ

Hastane infeksiyonları gerek tedavi zorluğu gerekse yüksek mortalite ve morbiditeye sahip olmaları nedeniyle günümüz tıbbının en önemli sorunları arasında yer almaktadır (1). Hastane infeksiyonu etkenleri ve direnç profilleri ülkeler arasında, hastaneler arasında ve hatta aynı hastanenin değişik birimleri arasında bile farklılıklar gösterebilmektedir. Bu nedenle her hastane kendi florasını ve direnç profilini saptamalıdır. Bu, gerek hastane infeksiyonlarının kontrolü, gerekse ampirik antibiyotik seçimi açısından önemlidir. Son yıllarda antibiyotiklere karşı giderek artan direnç sorunu tüm dünyayı tehdit eder hale gelmiştir. Betalaktam antibiyotiklerini hidrolize eden ve inaktif hale getiren beta-laktamaz üretimi, başta Enterobacteriaceae üyeleri olmak üzere birçok bakteri türünün en önemli direnç mekanizmalarından birisidir. Sayıları 350' ye ulaşan beta-laktamazlardan yaklaşık 150 tanesi genişlemiş spektrumlu beta-laktamazlar (Extended Spektrum Beta Lactamases=ESBL) olup plazmidik özellikleri nedeniyle bakteriler arasında aktarılabirler (2,3).

Genişlemiş spektrumlu beta-laktamazlar (GSBL); sefotaksim, seftazidim, seftriakson gibi oksimino beta-laktamlara ve aztreonama direnç kazandıran ve genetik şifresi plazmid üzerinde taşınan enzimlerdir (4,5). İlk olarak 1983 yılında Avrupa'da *Klebsiella pneumoniae* kökenlerinde tanımlanan bu enzimler, daha sonra Enterobacteriaceae ailesinin diğer üyelerinde de gösterilmiştir (6,7) Hibridizasyon deneyleri ile GSBL'lerin TEM-1, TEM-2 ve SHV- 1 beta-laktamaz genlerinde meydana gelen basit nokta mutasyonları sonucunda ortaya çıktığı saptanmıştır (5). GSBL'ler, üçüncü kuşak sefalosporinleri ve aztreonamı hidrolize eder ve beta-laktam antibiyotiklerle tedaviyi güçleştirirler. GSBL'ler genellikle beta-laktamaz inhibitörleri ile hidrolize edilebilirler ve bu enzimler karbapenemlere (imipenem, meropenem), sefamisinlere (sefoksitin, moksalaktam) ve temosiline etkili değildir (6-10).GSBL üreten bakteriler rutin duyarlılık deneylerinde sefotaksim, seftriakson, seftazidim ve/veya aztreonama direnç görülmesi ile belirlenebilir. Ancak bazen GSBL oluşturan kökenlerle yapılan duyarlılık deneylerinde bu antibiyotiklere direnç saptanamaz ve bu durum klinikte tedavide başarısızlıklara yol açar (7,8).

GSBL üreten kökenlerin saptanmasında çift disk sinerji testi (ÇDST), E-test ve üç boyutlu test gibi değişik yöntemler kullanılabilir(11,12). GSBL üretimini saptamada en sık kullanılan yöntem ise, günlük uygulamaya yatkın ve üzerinde en fazla araştırma yapılmış olan ÇDST olup bu yöntemde beta-laktam ve beta-laktamaz inhibitörleri arasında sinerji varlığı araştırılır (13,14).

GSBL üreten bakterilerle infeksiyon riskini arttıran çeşitli faktörler; uzun süre hastanede yatış, yoğun bakım ünitesinde bulunma, idrar, venöz vb. kateter uygulamaları gibi çeşitli girişimler ve geniş spektrumlu beta-laktam antibiyotik kullanımı gibi faktörlerdir (15). GSBL üreten bakterilerin, hastane infeksiyonu etkeni olarak sıklıkları artmakta ve genellikle çoklu ilaç direncine sahip olduklarından tedavilerinde güçlüklerle karşılaşmaktadır (16,17). GSBL üreten kökenlerin penisilinler, sefalosporinler ve aztreonama dirençli oldukları halde rutin antibiyogramda duyarlı bulunabilmeleri ve bu antibiyotiklerin kullanıldığı tedavilerde sorunlarla karşılaşılması nedeniyle, bu enzim üretiminin gösterilmesinin gerekli olduğu bildirilmektedir (10).

Bu çalışmada, Cumhuriyet Üniversitesi Araştırma ve Uygulama Hastanesi'nin değişik servislerinde 2005-2006 yılları arasında yatan hastalardan alınıp rutin Mikrobiyoloji Laboratuvarına gönderilen klinik örneklerin kültürlerinden izole edilen gram negatif basillerde GSBL üretiminin retrospektif olarak araştırılması amaçlanmıştır.

GENEL BİLGİLER

Son yirmi yıl içinde; beta laktam antibiyotiklere karşı kendilerini korumayı sağlamaya çalışan gram negatif bakterilerin beta laktamaz ürünlerin tiplerinde major değişiklikler vardır. Beta laktamlara karşı oluşan bu değişiklikler iki yol ile sağlanır;

1- Yeni substrat veya laktamaz inhibitör etkileşimi ile yeni beta laktamaz ürünleri, 2- Multiple beta laktamaz ürünleridir. Sonuçta beta laktam terapiye tahmin edilenden daha az cevapla birlikte modern patojenlerin sayısında bir artış olur ve bazen bunların rutin antibiyotik duyarlılık testleriyle güvenilirliği gösterilemez. Yeni direnç tiplerinin belirlenmesinde laboratuvar yetersizlikleri enfekte hastaları risk altında bırakabilir ve enfeksiyon kontrolünün etkinliğini güçleştirir (18).

Geniş yayılım yeteneğine sahip ve potansiyel epidemik problemlere yol açan bazı yeni beta laktamazlar, kromozomal ve plazmid geçişli genlerin birbirleriyle yerlerini değiştirebilir. Nispeten bazı zayıf patojen beta laktamazlar diğer rezistans mekanizmalarıyla oluşturdukları sinerjik etki ile tahmin edilenden daha büyük etkiye sahip olabilirler. Şu anki eğilim rezistans mekanizmalarının çeşitliliği ile birlikte patojenlerin sayısında bir artış olduğu yönündedir. Bu da çoklu direnç sayısında, bazen de total direnç ve patojenlerin sayısında artışa yol açmaktadır (18).

Beta laktamazlardan 4 grup giderek önem kazanmaktadır. Bunlar;

- 1) Genişlemiş spektrumlu beta laktamazlar (GSBL)
- 2) Beta laktamaz inhibitörlerine hassasiyeti azalmış beta laktamazlar
- 3) Plazmid-geçişli AmpC beta laktamazlar
- 4) Karbapenem hidrolize eden beta laktamazlar

2.1. Beta laktamazların sınıflandırılması

Beta laktamazların sınıflandırılmasında bir çok sınıflama olmasına rağmen en yaygın kullanılan iki sınıflama vardır.

1- Ambler moleküler sınıflaması: teorik olarak rağbet gören bir sınıflamadır ancak klinik veya fonksiyonel önemi sınırlıdır. Bu yüzden 1989 da Bush fonksiyonel sınıflamasını önermiştir ve 1995 de genişletilmiştir (19-21).

Ambler sınıflaması moleküler seviyede geniş beta laktamaz grupları tanımlamaktadır (Tablo 1). Bu sınıflamanın klinik değeri sınırlıdır. Çünkü aminoasit zinciri ve substrat veya inhibitör profilleri arasındaki ilişki zayıftır ve tek bir aminoasit değişikliği ile dramatik olarak değiştirilebilir. Bu da amino asit analizlerinin klinik öneminin güvenli şekilde belirlenemeyeceği anlamına gelmektedir. Bu özellikle sınıf A beta laktamazlar için doğrudur (Tablo 1). Ambler sınıflamasının popülaritesi karakterize beta laktamazlarda düzenli tekniklerin kullanılmasıyla artırılmıştır. Kimyasal olarak, beta laktamazlar beta laktam antibiyotiklerin beta laktam halkasının hidrolizi için temel teşkil eden aktif alanda ya bir serin parçasına ya da bir çinko atomuna sahiptirler.

Ambler sınıflamasında serin beta laktamazlar 3 farklı subgruba ayrılmaktadır:

- 1- A (penisilinazlar)
- 2- C (sefolosporinazlar)
- 3- D (oksasilinazlar)

Klinik olarak en çok Sınıf A ve C'ye rastlanmaktadır.

Sınıf A beta laktamazlar: *Klepsiella* spp (*Klepsiella* spp'nin kromozomal olarak kodlanmış beta laktamazları), *Proteus vulgaris*, *Citrobacter koseri*, ençok *Bacteroides* spp olmak üzere birçok plasmid-geçişli penisilinazlar ve GSBL'ı içerir.

1- Sınıf A enzimler substrat profillerine ve beta laktamaz inhibitörlerine hassasiyetiyle ilgili olarak nispeten homojen bir yapıya sahip iken, inhibitör-etkisiz değişik varyasyonlarının keşfiyle bu grup beta laktamazlar fonksiyonel olarak değişik enzimleri olan bir gruba dönüştürülmüştür.

2- Sınıf C beta laktamazlar (AmpC) birçok gram negatif çubuklar tarafından kromozomal olarak oluşturulmaktadır. Sınıf C beta laktamazlar sıklıkla öncelikli olarak sefalosporinlerin hidrolizine ve şu anki mevcut beta laktamazlara dirençe neden olurlar.

3- Sınıf D beta laktamazlar Oxa beta laktamazları içerir. Oxa beta laktamazlar oxasisilini etkili biçimde hidrolize etme yeteneğine sahip tipik plasmid-geçişli penisilinazlardır ve genellikle çoğu sınıf A betalaktamazlarda olduğu gibi klavulanat tarafından iyi inhibe edilemezler. Sınıf B enzimler çinko içeriklidirler veya metallo beta laktamazlardır.

