

**KAN KÜLTÜRLERİNDEN İZOLE EDİLEN *K. PNEUMONİAE*,
K.OXYTOCA, *E.COLİ* İZOLATLARINDA GENİŞLEMİŞ
SPEKTRUMLU BETA LAKTAMAZ ENZİMİ VARLIĞININ
ARAŞTIRILMASI**

Zerrin DEMİRÖZÜ

**YÜKSEK LİSANS TEZİ
BİYOLOJİ**

**GAZİ ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**TEMMUZ 2007
ANKARA**

**KAN KÜLTÜRLERİNDEN İZOLE EDİLEN *K. PNEUMONİAE*,
K.OXYTOCA, *E.COLİ* İZOLATLARINDA GENİŞLEMİŞ
SPEKTRUMLU BETA LAKTAMAZ ENZİMİ VARLIĞININ
ARAŞTIRILMASI**

Zerrin DEMİRÖZÜ

**YÜKSEK LİSANS TEZİ
BİYOLOJİ**

**GAZİ ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**TEMMUZ 2007
ANKARA**

Zerrin DEMİRÖZÜ tarafından hazırlanan, KAN KÜLTÜRÜLERİNDEN İZOLE EDİLEN *K.PNEUMONİAE*, *K.OXYTOCA*, *E.COLİ* İZOLATLARINDA GENİŞLEMİŞ SPEKTRUMLU BETA LAKTAMAZ ENZİMİ VARLIĞININ ARAŞTIRILMASI, ANKARA adlı bu tezin Yüksek Lisans tezi olarak uygun olduğunu onaylarım.

Prof. Dr. Güven Uraz
Tez Yöneticisi

Bu çalışma, jürimiz tarafından oy birliği ile Biyoloji Ana Bilim Dalı'nda Yüksek Lisans tezi olarak kabul edilmiştir.

Başkan : Prof. Dr. Güven Uraz

Üye : Prof. Dr. Sevgi Türet

Üye : Prof. Dr. Sevl Pehlivan

Üye : Prof. Dr. Gülderen Yentürk

Üye : Yrd. Doç. Dr. Lale Türkmen (Çankaya)

Tarih : .04../...07../...2007.....

Bu tez, Gazi Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü tez yazım kurallarına uygundur.

TEZ BİLDİRİMİ

Tez içindeki bütün bilgilerin etik davranış ve akademik kurallar çerçevesinde elde edilerek sunulduğunu, ayrıca tez yazım kurallarına uygun olarak hazırlanan bu çalışmada orijinal olmayan her türlü kaynağa eksiksiz atıf yapıldığını bildiririm.

Zerrin DEMİRÖZÜ

**KAN KÜLTÜRLERİNDEN İZOLE EDİLEN *K.PNEUMONIAE*, *K. OXYTOCA*,
E. COLI İZOLATLARINDA GENİŞLEMİŞ SPEKTRUMLU BETA
LAKTAMAZ ENZİMİ VARLIĞININ ARAŞTIRILMASI
(Yüksek Lisans Tezi)**

Zerrin DEMİRÖZÜ

GAZİ ÜNİVERSİTESİ FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

Temmuz 2007

ÖZET

Araştırmada 191 hastanın kan örneklerinden izole edilen *Klebsiella* ve *E.coli* bakterilerinin Geniş Spektrumlu Beta Laktamaz aktivitesi çift disk sinerji testi yöntemi ile araştırılmıştır.

191 bakterinin 66'sı *K.pneumoniae*, 1'i *K.oxytoca*, 124'ü *E.coli* olarak adlandırılmıştır. 66 *K.pneumoniae* bakterisinin 19'unun (%28,4) geniş spektrumlu beta laktamaz aktivitesi pozitif bulunmuştur. İzole edilen tek *K.oxytoca*'nın enzim aktivitesi negatiftir. 124 *E.coli*'nin ise 38'inin (%30,6) geniş sektrumlu beta laktamaz enzim aktivitesi pozitifdir.

Geniş Spektrumlu Beta Laktamaz enzimi üreten *Klebsiella* bakterilerinin CLSI (Clinical And Laboratory Standards Institute) kriterlerine göre çift disk sinerji yönteminde kullanılan antibiyotiklere direnç oranları sırasıyla amoksisilin klavulanik asite (AMC) %100, sefotaksime (CTX) %84, seftazidime (CAZ) %84, aztreonama (ATM) %95, seftraiksona (CRO) % 89,5 bulunmuştur.

Geniş Spektrumlu Beta Laktamaz enzimi üreten *E.coli* bakterilerinin çift disk sinerji yönteminde kullanılan antibiyotiklere direnç oranları sırasıyla amoksisilin klavulanik asite (AMC) %95, sefotaksime (CTX)

%84, seftazidim (CAZ) %84, aztreonama (ATM) %79, seftraiksona (CRO) %79, bulunmuştur.

Rutin laboratuvarlarda kolaylıkla uygulanabilir olması, basit, hızlı, güvenilir sonuçlar vermesi ve ekonomik olması sebebiyle çift disk sinerji yönteminin, Geniş Spektrumlu Beta Laktamaz enzimi aktivitesi araştırmalarında sıklıkla tercih edilmektedir.

Sonuç olarak, Geniş Spektrumu Beta Laktamaz aktivitesi pozitif olan bakterilerin araştırılması; tedavide uygun antibiyotik seçimini kolaylaştıracığı, ayrıca kullanılan ilaçlara karşı direnç gelişiminin önlenmesinde yararlı olabileceği düşünölmektedir.

Bilim Kodu : 401.03.04
Anahtar Kelimeler : Çift disk sinerji testi, GSBL, *K.pneumoniae*, *K.oxytoca*, *E.coli*
Sayfa Adedi : 77
Tez Yöneticisi : Prof. Dr. Güven URAZ

**INVESTIGATION OF EXISTENCE OF EXTENDED SPECTRUM BETA
LACTAMASE ENZYME IN *K. PNEUMONIAE*, *K. OXYTOCA*, *E COLI*
ISOLATED FROM BLOOD CULTURE
(M.Sc. Thesis)**

Zerrin DEMİRÖZÜ

**GAZI UNIVERSITY
INSTITUTE OF SCIENCE AND TECHNOLOGY**

July 2007

ABSTRACT

In this research, the extended spectrum beta lactamase activity of *E.coli* and Klebsiella bacteria, isolated from 191 patients' blood types, investigated by Double Disc Synergy Method (DDSM).

Of the 191 bacteria, 66 were named as *K.pneumoniae*, 1 was named as *K.oxytoca* and 124 were named as *E.coli*. Nineteen (%28,4) of 66 *K.pneumoniae* are found extended spectrum beta lactamase activity positive. Isolated 1 *K.oxytoca*'s enzyme activity is negative. Extended spectrum beta lactamase enzyme activity of the 38 (30,6%) of 124 *E.coli* are positive.

According to CLSI (Clinical And Laboratory Standards Institute) criteria, the resistance ratio of products of Klebsiella bacteria, producing extended spectrum beta lactamase activity, to the antibiotics used in DDSM method, found as 100% to amoxicillin clavulanic acid (AMC), 84% to cefotaxime (CTX) and ceftazidime (CAZ), 95% to aztreonam (ATM) and 89,5 % to ceftriaxone (CRO).

The resistance ratio of extended spectrum beta lactamase activity producing *E.coli* bacteria, to the antibiotics used in DDSM method were found as 95% to amoccciline clavulanic acide (AMC), 84% to cefotakcyme (CTX), 84% to ceftasidyme (CAZ), 79% to aztreonam (ATM) and 79 % to ceftriaksone (CRO) respectively.

In the future, DDSM, will often be preferred because their being in the investigations of extended spectrum beta lactamase activity, because of being treated as easy, being simple, fast, economic and resulting trustable.

In conclusion, it is thought that investigating extended spectrum beta lactamase activity positive bacteria, may facilitate the election of proper antibiotics for treatment and may be useful for preventing drug resistance evolution.

Science Code : 401.03.04
Key Words : Double disk synergy test, ESBL,
K.pneumoniae, *K.oxytoca*, *E.coli*
Page Number : 77
Adviser : Prof. Dr. Güven URAZ

TEŞEKKÜR

Çalışmalarım boyunca değerli yardım ve katkılarıyla beni yönlendiren Hocam Prof. Dr. Güven Uraz'a yine kıymetli tecrübelerinden faydalandığım ve "Mesa Hastanesi Mikrobiyoloji Laboratuvarı'nın" olanaklarından faydalanmamı sağlayan Uzman Dr. Abbas Taner'e , ayrıca kan örneklerini temin etmeme yardımcı olan "S.B. Ankara Numune Eğitim ve Araştırma Hastanesi" Klinik Mikrobiyoloji Şefi Uzman Dr. Vedat Yetener ve asistanı Feride Alacacoşkun'a, "Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi" Klinik Mikrobiyoloji Şefi Prof. Dr. Derya Aysev'e ve manevi destekleriyle beni hiçbir zaman yalnız bırakmayan sevgili annem Aysel Ölmez, çok değerli arkadaşlarım Seçkin Öcal, Hilal Müge Güleç, Başak Cengiz ve Sunde Yılmaz'a teşekkürü bir borç bilirim.

İÇİNDEKİLER

	Sayfa
ÖZET	iv
ABSTRACT	vi
TEŞEKKÜR.....	vii
İÇİNDEKİLER	ix
ÇİZELGELERİN LİSTESİ.....	xi
ŞEKİLLERİN LİSTESİ.....	xii
RESİMLERİN LİSTESİ.....	xiii
SİMGELER VE KISALTMALAR	xiv
1.GİRİŞ	1
2.GENEL BİLGİ.....	5
2.1.GSBL Prevalansı	5
2.2.β-Laktam Antibiyotiklerin Etki Mekanizması.....	6
2.3.β-Laktam Antibiyotiklere Karşı Direnç Mekanizmaları.....	10
2.3.1.Penisilin bağlayan PBP'lerde oluşan değişiklikler ile gelişen direnç	11
2.3.2.Permeabiliteye bağlı direnç	12
2.3.3.β-laktamaz enzimlerine bağlı direnç	12
2.4.β-Laktamazların Sınıflandırılmasında Kullanılan Parametreler.....	14
2.5.β-Laktamaz Enzimlerin Sınıflandırılması	15
2.6.β-Laktamazların Adlandırılmaları	24
2.7.Kromozomal β-Laktamazlar	25

	Sayfa
2.8.Plazmid Aracılığı İle Sentezlenen Ve Diğer Sekonder β -Laktamazlar.....	28
2.9. β -Laktamaz Testleri	34
2.9.1.Genişlemiş spektrumlu β -laktamaz (GSBL) testleri	34
2.10.Çalışmada Kullanılan Antibiyotiklerin Önemli Özellikleri	36
2.10.1.Amoksisilin/Klavulanik asit.....	37
2.10.2.Sefotaksim.....	38
2.10.3.Seftazidim.....	39
2.10.4.Seftriakson	41
2.10.5.Aztreonam	41
3.MATERYAL VE METOD	43
3.1.ÖrnekToplama	43
3.2.Çift Disk Sinerji Testi.....	43
3.3.Kullanılan Besi Yerleri Ve İdentifikasyon	44
3.3.1.Mueller hinton agar (Oxoid CM0337)	44
3.3.2.CASO (Tryptik Soy) broth.....	44
3.4.GSBL Tanısında Kullanılan Antibiyotikler	45
4.BULGULAR.....	46
5.SONUÇ VE ÖNERİLER	53
6.KAYNAKLAR	61
ÖZGEÇMİŞ.....	77

ÇİZELGELERİN LİSTESİ

Çizelge	Sayfa
Çizelge 2.1. Mikroorganizmalarda antibiyotik direnç mekanizmaları	11
Çizelge 2.2. Beta-laktamazların Richmond ve Sykes'a göre Sınıflandırılması	16
Çizelge 2.3. Karen ve Bush'a göre β -laktamazların sınıflandırılması	17
Çizelge 2.4. Bush'a göre beta-laktamaz grupları ve genel özellikleri	18
Çizelge 2.5. Bush-Jacoby-Medeiros sınıflandırması	21
Çizelge 2.6. Kromozomal beta-laktamazlar.....	28
Çizelge 2.7. Amoksisilin/klavulanik asidin oral alınması sonrası farmakokinetik özellikleri	37
Çizelge 3.1. GSBL tanısı için inhibisyon zonu ve kullanılan antibiyotikler	46
Çizelge 4.1. 191 hastanın kan kültürlerinden izole edilen bakterilerin Dağılımı.....	45
Çizelge 4.2. GSBL pozitif 57 izolatın bakteri dağılımı ve yüzdeleri	48
Çizelge 4.3. GSBL enzimi üreten <i>E.coli</i> izolatlarının çift disk sinerji testinde kullanılan antibiyotiklere dirençlilik ve duyarlılıkları	50
Çizelge 4.4. GSBL enzimi üreten <i>Klebsiella</i> izolatlarının çift disk sinerji testinde kullanılan antibiyotiklere dirençlilik ve duyarlılıkları	52
Çizelge 4.5. GSBL pozitif 57 izolatın ÇDST'de kullanılan antibiyotiklere dirençlilik oranları	52

ŞEKİLLERİN LİSTESİ

Şekil	Sayfa
Şekil 2.1.Gram pozitif ve Gram negatif mikroorganizmalarda peptidoglikan yapısı	7
Şekil 2.2.β-laktam antibiyotiklerin Gram negatif bakterilere etki mekanizması	8
Şekil 2.3.Hücre duvarı sentezinin inhibisyonu.....	10
Şekil 2.4.Sefem çekirdeği.....	37
Şekil 2.5.Sefotaksim kimyasal yapısı ve adlandırılması	39
Şekil 2.6.Seftazidimin kimyasal yapısı ve adlandırılması	40
Şekil 2.7.Aztreonamın kimyasal yapısı ve adlandırılması	42
Şekil 4.1.191 hastanın kan kültürlerinden izole edilen bakterilerin yüzde (%) oranları.....	46
Şekil 4.2.124 <i>E.coli</i> izolatı arasında GSBL üreten <i>E.coli</i> 'lerin yüzde (%) dağılımları.....	47
Şekil 4.3.67 Klebsiella izolatı arasında GSBL enzimi üreten Klebsiella'ların yüzde (%) dağılımları	47
Şekil 4.4.GSBL pozitif 57 izolatın bakteri dağılımı ve yüzdeleri.....	48
Şekil 4.5.GSBL enzimi üreten <i>Ecoli</i> izolatlarının çift disk sinerji testinde kullanılan antibiyotiklere dirençlilik ve duyarlılıklarının yüzde (%) oranları.....	51
Şekil 4.6.GSBL enzimi üreten Klebsiella izolatlarının çift disk sinerji testine kullanılan antibiyotiklere dirençlilik ve duyarlılıklarının (%) yüzde oranları.....	51

RESİMLERİN LİSTESİ

Resim	Sayfa
Resim 4.1.GSBL pozitif <i>E.coli</i> izolatı	49
Resim 4.2.GSBL pozitif Klebsiella izolatı	49

SİMGELER VE KISALTMALAR

Bu çalışmada kullanılmış olan bazı kısaltmalar, açıklamaları ile birlikte aşağıda sunulmuştur.