Klinik perspektif açısından ambler sınıflaması Bush fonksiyonel sınıflamasından daha az pratiktir. Bush sınıflaması daha kullanışlıdır. Çünkü bu sınıflama substrat profiline ve inhibisyon karakteristiklerine göre yapılmış olup, dört büyük gruptan oluşur. Ancak bilinen beta laktamaz tiplerini uygun biçimde yerleştirmek için alt grubları vardır (Tablo1).

Ana gruplar;

- 1- Sefalosporinazlar (Ambler sınıflaması C)
- 2- Klavulonat tarafından inhibe edilen penisilinazlar ve geniş spektrumlu beta laktamazlar (Ambler sınıflaması A ve D),
- 3) Metallo beta laktamazlar
- 4) Sınıflandırılmayan beta laktamazlar.

Tablo 1.Beta laktamazların moleküler ve fonksiyonel sınıflaması *

Moleküler sınıf (Ambler)	Fonksiyonel sınıf (Bush et al.)	Örnekler	Tercih edilen ürünler							İnhibisyon		
			PEN	CARB	OX	CR	CTX	ATM	IPM	CLAV	CLOX	EDTA
Serin β laktamazlar												
A	2a		+++	+	-	±	-	-	-	++	-	-
	2b	SHV-1, TEM-1	+++	+	+	++	-	-	-	++	-	-
	2be	K1, TEM-3, SHV-2, PER-1	+++	+	+	++	++	++	-	++	-	-
	2br	TEM-31	+++	+	+	+	-	-	-	-	-	-
	2c	PSE-1, BRO-1	++	+++	+	+	-	-	-	-	-	-
	2e		++	++	-	++	++	++	-	++	-	-
	2f	Sme-1,NMC-A,IMI-1	++	+	?	+	+	++	++	+	-	-
C	1	AmpC	++	+	-	+++	+	-	-	-	++	-
D	2d	OXA-1	++	+	+++	+	-	-	-	V	-	-
Belirlenemeyenler	4	AVS-1	++	++	++	V	V	-	-	-	-	-
Metallo β-laktamazlar												
B	3	IMP-1,S.maltophilic L-1(kromozomal)	++	++	++	++	++	-	++	-	-	++

Aktivite. +++;tercih edilen ürün, ++;iyi ürün, +;hidrolize, ±;minumum hidroliz, -;stabil, V;grupiçi değişiklik, ?;şüpheli, Ürünler. PEN; penisilin, CARB;karbenisilin, OX; oksasilin, CR; sefaloridin, CTX;sefotaksim, ATM;aztreonam, IPM;imipenem

İnhibisyon. ++;güçlü, +;orta, V;sınıfıçi inhibisyon değişikliği, -;önemsiz

*:Kaynak 19

2.2- Beta laktamazların biyolojik rolleri ve erken plazmid-geçişli beta laktamazlar

Antibiyotik dirençlerinin belirlenmesi için genelde beta laktamazlar kullanılır. Bakterilerin bir çoğu (cinse, türe ve alttüre göre) spesifik kromozomal beta laktamaz miktarını enaz bir dakikada ürettiği için antibiyotiğe rezistans oluşumunda sıklıkla yetersiz kalır (22). Bu da beta laktamazların hücreyi beta laktam ilaçlara karşı korumak gibi temel bir fonksiyona sahip olduğunu gösterir. Rezistans tipik olarak ya kromozomal beta laktamaz önemli bir miktara ulaştığında veya plazmidler veya transpozonlar tarafından kodlanmış beta laktamazlar organizma tarafından kazanılmış yada sekonder olarak oluşturulduğunda ortaya çıkar (23).

1980 lerden önce gram negatif beta laktamazlarla ilgili en yaygın problemlere TEM-1, TEM-2 ve SHV-1 gibi plazmid geçişli beta laktamazlar neden olurdu. Bu enzimler sefamisinler, oksiminosefalosporinler, monobaktamlar veya karbapenemler gibi “beta laktamaz stabil” ajanlara karşı önemli aktiviteleri olmayan geniş spektrumlu beta laktamazlardır. Bunlar genellikle *E. coli*, *Klebsiella pneumoniae*, Enterobacteriaceae ailesindeki diğer türler, ve daha az sıklıkla başka bakteri türleri tarafından meydana getirilirler. Bu enzimler temocillin dışındaki tüm gram pozitif penisilinlere ve bazende cephalothin ve cefaclor gibi ilk sefalosporinlere direnç oluştururlar.

Bu enzimlerin substrat profilleri özellikle isoxazolyl ve carboxy penicilinlerle (cloxacillin ve ticarcillin gibi) ilgili olarak bazı değişiklikleri ortaya koyarlar ve ticari olarak mevcut klavulanat, sulbaktam ve tazobaktam gibi beta laktamaz inhibitörler tarafından inhibe edilirler.

2.3-Klasik Genişletilmiş Spektrumlu Beta Laktamazlar: TEM ve SVH türevleri

Hidroliz için daha az hassas olan beta laktamaz inhibitörlerin ve ilaçların kullanılması, plazmid-geçişli beta laktamazların oluşturduğu patojenler tarafından meydana getirilen çoğu enfeksiyonların tedavisinde başlangıçta etkili terapötik yaklaşımlar sağladı. *Klebsiella* spp. ve *E. coli*’nin Avrupa da 1980 lerin başında izole edilen bazı türlerinde sefotaksim başta olmak üzere, daha yeni sefalosporinlere ve aztreonama karşı klinik olarak direnç geliştiği bulundu. Bu durum oldukça süprizdi.

Direnç; cefotaxime, ceftriaxone, ceftazidime, ceftizoxime, cefepime, cefpirome ve aztreonam gibi ilave ilaçların ürün profillerine kadar uzanan TEM-1, TEM-2 ve SHV-1 beta laktamazların aktif bölgesindeki amino asitlerin yer değiştirmeleriyle meydana gelir (24,25). Onlardan türetilen esas enzimler gibi GSBL'ların çoğu beta laktamaz inhibitörlerine oldukça hassastırlar. Yine de çoğu GSBL ürün türleri, beta laktam co-drugların hidrolizine izin vermeyen geniş miktardaki beta laktamaz ürünleri (ya GSBL yada diğer beta laktamazlar) sayesinde inhibitör kombinasyonlu beta laktamlara direçlidir.

Şimdiki bazı nadir GSBL lar atipik sustrat veya inhibitor profilleri göstermektedir. Bu enzimler beta laktamazlar için yeni bir evrimsel yönün devamını göstermektedir. Örneğin bazı GSBL lar daha büyük inhibitör dirence (TEM-50, TEM-AQ) veya beta metoksi bileşenleri, moksalaktam ve sefotetan (TEM-52) gibi geleneksel stabil ajanlara karşı nadiren hidrolitik aktiviteye sahiptir. Bu enzimler gelecekteki tanı ve tedavinin önceden habercisidirler (26-28).

Şu anda TEM-1 ve TEM-2 nin 70, SHV-1 in 20 türü vardır. Bu enzimlerin çoğu GSBLdır. Fakat geniş olmayan bir ürün profili ve beta laktamaz inhibitörlerine hassasiyeti azalmış olan bazı enzimler ise GSBL değildir.

Dünya çapında tanımı yapılan GSBL nin TEM ve SHV türlerinde ve *Morganella morganii*, *Serratia marcescens*, *Shigella dysenteriae*, Enterobacterin birkaç türü, *Salmonella*, *Proteus* ve *Citrobacter*'i içeren diğer organizmalarda Plazmid-geçişli yayılım gösterildi (4,29). Hatta onların Enterobacteriaceae ailesinin ötesinde *Pseudomonas aeruginosa* (TEM-4, TEM-42, SHV-2a), *Burkholderia cepacia* ve *Capnocytophaga ochracea*nın (TEM-15) bazı nadir Fransız izolatlarına da yayıldığı rapor edilmektedir (30,31). GSBL'lardaki değişikliklerin coğrafi bölgelere göre belirgin farklılık göstermesi muhtemelen antibiyotik reçetelerindeki lokal tercihlere bağlı olmakla beraber, mevcut bilgilerde farklı ülkelerdeki mikrobiyologların bu konu üzerindeki itina ve titizlikle çalışmalarını yansıtmaktadır.

2.3.1- Tedavi edici ve belirleyici konular

TEM ve SHV türevi enzimler GSBL olup, bununla ilgili terapötik ve belirleyici konular hususunda da yeterli deneyimler vardır. Bu GSBL larla ilgili deneyimine dayanarak, karbapenemler GSBL üreten organizmaların neden olduğu enfeksiyonun tedavisinde oldukça etkili ajanlardır. GSBL üreten organizmalar sefamisin ve moksalaktam gibi alfa metoksi beta laktamlara da çoğunlukla hassastırlar. Fakat bu ajanların etkinliği hakkında birkaç klinik bilgi vardır. Bazı alanlarda flurokinolonlar GSBL üreten izolatlar karşı aktif kalırlar (32).

Sefalosporin ve aztreonam tedavileri tartışmalıdır. Bu ajanlarla ilgili tedavi ve yetersizliğin her ikisinde rapor edilmiştir. Bunun sebepleri alınan doz, GSBL'ın miktarı ve tipi (ve diğer beta laktamazlar), organizma ve enfeksiyon alanı olabilir. Bazen in vitro duyarlılık testleri bu ajanlarla yanıltıcı sonuçlar verebilir (32,33) ABD de, National Committee of Clinical Laboratory Standards (NCCLS) *Klebsiella* spp. ve *E. coli*'nin GSBL üreten tüm izolatlarının tüm penisilinlere, sefalosporinlere ve aztreonama direnç geliştirdiğini rapor etmişlerdir (34). Bazı izolatlar beta laktam ilaç/beta laktamaz inhibitör kombinasyonuna in vitro duyarlılık gösterirler, fakat enfekte alanda eğer yüksek bir inokulum varsa in vivo etki şüpheli olabilir (35).

Klinik laboratuvarlarda GSBL'ı belirlemek için iki ana yaklaşım kullanılmaktadır.