Simgeler

Açıklamalar

cm	Santimetre
g	Gram
m	Mililitre
μ	Mikrogram
°C	Santigrat Derece

Kısaltmalar

Açıklamalar

AMC	Amikasin
AMP	Ampisilin
ATM	Amoksisilin/klavulanikasit
AUC	Serum konsantrasyon-zaman eğrisi
CA	Klavulanik asit
CAZ	Aztreonam
CASO	Tryptik soy buyyon
CLSI	Clinical And Laboratory Standards Institute
CRO	Seftazidim
ÇDST	Çift disk sinerji testi
D-ala	D-alanin
DAP	Diaminopimelik asit
D-glu	D-glutamin
DP	Direnç paterni
EBS	Extended broad spectrum

Kısaltmalar	Açıklamalar
EDTA	Etilen diamintetra asetik asit
ESBL	Extended spektrum beta laktamase
FL	Fosfolipid
GSBL	Genişlemiş spektrumlu beta laktamaz
İBL	İndüklenebilir beta laktamaz
İMP	İmipenem
İP	İntegral protein
K	Konstitütif
L-ala	L-alanin
LP	Lipoprotein
LPS	Lipopolisakkarit
LTA	Lipoteikoik asit
MHA	Mueller hinton agar
MİK	Minimumum inhibisyon konsantrasyonu
MP	Merkez polisakkarid
NCCLS	National Committe For Clinical Laboratory Stand.
OXA	Oksasilin
PBP	Periplasmik boşluk
PG	Peptidoglikan
PP	Periferel protein
R	Dirençli
S	Duyarlı
SM	Sitoplazmik membran
SX	Trimetoprim/sulfametaksozol
TA	Teikoik asit
T_{max}	Yarılanma ömrü
ZÇ	Zon Çapı

1. GİRİŞ

Bakterilerde antibiyotiklere direnç gelişmesi ile antibiyotik kullanımı arasında doğrudan bir ilişki vardır. Antibiyotik kullanımının çok fazla olması nedeniyle hastaneler, bakterilerde antibiyotik direncinin ortaya çıkması ve yayılması için en uygun ortamlardır. Hastane infeksiyonlarında saptanan etkenlerdeki antibiyotiklere direnç oranı hastane dışında saptanan etkenlere göre daha yüksektir [1].

Beta-laktamaz enzimleri ile antibiyotiğin inaktivasyonu özellikle Gram negatif bakterilerin beta-laktam antibiyotiklere karşı dirençte en sık kullandıkları savunma mekanizmalarından biridir. Günümüzde kromozom, plazmid veya transpozonlarla bakteriden bakteriye aktarılabilen çok sayıda β -laktamaz enzimi tanımlanmıştır ve her gün bunlara yenileri eklenmektedir [2].

1939'da penisilinler saf olarak elde edildiğinde büyük umutlar doğurmuş ancak daha sonra 1940'da Abraham ve Chain'in penisilinazı bulması umutların kırılmasına neden olmuştur . Daha sonraki yıllarda bir çok yeni antibiyotik geliştirilmiş ancak mikroorganizmalar, bulunan her antibiyotiğe yeni bir yolla direnç geliştirmeyi başarmıştır. Günümüzde pek çok gram negatif mikroorganizmada gözlenen antibiyotik direnci, infeksiyonların tedavisinde büyük zorluklar yaratmaktadır [3,4]. 1980'li yıllarda beta-laktamazlara dayanıklı, genişlemiş spektrumlu sefalosporinlerin geliştirilmesinden kısa bir süre sonra nozokomial infeksiyonlardan izole edilen *Klebsiella pneumoniae* ve *E.coli* izolatlarında plazmid kontrolünde olan çeşitli genişlemiş spektrumlu beta-laktamazlar (GSBL) tanımlanmıştır [5]. GSBL'ler sefuroksim, sefotaksim, seftriakson, seftizoksim, seftazidim, sefpirom ve sefepim gibi yeni kuşak sefalosporinleri hidroliz edebilen ve genellikle klavulanik asit, sulbaktam veya tazobaktam gibi beta-laktamaz inhibitörleri ile inhibe olan beta-laktamaz enzimleridir. Bu enzimler çoğunlukla bakteri izolatları ve türleri arasından geçebilen büyük plazmidlerde (100 kb ve fazlası) kodlanmaktadır [5-8].

β -laktamaz üretiminden sorumlu gen dizilimleri bakterinin kendi genomu içerisinde veya genelinde olduğu gibi hücre içerisinde ayrı bir DNA yapısı olan plazmidlerde bulunurlar. Gram negatif veya pozitif birçok bakteride bulunabilen β -laktamazlar en sık gram negatif bakterilerde, bunlar içerisinde ise özellikle Enterobacteriaceae grubu bakterilerde karşımıza çıkarlar. Bu gruptaki bakteriler içerisinde ise en sık *E.coli* ve *K.pneumoniae*'larda bulunurlar [9]. Marmara Üniversitesi Tıp Fakültesi Enfeksiyon Kontrol Komitesi'nin 1997-2000 yılları arasındaki verilerine göre dirençli Klebsiella enfeksiyonlarının %90,5'inde etken *K.pneumoniae* iken %9,5'inde etken *K.oxytoca'dır* [10]. Hastane epidemilerinde en çok korkulan Klebsiella izolatları ise geniş spektrumlu antibiyotiklere karşı direnç geliştiren çoğul antibiyotik dirençli Klebsiella izolatlarıdır. Daha 1970'lerde bu izolatlar sadece aminoglikozid grubu antibiyotiklere dirençli iken [11-14] ileriki yıllarda sefalosporinlere karşı da belirgin direnç kazanmışlardır [15-23].

Günümüzde birçok bakteri tarafından üretilen iki yüz ellinin üzerinde β -laktamaz enzimi olduğu bilinmektedir. Yapısal açıdan bu tür enzimlerin sınıflandırılması oldukça güç olmakla birlikte literatürde β -laktam enzimlerin sınıflandırılmasında en sık kullanılan tablo; Karen ve Bush tarafından hazırlanan tablodur . Karen ve Bush'un hazırladığı tabloda 2be grubu ayrı bir özelliğe sahiptir; bu gruptaki penisilinaz gibi enzimler bir sefamisin olan sefoksitin dışında bir çok geniş spektrumlu sefalosporini parçalar, bu sebeple bu gruba genişlemiş spektrumlu β -laktamaz (ESBL:extended spectrum β -lactamase) adı verilmiştir [9].

Çoğunlukla hastane kaynaklı enfeksiyonlarda karşılaşılan GBSL'lar, klasik TEM ve SHV tip β -laktamazlardan nokta mutasyonları ile oluşurlar [24]. Klebsiella izolatlarında ve *E.coli*'de bulunan enzimlerin 3. kuşak ve daha az oranda 4. kuşak sefalosporinlere karşı direnç gelişiminden sorumlu enzimlerdir. Bu enzimlerin çok önemli bir kısmı β -laktamaz inhibitörleri tarafından inhibe edilirler (sulbaktam, klavulanik asit, tazobaktam). Sayıları her geçen gün artan bu enzimler ülkelere göre değişiklik gösterirler.

Avrupa’da seftazidim dirençli GSBL pozitif Klebsiella izolatları genelde SHV-5 enzimi içerirken, Amerika Birleşik Devletleri’nde daha çok TEM-10 ve TEM-22 içerirler [15,18,25-28].

GSBL’lerin üretiminden sorumlu olan plazmidlerin aynı zamanda diğer antimikrobiyal ajanlara direnç genlerini taşıdıkları da saptanmıştır [29]. GSBL oluşturan izolatların hastane infeksiyonu salgınlarına yol açtığı ve taşıdıkları plazmidlerin türler arasında transfer edilebildikleri bildirilmektedir [30]. GSBL üreten izolatların çoğu hastane kökenli olup, yoğun antibiyotik baskısı altındaki hastane ortamlarında daha sık görülmektedir.

GSBL ilk kez Almanya’da tanımlanıp daha sonra Fransa başta olmak üzere dünyanın çeşitli ülkelerinde önemli bir sorun olarak ortaya çıkmıştır [1]. Geniş spektrumlu sefaosporinlere karşı gelişen bu aktarılabir direnç önce *K.pneumoniae* izolatlarında belirlenmiştir [31]. Direnç genleri, enterik bakteriler arasında kolaylıkla aktarılabilmektedir. Yapılan çalışmalar GSBL kodlayan genin kolayca *K.pneumoniae* izolatlarından *E.coli* izolatlarına geçtiğini göstermiştir. Direncin yoğun antibiyotik kullanımı ile ilişkili olması ve ortaya çıkan direncin gram negatif çomaklar arasında kolaylıkla aktarılıyor olması, dirençli izolatların izlenmesinin önemini ortaya koymaktadır [32].

GSBL oluşturan izolatlarla hastane infeksiyonu epidemileri oluşabilmekte ve bu izolatlar genellikle çoklu ilaç direncine sahip olduklarından dolayı tedavide sorunlar yaşanabilmektedir [33-35]. GSBL üreten mikroorganizmaların, çoğunlukla hastane infeksiyonu etkeni olan türler olması [36,37] sebebiyle klinisyenle birlikte ortak epidemiolojik çalışmalar da yapılmalıdır.

Ülkemizdeki Klebsiella izolatlarının direnç düzeylerinin bu kadar yüksek olması bu tür izolatlarla oluşan hastane infeksiyonlarının tedavisi açısından önemli bir sorundur. Son zamanlarda ortaya çıkan ve yeni mutasyonlar sonucu gelişen TEM ve SHV alt grubu enzimlerin direnç düzeylerinde belirgin artış olduğu görülmektedir [38].

Klebsiellalara bağlı hastane infeksiyonları içerisinde GSBL pozitif Klebsiella görülme sıklığı lkeler arasında da belirgin farklılıklar göstermektedir. Amerika Birleşik Devletlerin'de National Nosocomial Infection Study System verilerine göre GSBL pozitif Klebsiella insidansı %5tir [28]. Fransa ve İngiltere'de %14-16 civarında grlmektedir [39]. Japonya'da 1990-2000 yıllarını kapsayan bir çalışmada 1990'ların başında GSBL pozitif Klebsiella infeksiyon sıklığı %0,6 iken son birkaç yıl içerisinde GSBL pozitif *K.pneumoniae* infeksiyonu sıklığının %7,2'ye çıktığı tespit edilmiştir [40]. Ayrıca 1996 yılında Marmara Üniversitesi Tıp Fakültesi'nde cerrahi ve dahili yoğun bakım ünitelerinden nozokomiyal infeksiyon etmeni olarak izole edilen 46 *Klebsiella pneumoniae* izolatına yönelik yapılan çalışmada ise %52'sinin geniş spektrumlu β -laktamaz üreten *K.pneumoniae* izolatı oluğu tespit edilmiştir [41].

GSBL enzimi üreten bakterilere karşı β -laktam antibiyotiklere yapılan standart in-vitro duyarlılık test sonuçları her zaman için aynı paralellikte olmayabilir. Antibiyotiklerin in-vitro duyarlılık testlerinin aksine in-vivo aktiviteleri farklı çıkabilir [42,43]. Burada en önemli sebep bakterilerin β -laktam grubu anitbiyotiklere karşı inokulum etkisi göstermeleridir. İnokulum etkisi, bakteri koloni sayısı atırıldığında antibiyotiğe karşı bakterinin duyarlılığının azalması olarak tanımlanmıştır. Odabaşı [10] bu konu ile ilgili in-vivo çalışmasını mevcut hayvan infeksiyon modelleri içerisinde en uygun model olarak "Ntrogenik Fare Bacak İnfeksiyon Modeli" ni seçmiştir. Bu model özellikle antibiyotiklerin farmakokinetik ve farmakodinamik özellikleri, doku konsantrasyonları ve infeksiyona karşı etkinliklerinin değerlendirilmesinde, hayvan modelleri içerisinde önemli bir yere sahiptir [44-50].

Bu çalışmada çeşitli kan örneklerinden izole edilmiş *Klebsiella pneumoniae*, *Klebsiella oxytoca*, *E.coli* izolatları GSBL sıklığı yönünden çift disk sinerji testi ile araştırılmış ve uygun tedavi protokollerinin oluşturulmasına katkıda bulunulmuştur.

2. GENEL BİLGİ

Günümüzde çeşitli antibiyotiklerin toplumda tüketiminin artması, immün sistemi bozulmuş hastaların sayısında artma olması, yoğun bakım ünitelerinin sayısının artması, gıda endüstrisinde antibiyotik kullanımı gibi nedenlerle mikroorganizmalardaki antibiyotik direnci giderek artmaktadır. Ancak direnç sorununun daha yoğun olarak yaşandığı yerler antibiyotik kullanımının daha yoğun olması nedeni ile hastanelerdir [48,51]. Ülkemizde hastanelerde en sık direnç sorunu yaşanan Gram negatif mikroorganizmalar *E.coli* ve *Klebsiella pneumoniae*' dir [49,52].

2.1. GSBL Prevalansı

Birçok çalışmada Enterobacteriaceae üyeleri arasında GSBL'lerin varlığı değerlendirilmiştir. Aslında çoğu *K.pneumoniae* ve *E.coli* üzerine odaklanmıştır [53]. Çünkü bu enzimler, predominant olarak *E.coli* ve *Klebsiella* türlerinde ortaya çıkmaktadır [54]. Değişik merkezlerin verileri genel olarak GSBL üretiminin *K.pneumoniae* izolatlarında yaygın olduğu, diğer Enterobacteriaceae üyeleri arasında bu oranın düştüğü şeklindedir. Tünger ve arkadaşları yaptıkları bir çalışmada, hastane infeksiyonu tanısı almış hastalarda soyutlanmış 144 *K.pneumoniae*'da %49,3 oranında, 320 *E.coli*'de ise %21,5 oranında GSBL olumluluğu saptanmıştır [56]. Yurt dışındaki birkaç örneğe bakacak olursak; Belçika Eğitim Hastanesi'nde Vercauteren ve arkadaşlarının araştırmalarında kan örneklerinden izole edile 13 *K.pneumoniae* ve 64 *E.coli* çalışmaya alınmış ve GSBL pozitiflik oranları sırasıyla %23,1 ve %3,1 olarak bulunmuştur [54,55].