1- Birincisi cefotaxime, ceftriaxone, ceftazidime, cefpodoxime, cefepime veya aztreonam gibi indikatör ilaçlara azalan duyarlılıktan dolayı rutin duyarlılık sonuçları taranır. Bunun için cefpodoxime, *K. Pneumoniae* ve *E. coli* için en hassas indikatör ajandır (26,34,36). Bu yöntem faydalı olmasına rağmen, bu tarama, pozitif bir tarama için gereken GSBL'nin eşik seviyesini aşmada bazı başarısızlıklardan dolayı bir kusura sahiptir (37).

2- İkinci yaklaşımda indikatör ilaçların indirekt olarak hidrolizini belirleyen daha spesifik testler kullanılır. Bu testlerin çoğu bir GSBL üreten izolata karşı bir indikatör ilacın aktivitesini, bir beta laktamaz inhibitörün güçlendirdiği çift disk testi temeline dayanır. Bu yaklaşım GSBL üretimini ya tarama için ya da doğrulamak için kullanılır(33,34,38). Çift disk test organizmalardan dolayı daha az güvenli bir yaklaşımdır. Bu organizmalar Amp C gibi ortak üretilen bir inhibitör-dirençli beta

laktamaz (eğer indikatör ilaç olarak sefepim kullanılırsa) daha fazla hassastır (39), bir inhibitör-dirençli TEM veya SHV türevi veya TEM-50 veya TEM-AQ gibi üretilen bir inhibitör-dirençli GSBL dir (26,27,39). Üç boyutlu test, disk difüzyon testlerine dayanan daha spesifik bir testtir ancak ürün profili bilgisi elde etmek için bir beta laktamaz inhibitör gerektirmez (7). Bu testin yoğun uğraş gerektirmesi ve teknik olarak zor olması gibi dezavantajları vardır ve bu yüzden rutin kullanım için uygun değildir.

GSBL'lar ve diğer beta laktamazların hızlı, doğru ve oldukça spesifik belirlenmesi için moleküler testler önerilmektedir. Ancak bu testler şu anda gelişme aşamasındadır ve klinik laboratuvarlara henüz tavsiye edilmemektedir.

2.4-Diğer GSBL: K1ve PER tipler; hatta OXA türevleri

TEM-ve SHV-türevi enzimlere ilaveten, şimdilerde beta laktamazların birçok plazmid-geçişli GSBL tipleri vardır. Bazıları kromozomal Bush grubundan *Klebsiella oxytoca*'nın 2be (veya K1) veya *Citrobacter koseri*, *Yersinia enterocolitica* ve *Proteus vulgaris*'in kromozomal grup 2e beta laktamaz enzimine benzemektedir (40). Teorik bir bakış açısından bunlar “nonklasik”GSBL olarak düşünülmesine rağmen, kromozomal olarak benzeyen bu olası türevler GSBL'in genişleyen bir grubundan kodlanır. Çünkü bunların soyu kesin belli değildir. Eğer bunların substrat profilleri gerçekten genişlerse veya parenteral enzimlerde aynı kalırlarsa bu yüzden tanınmazlar.

Olası parenteral enzimlerden biri olan *K. oxytoca*'nın K1 beta laktamazı çoğunlukla bir penisilinazdır. Hatta önemli bir şekilde aztreonam, cefuroxime ve ceftriaxonu hidrolize edip, cefotaxime veya ceftazidime karşı zayıf aktiviteye sahiptir. Anlamlı şekilde ceftriaxone karşı, cefotaximden daha büyük aktivite bu enzimin farklı bir özelliğidir. Düşük-seviyeli üretim penisilinlere direnç gelişmesine neden olur, fakat fazla üretimde aztreonam ve labil cephalosporinlere dirence neden olur. İzoelektrik odaklı çalışmalardan kimyasal olarak farklı K1 enzimlerinin olduğu görülmektedir. Bunlar iki alt gruba ayrılırlar: alkali (OXY-1) veya asidik (OXY-2) isoelektrik noktası esas alındığında blaOXY-1 ve blaOXY-2'dir ve hatta carbenicillin ve cefamandoleni hidroliz etme yetenekleri farklıdır (40). K1 beta laktamazlar şu anki mevcut beta

laktamaz inhibitörlere karşı duyarlı olmasına rağmen, OXY-2'nin bir çeşidinin zayıfda olsa inhibe edildiği rapor edilmektedir. Bu IRKO-1 olarak tasarlanmıştır (41).

2.4.1-K1 tipleri

K1'e benzediği düşünülen plazmid-geçişli enzimler CTX-M'i, Toho beta laktamazları ve hatta belkide diğer bazı enzimleri içermektedir (Tablo 2). 1989 dan beri, bu enzimler Arjantin, Paraguay, İsrail, Fransa, Almanya, İtalya, Polanya, Rusya ve Japonyayı içeren farklı ülkelerden; *E. coli*, *K. pneumoniae*, *Proteus mirabilis*, *S. marcescens*, *Salmonella* spp. ve *Citrobacter freundii*'nin klinik izolatlarında rapor edilmektedir (42-44).

Her ne kadar bunlar K1 benzeri enzimler olarak rapor edilse de, şimdiye kadar fenotip olarak ceftriaxone-tercih eden K1 beta laktamaz ile bu enzimleri karşılaştırmak için ceftriaxone ve cefotaxime ile yan yana hidroliz ölçümlerinin yapıldığı rapor edilmemiştir.

Başlangıçta bu enzimlerin tanınması cefotaxime duyarsızlığın belirlenmesiyle olmuştur. Çift disk testi gibi inhibitör-esaslı testler, GSBL için bu enzimlerin bazılarını doğrulayabilir (42). Fakat CTX-M-4, Toho-1, ve Toho-2 şüpheli olabilir. Çünkü bunlar kesin beta laktamaz inhibitörlerinde azalmış duyarlılığa sahiptirler (45). Diğer GSBL'daki gibi bu enzimlerin genleri diğer antibiyotik sınıflarındaki dirençli genlerle sıklıkla ilişkilidir ve bu nedenle tedavi seçenekleri önemli şekilde azalmaktadır.

Tablo 2. Genişlemiş spektrumlu ve inhibitör-dirençli Beta laktamazların isimleri (sinonimleri)*

TEM ESBL			
TEM-3(CTX-1,TEM-14)	TEM-11 (CAZ-lo)	TEM-26 (YOU-1)	TEM-60
TEM-4	TEM 12 (YOU-2,CAZ-3)	TEM-27 to 29	TEM-61 (CAZ-hi)
TEM-5 (CAZ-1)	TEM-15 (TEM 17)	TEM 42,43	TEM-62 to 64
TEM-6,7	TEM-16 (CAZ-7)	TEM 46 (CAZ-9)	TEM-66 to 72
TEM-8 (CAZ-2)	TEM-18 to 22	TEM-47 to 49	TEM-75
TEM-9 (RHH -1)	TEM-24 (CAZ-6)	TEM-50 (CMT-1)	
TEM-10(TEM-23,MGH-1)	TEM-25 (CTX-2)	TEM-52 to 58	
SHV ESBL_s			
SHV-2,3	SHV-5 (CAZ-4)	SHV-9 (SHV-5a)	SHV-12 (SHV-5-2a)
SHV-4 (CAZ-5)	SHV-6 to 8	SHV-11 (SHV-1-2a)	SHV-13 To 24
K1 type ESBLs			
CTX-M-1 (MEN-1)	CTX-M-4	Toho-1	KH
CTX-M-2	CTX-M-5	Toho-2	FEC-1
CTX-M-3	IRKO-1		FPM-1
PER ve OXA ESBLs			
PER-1	OXA-11	OXA-15	OXA-17
PER-2	OXA-14	OXA-16	OXA-19
İnhibitör-dirençli sınıf A deriveleri			
TEM-30(IRT-2,TRI-2,TEM-41)	TEM-36 (IRT-7)	TEM-45 (IRT-14)	TEM-73 (IRT-18)
TEM-31 (IRT-1,TRI-1,E-SAL)	TEM-37 (IRT-8)	TEM-51 /IRT-15)	TEM-74 (IRT-19)
TEM-32 (IRT-3)	TEM-38 (IRT-9)	TEM-54	TRC-1
TEM-33 (IRT-5)	TEM-39 (IRT-10)	TEM-58	SHV-10
TEM-34 (IRT-6)	TEM-40 (IRT-11,IRT-167)	TEM-59 (IRT-17)	
TEM-35 (IRT-4)	TEM-44 (IRT-13,IRT ₂	TEM-65 (IRT-16)	

*:Kaynak 42

2.4.2-PER GSBL

PER-1 ve 2 plazmid-geçişli, oldukça klavulanat duyarlı ve Ambler sınıf A GSBL'a göre kaynağı bilinmeyen sınıftandır. PER-1, daha önce Türkiye'de Ankara'da tedavi edilen bir hastadan, 1991 de Fransa'da *P. aeruginosa*'nın izole edilmesiyle belirlenmiştir (46). Sonraki izolatlar Türkiye orjinli olduğu öne sürülen Ankara'daki Hacettepe Hastanesi hastalarındandır. Bu enzimin, geniş yayılımı olması için yeterli özelliğe sahip olduğu açıkça gösterilen *Acinetobacter baumannii*'nin izolatlarından da elde edildiği İtalya ve Fransa'da rapor edilmiştir (47).

Elde edilen izolatlara duyarlı olan hayvan çalışmaları gösterirki, karbapenemler *P. aeruginosa*'nın ürettiği PER-1'in neden olduğu enfeksiyonlar için optimal beta laktam tedavisi olması için uygundur. İn vitro belirgin bir inokulum etki temelinde ve önemli bir öldürücü etkisi olmayan hayvan modellerinde, piperacillin/tazobactam ve cefepime şüpheli ajanlar olabilirler(48). PER-2, diğer tanımlanan enzimlerden daha çok PER-1'e (nukleotid sıralamasına göre %86.4) benzemekte olup yalnızca *E. coli*, *K. pneumoniae*, *P.mirabilis* ve *Salmonella typhimurium*'un Arjantin izolatlarında görülmektedir (46,49).