GSBL'lar ilk kez 1983 yılında Almanya'da saptanmış olmasına rağmen ilk olarak Fransa'da klinik problem yaratmıştır. 1985-1987 yılları arasında Fransa'da TEM-3 β -laktamazı üreten izolatların neden olduğu bir salgın baş göstermiştir. Nozokomiyal infeksiyonlardan izole edilen *K.pneumoniae* izolatlarına plazmid kontrolünde olan çeşitli genişlemiş spektrumlu β -

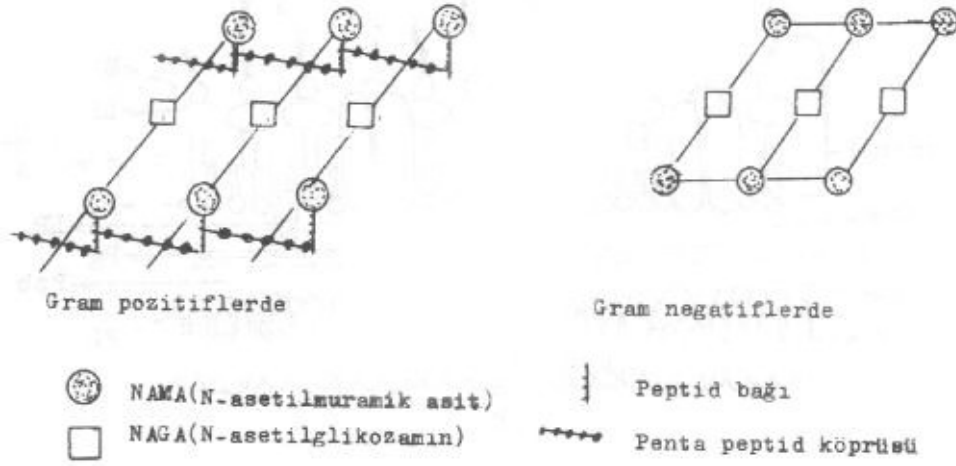
laktamazlar saptanmıştır [1,56]. Bu enzimlerin 1-2 aminoasit değişiklikleri ile TEM veya SHV β -laktamazlarından izolat aldıkları belirlenmiştir.

Paris civarındaki hastanelerde 1985'de %1'in altında bir sıklıkla karşılaşan bu enzimler 1988-1989'da %10-11 gibi bir sıklıkla görülmüştür. Bundan sonra da GSBL üreten izolatlar hızla yayılmışlardır. Avrupa, Amerika ve Uzakdoğu'da salgınlar görülmüştür. Avrupa'da özellikle yoğun bakım ünitesinden izole edilen Klebsiella izolatları da bu enzimlerin sıkça bulunması, bu organizmanın diğer bakterilere göre deri ve yüzeylerde daha uzun kalabilmelerine ve çapraz infeksiyonu kolaylaştırmalarına bağlanmaktadır. Tek bir GSBL oluşturan izolat aynı hastane veya aynı ünite deki birçok hastayı infekte edebilmektedir [8].

2.2. β -Laktam Antibiyotiklerin Etki Mekanizması

β -laktam antibiyotikler bakteri hücre duvarının majör polimeri olan peptidoglikan sentezini inhibe ederek etki ederler. Gram pozitif bakterilerde peptidoglikan tabakası (murein yada mukopeptid) sitoplazmik membranı dışında ve kuru ağırlığın %50'sini oluşturacak şekilde kalındır [8].

Peptidoglikan tabakası ard arda dizilmiş N-asetilglukozamin (Nag) ve N-asetilmuramik asit (Nam) diye bilinen iki aminoşekerin alternatif olarak yer aldığı ipçiklerden oluşmaktadır. Her ipçikte ayrıca NAM'e bağlı, 4 amino asitten oluşan peptit zinciri bulunur. Bu peptit zincirleri de diğer ipçiklerdeki peptit zinciri ile birleşerek peptidoglikanın kafes şeklinde bir yapı oluşturmasını sağlar. Bu yapı NAM üniteleri arasında çapraz peptit bağları oluşturularak sağlanır [57]. Gram pozitif ve Gram negatif mikroorganizmaların peptidoglikan yapısı şekil 2.1'de gösterilmiştir [58].



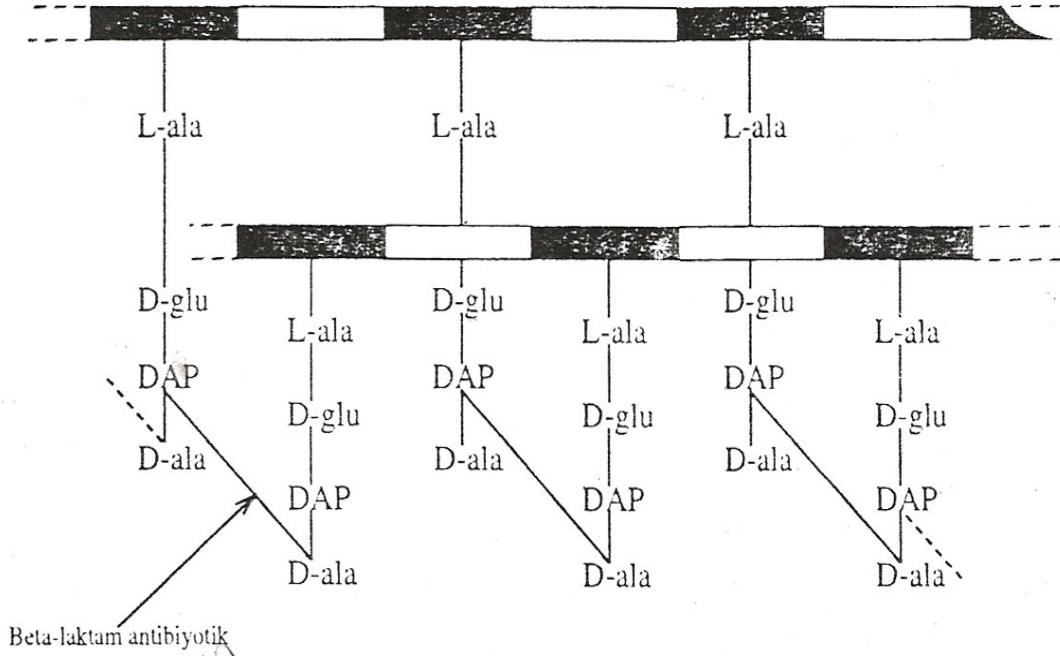
Şekil 2.1. Gram pozitif ve Gram negatif mikroorganizmalarda peptidoglikan yapısı

Yapı üniteleri olan bu çapraz peptit bağlarının oluşması için üç enzim sistemine gereksinim vardır.

- NAM ünitesine bağlı son iki aminoasidi D-alanin olan pentapeptitte D-alanil-D-alanin bağının kırılmasını ve sondaki D-alanin açığa çıkarken kalan D-alaninin bir diğer m ünitesindeki peptit zincirinin üçüncü aminoasidi ile peptit bağının oluşmasını sağlayan transeptidaz enzimleri,
- NAM ünitesine bağlı pentapeptitten son D-alanini ayıran ancak öncekini bir başka aminoaside bağlamayan karboksipeptidazlar,
- Çapraz peptit bağlarını ayıran endopeptidazlardır [59,60,61].

Serin içeren aktif bölgeleri ile bu enzimler pentapeptit zincirinin sonundaki D-alanil-D-alanine bağlanabildikleri gibi stereoik yapı benzerliğinden dolayı β -laktam antibiyotiğin β -laktam halkasının -CO-N- bağına da bağlanabilmektedirler. Geri dönüşümsüz olan bu bağlanma sonucunda enzim bir başka NAM'e bağlı pentapeptid ile peptid bağı oluşturamayacağından çapraz peptit bağlarının sentezi ve böylece kafes şeklindeki hücre duvarının oluşumu durdurulmuş olur.

Bu özelliklerinden dolayı hücre duvarının sentezinde rol oynayan transpeptidaz, karboksipeptidaz ve endopeptidaz aktivitesine sahip proteinler olan PBP'ler (penisilin bağlayan protein) çeşitli bakterilerde farklı sayılarda bulunurlar. β -laktam antibiyotikler bu enzimlere (PBP'lere) bağlanarak enzimin kendi substratına bağlanmasını engelleyerek duvar sentezini inhibe etmekte ve bakteri lizise uğramaktadır [8,61,62]. β -laktam antibiyotiklerin Gram negatif bakterilere etki mekanizması Şekil 2.2'de gösterilmiştir [59,63].



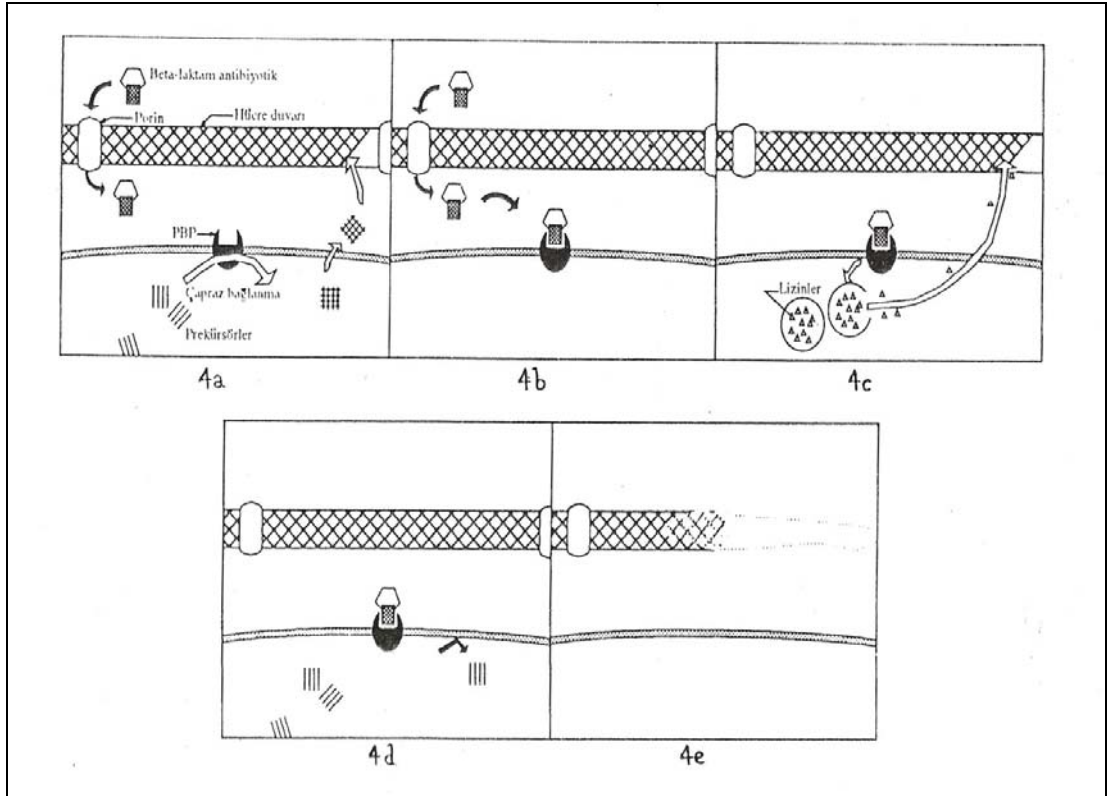
Şekil 2.2. β -laktam antibiyotiklerin Gram negatif bakterilere etki mekanizması:
L-ala: L-alanin, D-glu: D-glutamin, DAP: Diaminopimelik asit,
D-ala: D-alanin

β -laktam antibiyotiklerin etkisi bakteri hücresinde kendilerine afiniteleri olan PBP'lerin hücredeki fonksiyonlarına, sayılarına, buldukları bakterinin türüne bağlı olarak değişmektedir. PBP'lerin hücredeki fonksiyonları ile ilgili araştırmalar genellikle *E.coli*'de yapılmıştır. *E.coli*'de hücrenin sitoplazma zarında yer alan PBP'lerden molekül ağırlığı büyük olan PBP 1a, 1b, 2 ve 3 hücrenin yaşaması için önemli fizyolojik fonksiyonları üstlenirken, β -laktam antibiyotikler için de öldürücü hedefleri oluşturmaktadır. Bu proteinler hücrede transpeptidaz olarak fonksiyon görmektedir. PBP 1a ve 1b β -laktam

anibiyotiklerle bloke edildiğinde, bu PBP'ler bakterinin gelişmesinde elongasyon faktörü olarak rol oynadıklarından bakterinin uzamasının durmasına, ayrıca bakteri hücresinin erimesine neden olmaktadır. Bunlardan PBP 1b, hücrenin uzaması için daha fazla önem taşımaktadır. PBP 2, β -laktam antibiyotiklerle bloke edildiğinde çomak şeklindeki bakteri hücresi küresel şekil almaktadır ve daha yüksek konsantrasyonlarda uzun süre bekletildiğinde bakteri hücresi erimektedir. PBP 3, septal peptidoglikan sentezinden sorumlu bir transpeptidaz olduğundan, PBP 3, β -laktam antibiyotiklerle bloke edildiğinde bakteri bölünemediği için filaman şeklini almaktadır [60-61,64]. Düşük molekül ağırlıklı PBP'lerden PBP 4, 5 ve 6 esas olarak karboksipeptidaz aktivitesine sahip olup, hücrenin yaşaması için büyük molekül ağırlıklı PBP'ler kadar önemli değildir. PBP 4, ayrıca endopeptidaz ve transpeptidaz aktivitesine de sahiptir. PBP 7 ise durağan dönem sırasında transpeptidaz aktivitesine sahip bir hedef olabilmektedir [60].

β -laktam antibiyotiklerin bakteri hücresinde lizis oluşturmasında bakterinin peptidoglikanını hidrolize eden enzimlerinin de rolü vardır. Bakteri hücresinin büyümesi bir taraftan yeni peptidoglikan molekülleri oluştururken, diğer taraftan bunların hücre duvarına eklenmesi için mevcut çapraz bağlarının hidrolize edilerek açılmasına bağlıdır. Bakterideki hidrolazların etkisi ile peptidoglikan molekülündeki çapraz peptit bağları hidrolize olmaktadır. Ancak ortamda β -laktam antibiyotikler bulunduğunda, bunlar ilgili enzimlere bağlanarak; gelişen hücrede yeni peptit bağlarının oluşmamasına, hücre duvarının örgüsünü kaybetmesine ve erimesine neden olmaktadır [57-60].