Çoğu diğer GSBL'lerin aksine PER-2'nin hızlı bir şekilde Ceftributen'i hidrolize ettiği görülür. Aminoasit diziliminin temelinde PER-1'in de Ceftributeni hidroliz etme yeteneği olduğu düşünülmüştür (49). PER enzimlerinin her ikisinde birkaç TEM türevi beta-laktamazlar ve hatta K1-beta laktamazlara özgün olan 5.4'lük bir izo-elektrik noktaya sahip olduğu için, eğer Enterobacteriaceae ailesindeki bakteriler tarafından üretilirlerse PER GSBL hızlı bir şekilde tanınmayacağı muhtemeldir. Bu enzimler klavunat tarafından Seftazidim aktivitesinin potensinin gösterilmesi ile *Pseudomonas aeruginosa*'da şüpheli olabilir ve galiba bu test diğer organizmalarla da çalışır.

Bir entegron yerleşimli GSBL olan VEB-1 muhtemelen PER enzimlerle ilgilidir. VEB-1 daha önce Güneydoğu Asya ülkelerindeki yatan hastalardan izole edilen *E.coli*, *K.pneumoniae* ve *P.aeruginosa* ya multipli antibiyotik dirençli nadir Fransa izolatlarında belirlenmiştir (50).

Genetik çalışmalar bu enzimin *Chryseobacterium meningosepticum*'un kromozal beta-laktamazı CME-1 den veya PER GSBL'nin bilinmeyen ailesinden türemiş olabileceğini göstermiştir (54).

2.4.3- OXA türevleri

OXA-10 (PSE-2) moleküler sınıf D'nin geniş spektrumlu beta laktamazlarından bir tanesidir ve oxazolil penisilinleri hidrolize etme yeteneği de fazladır. OXA-10 daki mutasyonlar şimdiye kadar yalnızca *P. aeruginosa*'da belirlenen beş tane GSBL'in (OXA-11, 14, 16, 17 ve 19) oluşmasına neden olmuştur. Diğer GSBL OXA-15 OXA-2'den türetilmiştir. OXA-18 ise *P. aeruginosa*'daki bir kromozomal GSBL'dir (51).

Tuhaf bir şekilde OXA GSBL'in beş tanesi, genelde PER-1 GSBL'in görüldüğü Hacattepe Hastanesindeki hastalardan seftazidim-dirençli izolatlarda tespit edilmiştir (51,52). Kalan diğer enzim OXA-19 1991'de bir Fransız izolatında tespit edilmiştir (53). Her ne kadar OXA GSBL'in geniş dağılımlı beta laktam ajanlara karşı azalmış bir duyarlılığı olduğu düşünülse de, Seftazidim direncinin çoğu uygun fenotipik belirleyicisi olduğu görülmektedir.

OXA-17 dışındaki GSBL'in tüm OXA türevleri ceftazidimazlardır. OXA-17 nin durumu bilinmemektedir çünkü OXA-17 sadece diğer beta laktamaz kombinasyonları ile çalışılmıştır. Bu enzimler Enterobacteriaceae ailesinin dışındaki organizmalarda GSBL'in düşük duyarlılığından dolayı muhtemelen rapor edilenlerin altındadır. Hatta *P. aeruginosa*'daki seftazidim direnci genelde diğer direnç mekanizmalarıyla da ilgilidir. Bu GSBL'in belirlenmesinde Klavunat-temelli belirleyici testlerin kullanılması muhtemelen uygun değildir. Çünkü bu grubun belirgin şekilde klavulanat-duyarlı enzimi yalnızca OXA-18'dir (51).

GEREÇ ve YÖNTEM

Retrospektif bir araştırma niteliğinde olan bu çalışmada, Cumhuriyet Üniversitesi Araştırma ve Uygulama Hastanesi'nin değişik servislerinde Ocak 2005- Aralık 2006 yılları arasında yatan hastalardan alınan ve Mikrobiyoloji Laboratuvarına gönderilen çeşitli klinik örneklerin kültürlerinden izole edilen bazı Gr (-) basillerde ki GSBL üretiminin görülme sıklığına bakılmıştır.

Laboratuvar hasta sonuç kayıt defterleri taranarak son 2 (iki) yıl içindeki dağılımlarında değişim olup olmadığının görülmesi için 2005 yılında 925 ve 2006 yılında 1184 hastanın laboratuvara gönderilen kan, idrar, yara yeri sürüntüsü, balgam, trakeal aspirat materyali (TTA), vajinal sürüntü püy, abse, beyin omurilik sıvısı, periton, parasentez sıvısı, kateter vb. klinik örneklerinin kültürlerinden izole edilen *E. coli*, *Klebsiella pneumonia* ve *Klebsiella oxytoca* gibi gram negatif basillerin GSBL'yi ne oranda üretilip, üretilmediği araştırıldı.

Klinik örneklerin alınıp laboratuvara gönderilmesi ve laboratuvardaki işlemleri aşamasında aşağıda tanımlanan cihaz ve malzemeler kullanılmıştır.

Kullanılan cihaz ve malzemeler

Cihazlar:

- 1-Bioküler mikroskop
- 2-Etüv
- 3- Santrifüj
- 4- Vorteks
- 5- Otoklav
- 6- Pasteur fırını
- 7- Tam otomatik bakteri tanımlaması ve antibiyogram cihazı

Malzemeler:

- 1-Kanlı agar (% 5 koyun kanlı)
- 2-Eozin Methylen Blue agar
- 3-Çikolatamsı agar

- 4-Eküvyon çubuk
- 5- Öze (disposable)
- 6- Enjektör(disposable)
- 7-Lam
- 8-Gram boyası
- 9-İdantifikasyon (ID) ve duyarlılık (AST) broth
- 10- İdantifikasyon (ID) ve duyarlılık (AST) paneli

Hastanemizin değişik servislerinde yatan hastalardan uygun koşullarda ve steril eküvyon çubuk yada enjektör ile alınan ve laboratuvara gönderilen tüm klinik örneklerden, hem gram mikroskopileri için preparatlar hazırlanırken hemde %5 koyun kanlı Brain heart infusion agar (Merck), Çikolatamsı agar (Merck) ve Eosin Methylen Blue agar (Merck) ihtiva eden plaklara ekimleri yapılmıştır.

Hazırlanan preparatların mikroskopta Gr(+) ve Gr(-) bakteriler yönünden incelendiği görüldü. Ekim yapılan plaklar 35 °C de 1 gece inkübe edildikten sonra değerlendirilmeye alındı. Üreme görülmeyen plaklar ise 24 saat daha 35 °C de inkübasyona bırakıldıktan sonra değerlendirilmeye alındığı saptandı.

Besiyerlerinde üreyen mikroorganizmalardan kullanılan kitlerin ve sistemlerin uygulama öngörülerine göre idantifikasyon için ID broth içeren tüplere (Becton Dickinson) alındı. Bunların yoğunluğu McFarland 0.5'e ayarlanıp duyarlılık/dirençlilik testi için ID brothlardan AST broth içeren tüplere (Becton Dickinson) 0.25 ml aktarıldıktan sonra panellere dağıtıldı. Bu paneller Becton Dickinson'un Phoenix 100 Model tam otomatik sistemlerinde bakterilerin tanımlanması ve antimikrobiyal maddelere karşı duyarlılık/direnç durumlarıyla birlikte izole edilen Gr (-) bakterilerin GSBL üretilip, üretilmedikleri saptanmaya çalışıldığı tespit edildi.

Çalışmamızdan elde ettiğimiz veriler SPSS (ver 13.0) programına yüklenerek verilerin değerlendirilmesi Khi-kare testi ve Fisher kesin Khi-kare testi ile yapıldı. Veriler yüzde olarak verildi ve istatistiksel olarak $p<0.05$ sonucu anlamlı kabul edildi.

BULGULAR

Çalışmada 2005 ve 2006 yıllarında laboratuvara gönderilen klinik örneklerin toplam 2109’unda GSBL (*E.coli*, *K. Pneumoniae*, *K. Oxytoca*) çalışılmış olup, bunların da 591’inde GSBL pozitif bulunmuştur. 2005 yılına ait çalışılan örnek sayısı 925 olup 273’ü (%30) GSBL pozitif, 652’si (%70) de negatif bulunmuştur. 2006 yılına ait çalışılan örnek sayısı ise 1184 olup 318’i (%27) GSBL pozitif, 866’sı (%73) de negatif bulunmuştur (Tablo 3). GSBL pozitif klinik örneklerin yıllara göre gösterdikleri değişiklikler karşılaştırıldığında anlamlı bir fark bulunmamıştır ($p>0.05$).

2005 yılında izole edilen 709 *E.coli* suşundan 211’inde (%30) GSBL pozitif bulunurken 498’inde (%70) negatif bulunmuştur. 2006 yılında ise 831 suştan 237’si (%29) pozitif bulunurken 594’ünde (%71) negatif bulunmuştur (Tablo3). GSBL pozitifliği açısından *E.coli*’lerde yıllar arasında anlamlı bir fark bulunamamıştır ($p>0.05$).

Tablo 3. Bazı Gram (-) basillerde GSBL (+) değerlerinin yıllara göre dağılımı.