Bakteri hücresinin erimesi bakterinin otolitik enzimlerine bağlıdır (Şekil 2.3). β -laktam antibiyotikler hücrede peptidoglikan sentezi olmadığında başka bir deyişle bakteri hücresi üremediğinde etkisiz kalmaktadır [59,61,63,64].



Şekil 2.3. Hücre duvarı sentezinin inhibisyonu: 4a: Prekürsörler PBP'ler tarafından çarpaz bağlanır ve hücre duvarına katılır. 4b: Beta laktam antibiyotik porinlerden hüreye girer ve PBP'lere bağlanır. 4c: Bağlanma meydana gelmesi hücre duvarını bozan otolizlerin ortama salınmasına neden olur. 4d: Beta-laktam antibiyotik PBP'lere bağlandıktan sonra bakteri hücre duvarının bütünlüğünde esas olan proteinleri daha uzun süre sentez edemez. 4e: Hücre duvarı bütünlüğünü kaybeder ve osmotik basınca uzun süre dayanamaz [59,61,63,64]

2.3. β -Laktam Antibiyotiklere Karşı Direnç Mekanizmaları

Antibiyotik direnci; bir mikroorganizma türünün bazı izolatlarının antibiyotikten etkilenmemesi ya da antibiyotiğe duyarlı bir izolatın çeşitli direnç mekanizmalarından biri ile dirençli hale dönmesi olarak tanımlanır. Kazanılmış antibiyotik direnci ya mikroorganizma kromozomunda oluşan mutasyonlarla ya da dirençli bir mikroorganizmanın direnç genini duyarlı mikroorganizmalara aktarması ile ortaya çıkar. Mikroorganizmalarda kazanılmış antibiyotik direncinin mekanizmaları Çizelge 2.1'de gösterilmiştir.

Çizelge 2.1. Mikroorganizmalarda antibiyotik direnç mekanizmaları [65-67]

Direnç mekanizması	Etkilediği antibiyotikler
Antibiyotiğin hedef bölgeye ulaşmasının engellenmesi (içeri girmesini güçleştirerek yada dışarı atılımın hızlandırarak)	Beta-laktam antibiyotikler, kinolonlar, kloramfenikol, tetrasiklin, eritromisin, trimetoprim.
Antibiyotiğin etkilediği hedef noktanın değiştirilmesi	Beta-laktamlar, aminoglikozid, eritromisin, klindamisin, kinolonlar, rifampin, sülfanamid, trimetoprim, vankomisin.
Antibiyotiğin sentezlenen bir enzimle inaktive edilmesi	Aminoglikozidler, beta-laktamlar, kloramfenikol

β -laktam antibiyotiklere karşı direnç de yine Çizelge 2.1'deki gibi üç mekanizma ile gelişir.

- 1) Penisilin bağlayan proteinlerde oluşan değişiklikler ile gelişen direnç,
- 2) Permeabiliteye bağlı direnç,
- 3) β -laktamaz enzimlerine bağlı direnç [65-71].

2.3.1. Penisilin bağlayan proteinlerde oluşan değişiklikler ile gelişen direnç

Bu direnç kromozomal mutasyonlar sonucunda ortaya çıkar. Bu ya PBP'nin (Penisilin bağlayan protein) β -laktam antibiyotiğe afinitesinin azalması yolu ile, ya da PBP sayısında azalma olması veya β -laktam antibiyotiklere düşük afinite gösteren yeni PBP'nin sentezlenmesi yoluyla olur [65-70,72].

Bakteri hücresinde hedef aldığı PBP'lerdeki değişikliklerle de β -laktam antibiyotiklere direnç gelişmektedir. Bu değişiklikler PBP'lerin sayısında veya

β -laktam antibiyotiklere afinite gösteren yeni PBP'lerin sentezlenmesi ile ortaya çıkmaktadır [55,73].

2.3.2. Permeabiliteye bağılı direnç

Birçok Gram pozitif bakteride β -laktam antibiyotiklere karşı bir permeabilite engeli yokken, Gram negatif bakterilerde bulunan dış membran β -laktam antibiyotiklere karşı engel oluşturur [74].

β -laktam molekülleri dış membranı porin proteinlerinden oluşan porlar yoluyla geçmektedir. Porin proteinlerinin sentezinin azalmasına neden olan veya bu proteinlerde değişikliğe neden olan mutasyonlar β -laktam antibiyotiklere duyarlılığın azalması ile sonuçlanır. Permeabilitenin azalmasıyla görülen direnç, enzimatik dirençle birleşince önemli bir direnç sorunu oluşur [69].

Porin proteinlerinin elektrik yükü, çapı, açık olanlarının sayısı moleküllerin geçişini etkilemektedir. *E.coli*'de tanımlanan porinlerden en iyi bilinenleri OmpF ve OmpC'dir. Bunlardan daha geniş olan OmpF porinleri daha büyük moleküllerin geçmesine elverişli olduğundan β -laktam antibiyotikler ancak OmpF porinlerinden bakteri hücrelerine girebilmektedir. Bir *E.coli* hücresinde 10^5 kadar porin bulunması, porinlerden geçebilen bir antibiyotiğin çok kısa bir sürede hücre içine yeterli miktarda girmesini sağlamaktadır [60,75]. Genel olarak antibiyotik ne kadar büyük, ne kadar çok negaif yüklü ve ne kadar fazla hidrofobik ise penetrasyonu o kadar zayıftır. Küçük, zwitterionik ve hidrofilik moleküller (imipenem) gibi yüksek oranda penetre olur [76].

2.3.3. β -laktamaz enzimlerine bağılı direnç

Escherichia coli'ye etkili ilk β -laktam antibiyotik olan ampisilinin kullanıma girmesiyle, Gram negatif çomaklarda direnç gelişmeye başlamıştır. Bu direnç, plazmid aracılıklı dar spektrumlu β -laktamazlar olan TEM-1 ve SHV-1 aracılığıyla gelişmiştir. 1960'lar ve 1970'ler boyunca β -laktamaz yapan

bakterilerin seleksiyonu sonucu direnç sıklığı artmaya devam etmiştir. Özellikle hastanelerde artan antibiyotiklere dirençli bakteriler sorunuyla başedebilmek için, temel sefalosporin molekülündeki minör değişikliklerle β -laktamaza dayanıklı geniş spektrumlu sefalosporinler geliştirildi ve 1980'lerin başlarında klinik kullanıma girdi. Klinikte pratik olarak ilk kullanılan antibiyotik sefotaksimdi; bunu seftriakson ve seftazidim izledi. 1980'lerin ortalarından itibaren Gram-negatif bakterilerde geniş spektrumlu sefalosporinlere β -laktamaz aracılıklı direnç ortaya çıkmaya başladı. GSBL'ler daha dar spektrumlu SHV-1 ve TEM-1 β -laktamazlardan izolat alan mutantlardı. Bu mutantları kodlayan genler, mobil genetik elementler üzerinde bulunduğu için hastane kökenli patojenler arasında kolaylıkla yayılmıştır. İlk genişlemiş spektrumlu SHV enzimi 1983 yılında *Klebsiella pneumoniae*, *Klebsiella ozaenae*, *Serratia marcescens* klinik izolatlarında tanımlanmış ve SHV-1'e benzerliğinden dolayı SHV-2 olarak isimlendirilmiştir. SHV-1 enzimideki tek amino asidin yer değişikliği bu enzimin aktivitesini geniş spektrumlu sefalosporinleri kapsayacak şekilde genişletmiştir. Bu tarihten günümüze kadar SHV-12'ye kadar isimlendirilen ve nokta mutasyonlarına bağlı olarak amino asid yer değişiklikleri sonucunda ortaya çıkan GSBL'lar bildirilmiştir. SHV ailesinin ilk üyeleri *Klebsiella* izolatlarında tanımlanmış, sonradan *E. coli* izolatlarında da saptanmıştır. GSBL'leri kodlayan genler mobilize olduklarından çok çeşitli Gram-negatif patojenlere yayılmıştır [77].