Bakteriler	Yıl								Sonuç
	2005				2006				
	GSBL (+) sayı	GSBL (+) (%)	GSBL (-) sayı	GSBL (-) (%)	GSBL (+) sayı	GSBL (+) (%)	GSBL (-) sayı	GSBL (-) (%)	
<i>E.coli</i>	211	30	498	70	237	29	594	71	p>0,05
<i>K. pneumoniae</i>	44	27	120	73	54	21	199	79	p>0,05
<i>K. oxytoca</i>	18	35	34	65	27	27	73	73	p>0,05
Toplam	273	30	652	70	318	27	866	73	p>0,05

Çeşitli klinik örneklerin kültürlerinden izole edilen *E.coli*’lerin GSBL pozitifliği incelendiğinde;

2005 yılında incelenen 41 kan örneğinden 8’i (%20) pozitif iken, 33’ü (%80) negatif, 2006 yılında ise 41 kan örneğinden 6’sı (%15) pozitif iken, 35’i (%85) negatif bulunmuştur. 2005 yılında incelenen 393 idrar örneğinden 100’ü (%26) pozitif iken,

293'ü (%74) negatif bulunmuştur. 2006 yılında incelenen 527 örneğin 132'si (%25) pozitif iken, 395'i (%75) negatif bulunmuştur. 2005 yılında incelenen 130 yara yeri sürüntüsü örneğinde 65'i (%50) pozitif iken, 65'i (%50) negatif bulunmuştur. 2006 yılında 129 yara yeri sürüntüsü örneğinin 55'i (%43) pozitif iken, 74'ü (%57) negatif bulunmuştur. 2005 yılında 37 balgam örneği incelenmiş olup, bunların 10'u (%27) pozitif iken, 27'si (%73) negatif bulunmuştur. 2006 yılında 46 balgam örneğinin 21'i (%46) pozitif iken, 25'i (%54) negatif idi. 2005 yılında incelenen 21 TTA örneğinin 8'i (%38) pozitif iken, 13'ü (%62) negatif, 2006 yılında 8 TTA örneğinin 5'i (%63) pozitif iken, 3'ü (%37) negatif bulunmuştur. 2005 yılında 15 vajinal sürüntü örneğinden 1'i (%7) pozitif iken, 14'u (%93) negatif bulunmuştur. 2006 yılında ise toplam 29 vajinal sürüntü örneğinin 3'ü (%10) pozitif iken, 26'sı (%90) negatif bulunmuştur. 2005 yılında diğer numuneler adı altında toplam 72 örnek incelenmiş olup, 19'u (%26) pozitif iken 53'ü (%74) negatif bulunmuştur. 2006 yılında 51 diğer örnekten 15'i (%29) pozitif iken, 36'sı (%71) negatif bulunmuştur.

Farklı örnek gruplarından izole edilen *E.coli*'lerde GSBL pozitifliği açısından dağılımı yıllara göre incelendiğinde istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunamamıştır ($p>0.05$) (Tablo 4).

Tablo 4. Bazı örneklerden soyutlanan *E.coli*'lerde GSBL pozitifliğinin yıllara göre dağılımı

Klinik Örnekler	Yıl								Sonuç
	2005				2006				
	GSBL (+) sayı	(%)	GSBL (-) sayı	(%)	GSBL (+) sayı	(%)	GSBL (-) sayı	(%)	
Kan	8	20	33	80	6	15	35	85	p>0,05
İdrar	100	26	293	74	132	25	395	75	p>0,05
Yara yeri sürüntüsü	65	50	65	50	55	43	74	57	p>0,05
Balgam	10	27	27	73	21	46	25	54	p>0,05
TTA	8	38	13	62	5	63	3	37	p>0,05
Vajinal sürüntü	1	7	14	93	3	10	26	90	p>0,05
Diğer	19	26	53	74	15	29	36	71	p>0,05
Toplam	211	30	498	70	237	29	594	71	p>0,05

2005 yılında izole edilen toplam 164 *K. pneumoniae* suşundan yapılan araştırmanın 44'ünde (%27) GSBL pozitif iken, 120'sinde (%73) negatif bulunmuştur. 2006 yılında ise toplam 253 suştan 54'ü (%21) pozitif iken, 199'u (%79) negatif bulunmuştur. Klinik örneklerden izole edilen *K. Pneumoniae*'larda da GSBL pozitifliği açısından yıllar arasında fark bulunamamıştır ($p>0.05$) (Tablo3).

Farklı örnek gruplarından izole edilen *K. pneumoniae*'lar da GSBL pozitifliği açısından incelendiğinde;

2005 yılında incelenen 37 kan örneğinden 3'ü (%8) pozitif iken, 34'ü (%92) negatif bulunmuştur. 2006 yılında ise 29 kan örneğinden 3'ü (%10) pozitif iken, 26'sı (%90) negatif bulunmuştur. 2005 yılında incelenen 62 idrar örneğinden 18'i (%29) pozitif iken, 44'ü (%71) negatif bulunmuştur. 2006 yılında incelenen 136 idrar örneğinin 37'si (%27) pozitif iken, 99'u (%73) negatif bulunmuştur. 2005 yılında incelenen 18 yara yeri sürüntüsü örneğinde 11'i (%61) pozitif iken, 7'si (%39) negatif bulunmuştur.

2006 yılında 21 örneğin 5'i (%24) pozitif iken, 16'sı (%76) negatif idi. 2005 yılında 18 balgam örneği incelenmiş olup, bunların 2'si (%11) pozitif iken, 16'sı (%89) negatif bulunmuştur. 2006 yılında 38 balgam örneğinin 3'ü (%8) pozitif iken, 35'i (%92) negatif idi. 2005 yılında incelenen 15 TTA örneğinin 3'ü (%20) pozitif iken 12'si (%80) negatif, 2006 yılında 5 TTA örneğinin 0'ı (%0) pozitif iken, 5'i (%100) negatif bulunmuştur. 2005 yılında *K. pneumoniae* açısından vajinal sürüntü örneğinden izolasyon yok iken, 2006 yılında ise toplam 3 örneğin 1'i (%33) pozitif ve 2'si (%67) negatif idi. 2005 yılında diğer numuneler adı altında toplam 14 örnek incelenmiş olup, 7'si (%50) pozitif iken, 7'si (%50) negatif idi. 2006 yılında 21 diğer örneklerin 5'i (%24) pozitif iken, 16'sı (%76) negatif bulunmuştur.

Farklı örneklerden izole edilen *K. pneumoniae*'lerde GSBL pozitifliği yıllara göre incelendiğinde yara yeri sürüntüsü örneklerinde istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulundu ($p<0.05$). Nitekim yara yerinden soyutlanan *K. pneumoniae*'lerde GSBL

pozitifliği 2006 yılında 2005 yılına göre anlamlı olarak azaldı. Diğer örnek gruplarında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunamamıştır ($p>0.05$) (Tablo 5).

Tablo 5. Bazı örneklerden soyutlanan *K. pneumoniae*'larda GSBL pozitifliğinin yıllara göre dağılımı

Klinik örnekler	Yıl								Sonuç
	2005				2006				
	GSBL (+) sayı	GSBL (+) (%)	GSBL (-) sayı	GSBL (-) (%)	GSBL (+) sayı	GSBL (+) (%)	GSBL (-) sayı	GSBL (-) (%)	
Kan	3	8	34	92	3	10	26	90	p>0,05
İdrar	18	29	44	71	37	27	99	73	p>0,05
Yara yeri sürüntüsü	11	61	7	39	5*	24	16	76	P<0,05
Balgam	2	11	16	89	3	8	35	92	p>0,05
TTA	3	20	12	80	0	0	5	100	p>0,05
Vajinal sürüntü	0	-	0	-	1	33	2	67	p>0,05
Diğer	7	50	7	50	5	24	16	76	p>0,05
Toplam	44	27	120	73	54	21	199	79	p>0,05

* 2005yılına göre anlamlı azalış

2005 yılında izole edilen toplam 52 *K. oxytoca* suşundan 18'inde (%35) GSBL pozitif iken, 34'ünde (%65) negatif bulunmuştur. 2006 yılında ise toplam 100 suştan 27'si (%27) pozitif iken, 73'ü (%73) negatif bulunmuştur. Toplamda *K. oxytoca* GSBL pozitifliği açısından yıllar arasında fark bulunamamıştır ($p>0.05$) (Tablo3).

Farklı örneklerden izole edilen *K. oxytoca*'larda GSBL pozitifliği incelendiğinde; 2005 yılında incelenen 1 kan örneğinden 1'i (%100) negatif bulunmuştur. 2006 yılında ise 5 kan örneğinden 1'i (%20) pozitif iken, 4'ü (%80) negatif bulunmuştur. 2005 yılında incelenen 27 idrar örneğinden 10'u (%37) pozitif iken, 17'si (%63) negatif idi. 2006 yılında incelenen 65 idrar örneğinin 18'i (%28) pozitif iken 47'si (%72) negatif bulunmuştur. 2005 yılında incelenen 11 yara yeri sürüntüsü örneğinde 2'si (%18) pozitif iken, 9'u (%82) negatif, 2006 yılında ise 13 örneğin 4'ü (%31) pozitif iken 9'u (%69) negatif idi. 2005 yılında 6 balgam örneği incelenmiş olup, bunların 2'si (%33)

pozitif iken, 4'ü (%67) negatif bulunmuştur. 2006 yılında 10 balgam örneğinin 2'si (%20) pozitif iken, 8'i (%80) negatif idi. 2005 yılında incelenen 3 TTA'dan 1'i (%33) pozitif iken 2'si (%67) negatif idi. 2006 yılında 4 TTA'dan 2'si (%50) pozitif iken, 2'si (%50) negatif bulunmuştur. 2005 yılında diğer numuneler adı altında toplam 4 örnek incelenmiş olup 3'ü (%75) pozitif iken, 1'i (%25) negatif, 2006 yılında 3 örneğin 3'ünde (%100) negatif bulunmuştur.

Farklı örneklerden izole edilen *K. oxytoca*'larda GSBL pozitifliği yıllara göre incelendiğinde hiçbirinde istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunamamıştır ($p>0.05$) (Tablo 6).

Tablo 6. Bazı örneklerden soyutlanan *K. oxytoca*'larda GSBL pozitifliğinin yıllara göre dağılımı

Klinik örnekler	Yıl								Sonuç
	2005				2006				
	GSBL (+) sayı	GSBL (+) (%)	GSBL (-) sayı	GSBL (-) (%)	GSBL (+) sayı	GSBL (+) (%)	GSBL (-) sayı	GSBL (-) (%)	
Kan	0	0	1	100	1	20	4	80	p>0,05
İdrar	10	37	17	63	18	28	47	72	p>0,05
Yara yeri sürüntüsü	2	18	9	82	4	31	9	69	P>0,05
Balgam	2	33	4	67	2	20	8	80	p>0,05
TTA	1	33	2	67	2	50	2	50	p>0,05
Diğer	3	75	1	25	0	0	3	100	p>0,05
Toplam	18	35	34	65	27	27	73	73	p>0,05

TARTIşMA

Gram negatif basillerde bulunan GSBL'ler geniş spektrumlu sefalosporinlere ve aztreonama karşı dirençten sorumlu olan enzimlerdir (54). Tüm dünyada olduğu gibi ülkemizde de özellikle GSBL salgılayan Enterobacteriaceae üyelerinin etken olduğu infeksiyonlar artış göstermektedir. GSBL'lere en çok *Klebsiella* türleri ve *E. coli*'de rastlanmakla birlikte son yıllarda diğer patojen ve fırsatçı patojen bakteriler arasında da hızla yaygınlaşmaktadır (55). GSBL pozitif bakterilerle olan infeksiyonlarda birçok antibiyotiğin etkisiz kalabilmesi nedeniyle antibiyotik tedavilerinde etkenin GSBL oluşturup oluşturmadığı bilinmelidir (11).

Çalışmamızda GSBL varlığını belirlemek için Hastanemiz'in değişik servislerinden alınan örneklerin kültürlerinden izole edilen *E. coli*, *Klebsiella pneumoniae* ve *Klebsiella oxytoca* bakterilerinin geniş spektrumlu beta-laktamazlar üretilip üretilmediği saptanmaya çalışıldı.

Ekonomik düzeyi ve sağlık hizmet kalitesi düşük olan ülkelerde yapılan çalışmalarda GSBL oranı daha yüksek bildirilmektedir. Bu yoksul ülkelerde görülen yüksek GSBL oranı morbiditeyi, mortaliteyi ve sağlık maliyetini de artırmaktadır (56). Halbuki ekonomik düzeyi yüksek olan Amerika Birleşik Devletleri, Japonya ve Avrupa ülkelerinin büyük bir kısmında GSBL üreten bakterilerin oranı % 1 civarında olup henüz önemli bir problem oluşturmamaktadır (56).

Ülkemizde GSBL pozitifliği ile ilgili olarak çeşitli merkezlerde yapılan çalışmalarda farklı oranlar elde edilmiştir. Ancak ortak olan özellik *K.pneumoniae* suşlarında *E.coli* suşlarından daha yüksek oranda GSBL oluşumunun saptanmasıdır. Nitekim *K.pneumoniae* ve *E.coli* suşlarında GSBL oluşturma oranları Bülüş ve ark. sırasıyla % 48 ve % 14 bulurken, Tünger ve ark. nozokomiyal suşlarda % 41.7 ve % 13.4 bulmuşlardır (57,58). Diğer taraftan Kiremitçi ve ark. % 42 ve % 23.3 bulurken, Gönüllü ve ark. % 52 ve % 40 oranlarını bildirmişlerdir (59,60). Yurt dışındaki yayınlar da genelde *K.pneumoniae* suşlarında GSBL oluşumunu *E.coli* suşlarından daha yüksek

bildirirken, Datta ve ark.'ninki (61) gibi nadir çalışmalarda daha farklı oranlar (% 12.5 ve % 16.1) da bildirilmiştir.

Bizim çalışmamızda da 2005 yılında izole edilen 709 *E.coli* suşundan 211'inde (%30) GSBL pozitif bulunurken, 164 *K. pneumoniae* suşundan 44'ünde (%27) ve 52 *K. oxytoca* suşundan 18'inde (%35) GSBL pozitif bulunmuştur. 2006 yılında ise 831 *E. coli* suşundan 237'si (%29), 253 *K. pneumoniae* suşundan 54'ü (%21) ve 100 *K. oxytoca* suşundan 27'si (%27) GSBL pozitif bulunmuştur.

Aktaş ve ark.(62) GSBL üretimini ÇDST yöntemi ile araştırdıkları çalışmalarında, 52 *E. coli* suşunda %19.2, 12 *Klebsiella pneumoniae* suşunda % 58.3 olarak GSBL pozitifliği saptamışlardır. Şahin ve ark.(63) ise aynı yöntem ile çalışmalarına aldıkları 108 *E.coli* suşunda % 19.4, 44 *Klebsiella* spp'de suşunda % 15.9 oranında GSBL pozitifliği saptamışlardır. Benzer şekilde Akçam ve ark. (64) da 83 *E.coli* kökenlerinin 6 (%7.2)'sında GSBL pozitif iken, 40 *Klebsiella* kökenlerinin 14 (%35)'ünde GSBL pozitifliği saptamışlardır.

Yurt dışında yapılan çeşitli çalışmalarda ise *Klebsiella* kökenlerinde %13.0 - %86.6, *E. coli* kökenlerinde %11.0 - % 63.6 oranlarında GSBL pozitifliği rapor edilmiştir (65-67).

Gerek bizim yaptığımız çalışmada, gerekse ülkemizde ve yurtdışındaki çalışmalarda tespit edilen GSBL oranlarında görülen farklılıklar, bakterilerdeki enzim üretim sıklığının belli şartlarla değişiyor olmasıyla ilgili olduğunu düşündürmektedir (15). Buda hastane infeksiyonu etkenleri ve direnç profillerinin ülkeler arasında, hastaneler arasında ve hatta aynı hastanenin değişik birimleri arasında bile farklılıklar olarak görülmesine neden olmaktadır. Bu da gösteriyorki her hastane kendi florasını ve direnç profilini saptamalıdır. Çünkü bu durum gerek hastane infeksiyonlarının kontrolü, gerekse ampirik antibiyotik seçimi açısından önemlidir.

Yoğun bakım servislerinde yatan, yeni cerrahi girişim geçirmiş, invaziv girişim veya kateter uygulanmış, uzun süreli hastanede yatan hastalar ve geniş spektrumlu beta-laktam antibiyotik kullanan hastalardan izole edilen *K. pneumoniae* suşlarında (hastane suşları) GSBL üretme sıklığının toplumdan izole edilen suşlara göre daha yüksek bulunduğu bilinmektedir (68,69).

Bu konuyla ilgili yapılan bir çalışmada Delialioğlu ve ark. (70) hastanede yatan ve poliklinik hastalarından izole edilen *Escherichia coli* ve *Klebsiella* cinsi bakteri izolatlarının GSBL oluşturma oranlarını araştırmışlardır. Nitekim Delialioğlu ve ark.tarafından izole edilen 514 *E.coli* suşundan 94'ünün (% 18.3), 175 *K.pneumoniae* suşundan 52'sinin (% 29.7) ve 24 *K.oxytoca* suşundan 1'inin (%4.2) GSBL oluşturduğu saptanmıştır. GSBL oluşturma oranının; klinik hastalardan izole edilen *E.coli* suşlarında % 29, *K.pneumoniae* suşlarında %35.8, *K.oxytoca* suşlarında % 6.7 bulunurken, poliklinik hastalarından izole edilen *E.coli* suşlarında % 7.7, *K. pneumoniae* suşlarında % 15.4 oranında pozitif olduğu görülmüştür. Klinikte yatan hastalardan izole edilen *E.coli* ve *K.pneumoniae* suşlarının da daha yüksek oranda GSBL oluşturmalarını anlamlı bulmuşlardır.

Çelen ve ark. (71); Dicle Üniversitesi Hastanesi Enfeksiyon Hastalıkları ve Klinik Mikrobiyoloji Laboratuvarı ve Merkez laboratuvarında iki yıllık sürede (2003-2004) değişik klinik örneklerden soyutladıkları ve hastane enfeksiyonu etkeni olarak kabul ettikleri 182 Gram negatif bakteride genişlemiş spektrumlu beta-laktamaz (GSBL) oluşumunu araştırmışlardır. Ancak daha önce (2001 yılında) hastanelerinde Gram negatif çomaklarda % 31 olan GSBL oluşturma oranını, bu çalışmada % 34 (62/182) olarak belirlemiş olmalarına karşın istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulamamışlardır. Benzer şekilde bizim çalışmamızda da 2005 yılına ait çalışılan örnek sayısı 925 olup 273'ü (%30) GSBL pozitif iken, 2006 yılına ait çalışılan örnek sayısı 1184 olup 318'i (%27) GSBL pozitif bulunmuştur. Ancak Çelen ve ark.'nda olduğu gibi çalışmamızda da toplamda GSBL pozitif numuneler yıllara göre istatistiksel olarak karşılaştırıldığında anlamlı bir fark bulunamamıştır.

Geçmişten günümüze GSBL varlığını belirlemede çeşitli yöntemler kullanılmaktadır (disk difüzyon,sıvı dilüsyon,agar dilüsyon,E-test,yarı otomatikve otomatik sistemler vb.) (72). Biz çalışmamızda otomatize Phoenix sistemini kullandık. Otomatize sistemlerle hasta sonuçları daha kısa sürede verilmekte olduğu için hastaya uygun antibiyotiğin daha kısa sürede başlanmasına, tedaviden kısa sürede sonuç alınmasına ve hastanın hastanede kalma süresinin azalmasına neden olmaktadır. Ayrıca sistemlerin veri yönetim sistemleri bulunduğundan alınan sonuçlar manuel giriş yapılmadan laboratuvar bilgi sistemine aktarılmakta bu da hatalı girişleri engellemekte olduğu gibi, antibiyotik duyarlılıklarına ait çeşitli istatistiksel verilere kısa ve doğru şekilde ulaşılmasını sağlamaktadır (72).

Sonuç olarak 2005 ve 2006 yıllarında hastanemizde yatan hastalardan izole edilen bakterilerden GSBL pozitifliği açısından yıllara göre istatistiksel olarak anlamlı bir değişiklik olmamasına karşın, elde edilen oranlara bakılacak olursa GSBL pozitifliğinin halen hastanemiz için önemli bir problem olduğu görülmektedir. Bu durumda antibiyotik direnci artış hızını azaltabilmek adına, her zaman üzerinde durulan fakat her zaman da yeterli derecede uygulanamayan/kontrol edilemeyen doğru antibiyotik kullanımı için daha dikkatli olunması gerektiği bu çalışma ile de bir kez daha ortaya çıkmaktadır.

SONUÇLAR

1. 2005 ve 2006 yıllarında hastanemizde yatan hastalardan izole edilen bakterilerin GSBL pozitifliği açısından yıllara göre dağılımında % olarak artış olmasına karşın istatistiksel olarak anlamlı bir değişiklik görülmemiştir (2005 yılında 925 klinik örneğin 273'ü (%30) pozitif iken, 2006 yılında 1184 klinik örneğin 318'i (%27) pozitif).
2. 2005 ve 2006 yıllarında izole edilen *E. coli*, *K. pneumoniae* ve *K. oxytoca* bakterilerinden saptanan GSBL pozitifliği oranları hastanemiz için de önemli bir sorun olarak görünmektedir.
3. Bu soruna yol açan en önemli bazı nedenler;
 - a. Antibiyotik kullanımına yönelik uygun bir planın sürekli olarak ve yeterince uygulanamaması.
 - b. Sağlık hizmeti kalitesinin sürekli olarak yeterli düzeyde (özellikle personel ve araç-gereç eksikliği nedeniyle) sunulamaması
 - c. Kendi florasını ve direnç profilini yeterince saptayamamasına bağlanabilir.
4. Bu problemleri önlemek veya olabilecek en az seviyeye çekmek için personel ve araç-gereç eksikliğinin giderilmesinin yanısıra enfeksiyon etkenlerinin ve direnç profillerinin iyi belirlenmesi, bunlara uygun ve doğru antibiyotik seçimlerinin yapılması, uygulanabilirliğin daha etkili kontrolü gerekmektedir.
5. Hastanelerde GSBL pozitifliği oranlarında artma yada azalma olup olmadığının belirlenmesi için benzer çalışmaların periyodik olarak devam etmesinin gerekliliğine inanmaktayız.

KAYNAKLAR

1. Korten V. Hastane İnfeksiyonları. Toçu Wilke A, Söyletir G, Doğanay M. eds. İnfeksiyon hastalıkları kitabı. İstanbul Nobel Tıp Kitabevi. Birinci baskı 1996; 281-91.
2. Bradford PA. Extended spectrum beta-lactamases in the 21st century. Characterization, epidemiology and detection of this important resistance threat. Clin Microbiol Rev 2001; 14(4): 933-51.
3. Bush K. New beta-lactamases in gram negative bacteria. Diversity and impact on the selection of antimicrobial therapy. Clin Infect Dis 2001; 32(7): 1085-89.
4. Jacoby GA, Medeiros AA. More extended-spectrum β -lactamases. Antimicrob Agents Chemother 1991; 35: 1697-704.
5. George JA, Sutton L. Properties of plasmids responsible for production of extended-spectrum β -lactamases. Antimicrob Agents Chemother 1991; 35: 164-9.
6. Büyükbaba Ö, Aydın D, Anğ Ö. İdrar yolu infeksiyonu etkeni Gram negatif çomaklarda genişlemiş spektrumlu β -laktamazların çift disk sinerji yöntemi ile belirlenmesi. Klimik Derg 1996; 9: 27-30.
7. Thomson KS, Sanders CC. Detection of extended-spectrum β -lactamases in members of the family Enterobacteriaceae: comparison of the double disk and three dimensional tests. Antimicrob Agents Chemother 1992; 36: 1877-82.
8. Eskitürk A, Korten V, Söyletir G. Akut bakım gerektiren hastalarda gelişen infeksiyonlardan izole edilen Klebsiella türlerinde antibakteriyel duyarlılık paternlerinin ve geniş spektrumlu beta-laktamaz sıklığının araştırılması. Ankem Derg 1996; 10: 14-8.
9. Derbentli Ş, Katrancı H, Nakiboğlu Y. Gram negatif çomaklarda genişlemiş spektrumlu beta-laktamazların belirlenmesinde üç boyutlu yöntem ve çift disk sinerji yönteminin karşılaştırılması. Ankem Derg 1996; 10: 1-13.
10. Livermore DM. β -lactamases in laboratory and clinical resistance. Clin Microbiol Rev 1995; 8:557-84.
11. Bal Ç. Beta-laktamazlar: Güncel durum. Flora 2003; 8(2):111-23.
12. Sanders CC, Thomson KS, Bradford PA. Problems with detection of beta-lactam resistance among nonfastidious gram negative bacilli. Infect Dis Clin N America 1993; 7(2): 411-23.

13. Gill VJ, Fedorko DP, Witebsky FG. The clinician and microbiology laboratory. In: Mandell GL, Bennet JE, Dolin R, (eds). Principles and practice of infectious diseases. 5th ed. Philadelphia, Churchill Livigstone 2000: 184-221.
14. Livermore DM, Brown DF. Detection of beta-lactamase mediated resistance. J Antimicrob Chemother 2001; 48: (suppl 1): 59-64.
15. Gür D. Beta-laktamazlar. Flora 1997; 3(Ek-1) : 1-16.
16. Bermudes H, Arpin C, Jude F, El-Harrif Z, Bebear C, Quantin C. Molecular epidemiology of an outbreak due to extended spectrum beta-lactamase producing enterobacteria in a French hospital. Eur J Clin Microbiol Infect Dis 1997; 16(7): 523-29.
17. Procop GW, Tuohy MJ, Wilson DA, Williams D, Hadziyannis E, Hall GS. Cross-class resistance to non betalactam antimicrobials in extended spectrum beta-lactamase producing *Klebsiella pneumoniae*. Am J Clin Pathol 2003; 120(2): 265-67.
18. Ahmad M, Curban C, Mariano N, Bradford P.A, et al. Clinical characteristics and molecular epidemiology associated with imipenem-resistant *Klebsiella pneumoniae*, Clin Infect Dis 1999; 29: 352–55.
19. Ambler R.P, The structure of beta-lactamases, Philos. Trans. Roy. Soc. Lond. B. Biol. Sci. 1980; 289:321–31.
20. Bush K, Characterization of β -lactamases, Antimicrob Agents Chemother 1989; 33: 259–63.
21. Bush K, Jacoby G.A, Medeiros A.A. A functional classification scheme for β -lactamases and its correlation with molecular structure, Antimicrob Agents Chemother 1995; 39: 1211–33.
22. Matthew M, Hedges R.W. Analytical isoelectric focusing of R factor-determined β -lactamases: correlation with plasmid compatibility, J Bacteriol 1976; 125: 713–18.
23. Livermore D.M. β -lactamase-mediated resistance and opportunities for its control, J Antimicrob Chemother 1998; 41: 25–41.
24. Dubois S.K, Msmarriott M.S, Amyes S.G.B. TEM-and SHV-derived extended-spectrum β -lactamases: relationship between selection, structure and function, J Antimicrob Chemother 1995; 35: 7–22.
25. Philippon A, Labia R, Jacoby G.A. Extended-spectrum β -lactamases, Antimicrob Agents Chemother 1989; 33:1131–36.

26. Thomson K.S, Sanders C.C, Moland E.S. Use of microdilution panels with and without beta-lactamase inhibitors as a phenotypic test for beta-lactamase production among *Escherichia coli*, *Klebsiella* spp., *Enterobacter* spp., *Citrobacter freundii* and *Serratia marcescens*, *Antimicrob Agents Chemother* 1999; 43: 1393–1400.
27. Prinarakis E.E, Miriagou V, Tzelepi E, Gazouli M, Tzouveleakis LS. Emergence of an inhibitor-resistant β -lactamase (SHV-10) derived from an SHV-5 variant, *Antimicrob Agents Chemother* 1997; 41: 838–40.
28. Poyart C, Mugnier G, Quesne G, Berche P, Trieu-Cuot P. A novel extended spectrum TEM-type beta-lactamase (TEM-52) associated with decreased susceptibility to moxalactam in *Klebsiella pneumoniae*, *Antimicrob Agents Chemother* 1998; 42: 108–13.
29. Marchandin H, Carriere C, Sirot D, Pierre HJ, Darbas H. TEM-24 produced by four different species of *Enterobacteriaceae*, including *Providencia rettgeri*, in a single patient, *Antimicrob Agents Chemother* 1999; 43: 2069–73.
30. Goussard S, Courvalin P, Updated sequence information for TEM beta-lactamase genes, *Antimicrob Agents Chemother* 1999; 43: 367–70.
31. Heritage J, M'zali F.H, Gascoyne-Binzi D, Hawkey P.M. Evolution and spread of SHV extended-spectrum betalactamases in gram-negative bacteria, *J Antimicrob Chemother* 1999; 44: 309–18.
32. Thomson K.S, Prevan A.M, Sanders C.C. Novel plasmid mediated β -lactamases in *Enterobacteriaceae*: emerging problems for new β -lactam antibiotics, in: Remington J.S., Swartz M.N. (Eds.), *Current Clinical Topics in Infectious Diseases*, Blackwell Science Inc, Cambridge Mass, 1996; pp: 151–63.
33. Jarlier V, Nicolas M.H, Fournier G, Philippon A. Extended broad-spectrum β -lactamases conferring transferable resistance to newer β -lactam agents in *Enterobacteriaceae*: hospital prevalence and susceptibility patterns, *Rev Infect Dis* 1988; 10: 867–78.
34. National Committee for Clinical Laboratory Standards, Performance standards for antimicrobial susceptibility testing; ninth informational supplement M100-S9, Wayne PA: National Committee for Clinical Laboratory Standards 1999.
35. Jacoby G.A. Epidemiology of extended-spectrum betalactamases, *Clin Infect Dis* 1998; 27: 81–83.

36. Thomson K.S, Sanders C.C. A simple and reliable method to screen isolates of *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae* for the production of TEM-and SHV-derived extended spectrum β -lactamases, *Clin Microbiol Infect* 1997; 3: 549–54.
37. Xiang X, Shannon K, French G. Mechanism and stability of hyperproduction of the extended-spectrum beta lactamase SHV-5 in *Klebsiella pneumoniae*, *J Antimicrob Chemother* 1997; 40: 525–32.
38. Brun-Buisson C, Legrand P, Philippon A, Montravers F, Ansquer M, Duval J. Transferable enzymatic resistance to third-generation cephalosporins during nosocomial outbreak of multiresistant *Klebsiella pneumoniae*, *Lancet* 1987; 2: 302–306.
39. Tzouvelekis L.S, Vatopoulos A.C, Katsanis G, Tzelepi E. Rare case of failure by an automated system to detect extended-spectrum beta-lactamase in a cephalosporin resistant *Klebsiella pneumoniae* isolate, *J Clin Microbiol* 1999; 37: 2388.
40. Fournier B, Roy P.H, Lagrange P.H, Philippon A, Chromosomal β -lactamase genes of *Klebsiella oxytoca* are divided into two main groups, bla (OXY-1) and bla (OXY-2), *Antimicrob Agents Chemother* 1996; 40: 454–59.
41. Sirot D, Labia R, Pouedras C, Chanal-Claris C, Cerceau C, Sirot J . Inhibitor-resistant OXY-2-derived beta-lactamase produced by *Klebsiella oxytoca*, *Antimicrob Agents Chemother* 1998; 42: 2184–87.
42. Gniadkowski M, Schneider I, Palucha A, Jungwirth R, Mikiewicz B, Bauernfeind A. Cefotaxime-resistant Enterobacteriaceae isolates from a hospital in Warsaw, Poland: identification of a new CTX-M-3 cefotaxime-hydrolyzing beta-lactamase that is closely related to the CTX-M-1/MEN-1 enzyme, *Antimicrob Agents Chemother* 1998; 42: 827–32.
43. Watanabe Y, Yokota T, Higashi Y, Wakai Y, Mine Y. In vitro and in vivo transferrable beta-lactam resistance due to a new plasmid-mediated oxyiminocephalosporinase from a clinical isolate of *Proteus mirabilis*, *Microbiol Immunol* 1991; 35: 87–97.
44. Palucha A, Mikiewicz B, Hryniewicz W, Gniadkowski M. Concurrent outbreaks of extended-spectrum β -lactamase-producing organisms of the family Enterobacteriaceae in a Warsaw hospital, *J Antimicrob Chemother* 1999, 44: 489–99.
45. Ma L, Ishii Y, Ishiguro M, Matsuzawa H, Yamaguchi K. Cloning and sequencing of the gene encoding Toho-2, a class A beta-lactamase preferentially inhibited by tazobactam, *Antimicrob Agents Chemother* 1998; 42: 1181–86.

46. Danel F, Hall L.M, Gur H.E, Akalin HE, Livermore DM. Transferable production of PER-1 beta-lactamase in *Pseudomonas aeruginosa*, J Antimicrob Chemother 1995; 35: 281–94.
47. Vahaboglu H, Saribas S, Akbal H, Ozturk R, Yucel A. Activities of cefepime and five other antibiotics against nosocomial PER-1-type and/or OXA-10-type beta-lactamase-producing *Pseudomonas aeruginosa* and *Acinetobacter* sp, J. Antimicrob.Chemother 1998; 42: 269–70.
48. Mimoz O, Elhelali N, Leotard S, et al., Treatment of experimental pneumonia in rats caused by a PER-1 extended-spectrum beta-lactamase-producing strain of *Pseudomonas aeruginosa*, J Antimicrob Chemother 1999; 44: 91–97.
49. Bauernfeind A, Stemplinger I, Jungwirth R, et al., Characterization of beta-lactamase gene blaPER-2, which encodes an extended-spectrum class A beta-lactamase, Antimicrob Agents Chemother 1996; 40: 616-20.
50. Naas T, Poirel L, Karim A, Nordmann P. Molecular characterization of In50, a class 1 integron encoding the gene for the extended-spectrum beta-lactamase VEB-1 in *Pseudomonas aeruginosa*, FEMS Microbiol Lett 1999; 176: 411–19.
51. Philippon L.N, Naas T, Bouthors A.T, , Barakett V, Nordmann P. OXA-18, a class D clavulanic acid-inhibited extended-spectrum beta-lactamase from *Pseudomonas aeruginosa*, Antimicrob Agents Chemother 1997; 41: 2188–95.
52. Danel F, Hall L.M, Livermore D.M. Laboratory mutants of OXA-10 beta-lactamase giving ceftazidime resistance in *Pseudomonas aeruginosa*, J Antimicrob Chemother 1999; 43: 339–44.
53. Mugnier P, Casin I, Bouthors A.T, Collatz E. Novel OXA-10-derived extended-spectrum beta-lactamases selected in vivo or in vitro, Antimicrob Agents Chemother 1998; 42: 3113–16.
54. Steward CD, Rasheed JK, Hubert SK, et al. Characterization of clinical isolates of *Klebsiella pneumoniae* from 19 laboratories using the National committee for clinical laboratory standards extended-spectrum β -lactamase detection methods. JCM 2001; 39(8): 2864-72.
55. Sanders CC, Sanders WE. Beta-lactam resistance in gram negative bacteria; Global trends and clinical impact. Clin Infect Dis 1992; 15(5): 824-83.

56. Pandey A, Malenie R, Asthana AK. Beta-lactamase producing *Pseudomonas aeruginosa* in hospitalized patients, *Indian J Pathol Microbiol* 2005; 48(4): 530-3.
57. Bülüş M, Gürol Y, Bal Ç: Genişlemiş spektrumlu beta-laktamaz oranları:2000-2002, *Türk Mikrobiyol Cem Derg* 2003; 33(1): 31-4.
58. Tünger Ö, Arısoy AS, Özbakkaloğlu B, Gazi H: Nozokomiyal Gram negatif bakterilerde genişlemiş spektrumlu ve kromozomal beta-laktamaz varlığının araştırılması, *Flora* 2001; 6(1): 37-41.
59. Kiremitçi A, Durmaz G, Aybey A, Us T, Akgün Y: *Escherichia coli* ve *Klebsiella* suşlarında NCCLS tarama ve fenotipik doğrulama yöntemleriyle genişlemiş spektrumlu beta-laktamaz (GSBL) varlığının araştırılması, XXXI. Türk Mikrobiyoloji Kongresi, Kongre kitabı, Kuşadası 2004; s. 340.
60. Gönüllü N, Aktaş A, Salcıoğlu M, Bal Ç, Anđ Ö: Comparative in vitro activities of five quinolone antibiotics, including gemifloxacin, against clinical isolates, *Clin Microbiol Infect* 2001; 7(9): 499-503.
61. Datta P, Thakur A, Mishra B, Gupta V: Prevalence of clinical strains resistant to various beta-lactams in a tertiary care hospital in India, *Jpn J Infect Dis* 2004; 57(4): 146-9.
62. Aktaş H, Şahin Ü, Yiğit N, Al F, Tuncel E. Gram negatif bakterilerde genişlemiş spektrumlu beta-laktamazların çift disk sinerji ve E-test yöntemleri ile araştırılması. *İnfek Derg* 2001; 15(3): 325-28.
63. Şahin İ, Kaya D, Öksüz Ç, Okay A, Şencan İ, Öztürk E. Klinik örneklerden izole edilen gram negatif çomaklarda genişlemiş spektrumlu beta-laktamaz sıklığı ve antibiyotik duyarlılığı. *İnfek Derg* 2003 ; 17(1): 45-8.
64. Akçam FZ, Gönen İ, Kaya O, Yaylı G. Hastane infeksiyonu etkeni enterobakterilerde beta-laktam antibiyotiklere duyarlılık ve ESBL sıklığının araştırılması. *Süleyman Demirel Üniversitesi Tıp Fakültesi Dergisi* 2004; 11(1): 6–9.
65. Jain A, Roy I, Gupta MK, Kumar M, Agarwal SK. Prevalance of extended spectrum beta-lactamase producing gram negative bacteria in septicemic neonates in tertiary care hospital. *J Med Microbiol* 2003; 52(5): 421-25.
66. Tzelepi E, Magana CH, Platsouka E, Safianou D, Paniara O, Legakis NJ, Vatopoukus AC, Tzouveleakis LS. Extended spectrum beta-lactamase types in *Klebsiella pneumoniae* and *Escherichia coli* in two Greek hospitals. *Int J Antimicrob Agents* 2003; 21: 285-88.

67. Ho PL, Tsang DN, Que TL, Ho M, Yuen KY. Comparison of screening methods for detection extended spectrum betalactamases and their prevalence among *Escherichia coli* and *Klebsiella* species in Hong Kong. APMIS 2000; 108(3): 237-40.
68. Aydemir Ş, Uluer S, Akıncı P, Tünger A, Çilli F, Özinel MA: Toplum ve hastane kökenli *Escherichia coli* ve *Klebsiella pneumoniae* kökenlerinde genişlemiş spektrumlu beta-laktamaz üretiminin araştırılması, XXXI.Türk Mikrobiyoloji Kongresi, Kongre kitabı Kuşadası 2004; .s.392.
69. Karavelioğlu S, Karatuna O, Söyletir G: Marmara Üniversitesi Hastanesi'nde infeksiyon etkeni olarak saptanan Enterobacteriaceae izolatlarında GSBL bulunma sıklığı, 6.Antimikrobik ve Kemoterapi Günleri, Toplantı kitabı, Türk Mikrobiyoloji Cemiyeti, İstanbul 2004, s. 161.
70. Delialioğlu N, Öcal ND, Emekdaş G.Çeşitli klinik örneklerden izole edilen *Escherichia coli* ve *Klebsiella* türlerinde genişlemiş spektrumlu beta-laktamaz oranları. ANKEM Derg 2005; 19(2): 84-87.
71. Çelen MK, Ayaz C, Geyik MF, Hoşoğlu S, Uluğ M. Hastane kökenli Gram negatif bakterilerde genişlemiş spektrumlu beta-laktamazlar. ANKEM Derg 2006; 20(3): 148-51.
72. Haşcelik G. Otomatize sistemler: artıları ve eksileri. 7. Antimikrobik Kemoterapi Günleri Özet Kitabı İstanbul 2006; s.43-50.