β -laktamazlar penisilinler, sefalosporinler ve benzeri β -laktam antibiyotikleri hidrolize eden ve bu antibiyotiklere direnç gelişimine neden olan enzimlerdir. β -laktam direnç mekanizması antibiyotiklere karşı klinikte en çok gözlenen direnç mekanizmasıdır. Doğada pek çok Gram pozitif ve Gram negatif bakteri β -laktamaz enzimi üretmektedir. Ancak bunlar arasında Stafilokokkal ve Enterobakteriyal β -laktamazlar, Gram pozitif bakterilerde hücre dışı enzimler olup hücre zarı dışında faaliyet gösterirler. Gram negatif bakterilerde de periplazmik boşluk içinde yer alırlar. β -laktamazlar amid, amidin ve benzeri karbon azot bağlarını parçalayan enzimlerdir. Substratları olan antibiyotik ile

karşılıklı etkileşerek kompleks bir ara ürün oluştururlar ve plazmid aracılığı ile sentezlenen enzimlerin özellikleri birbirinden oldukça farklıdır [78-80].

2.4. β -Laktamazların Sınıflandırılmasında Kullanılan Parametreler

β -laktamazlar çeşitli kriterlere göre sınıflandırılırlar.

β -laktamazların sınıflandırılmasında kullanılan en önemli parametrelerin biri substrat profilidir. Enzimin çeşitli β -laktam antibiyotikleri hidroliz etme aktivitesini gösterir. Her enzim için V_{max} (maksimum hidroliz hızı) ve K_m (bağlanma afinitesi) değerleri saptanır. Substrat profillerini kıyaslamada V_{max} değeri kullanılır. K_m değeri, reaksiyon hızı V_{max} 'ın yarısı olduğunda hidrolize edilecek substrat konsantrasyonunu gösterir. K_m değeri ne kadar küçükse, afinite o kadar fazladır. Bakteri hücresi tarafından üretilen β -laktamaz miktarı hedef proteinin (PBP) antibiyotiğe afinitesi ve sayısı ile antibiyotiğin bakteri difüzyon hızı, etkili olan diğer faktörlerdir [81-83]. Bazı β -laktam antibiyotikler de bu kıyaslamada referans olarak seçilmiştir. Çeşitli penisilinazlar ve geniş spektrumlu β -laktamazlar arasında ayırım yapabilmek için benzil penisilinden, ampisilinden, karbenisilinden ve kloksasilinden yararlanılır. Sefalosporinler için referans antibiyotik sefaloridindir. Kıyaslamada sefalotin kullanılır. Yeni β -laktamazların ortaya çıkışıyla sefotaksim, seftazidim, aztreonam ve imipenem bu substratlara ilave edilmiştir [81].

İnhibisyon profili bir diğer önemli parametredir. β -laktamazların inhibitör etkilerini görmek için klavulanik asit, aztreonam, sulbaktam kullanılır. Kloksasilin sefalosporinazlar için iyi bir inhibitördür. İnhibitör aktivitesi I_{50} değeriyle verilir. I_{50} , belirli koşullarda kullanılan substrat, substrat konsantrasyonu, enzim ve inhibitörün inkübasyon süresi enzimatik aktiviteyi %50 oranında düşürmek için gereken inhibitör konsantrasyonudur. Kloksasilin ve aztreonam zayıf inhibitörlerdir. Bunlara inhibitör verileri K_i (inhibisyon sabiti) olarak verilir. P-kloro-merküribenzoat ile inhibisyon enzimin katalitik

olarak önemli bir sistein yan grubu olduğunu gösterirken, EDTA ile inhibisyon enzim aktivitesi için metal iyonuna gereksiniminin olduğunu gösterir [81].

β -laktamazların molekül ağırlıkları, izoelektrik ve moleküler yapıları fiziksel karakterlerini belirler. Bu fiziksel özelliklerde sınıflandırılmalarında kullanılır [81]. İsoelektrik noktaların belirlenmesinde kullanılan "Isoelectric focusing (IEF)" yönteminde enzimler poliakrilamid jel üzerinde elektroforetik olarak oluşan pH gradiyentinde izoelektrik noktalarında odaklanmakta ve nitrosefin gibi bir kromojenik sefalosporin kullanılarak görünür hale gelmektedir [83].

2.5. β -Laktamaz Enzimlerin Sınıflandırılması

β -laktam antibiyotiklere direncin en sık karşılaşılan nedeni, mikroorganizmaların β -laktamaz üretimidir [55,69,84,85]. Antibiyotiğin β -laktam halkasındaki amid bağının β -laktamazlar tarafından hidrolizi sonucunda, antibiyotiklerin hiçbir antibakteriyel özellik taşımayan asidik türevleri ortaya çıkar [84]. Gram negatif bakterilerin β -laktamazlarının çok çeşitli olmaları ve sayılarının gittikçe artması nedeniyle çeşitli sınıflandırma şemaları önerilmiştir.

Sawai ve arkadaşları, substrat profiline esas alarak Gram negatif β -laktamazları için ilk sınıflandırmalardan birini önermişlerdir. Bu sınıflandırmaya göre grup I sefalosporinazları, grup II penislinleri de hidrolize eden, grup III esas olarak penisilinazları içermektedir [75]. Jack ve Richmond, daha sonra Richmond ve Sykes tarafından 1973 yılında genişletilen substrat profilinin esas alındığı dört enzim sınıfını içeren bir sınıflandırma yapmışlardır [86,87]. Bu sınıflandırmada grup I geniş etki spektrumuna sahip enzimleri, grup II penislinazları, grup III penisiline karşı minimum aktiviteye sahip sefalosporinazları kapsamaktadır [60,88-90].

Substrat profili ve inhibisyon çalışmalarının esas olarak alındığı Richmond ve Sykes tarafından yapılan bu sınıflandırmada daha sonra Sykes ve Matthew

[91] tarafından izoelektrik noktaları esas alınarak genişletilmiştir. Richmond ve Sykes sınıflandırmasında Sınıf I enzimleri sefalosporinazlar, Sınıf II enzimleri penisilinazlardır. Sınıf III enzimleri geniş spektrumlu enzimlerdir, kloksasilin tarafından inhibisyona duyarlı, fakat p-kloromerküribenzoata dirençlidir. Sınıf IV enzimleri de geniş spektrumlu enzimlerdir, ancak kloksasilin tarafından inhibisyona dirençli, p-kloromerküribenzoata duyarlıdır. Sınıf V enzimleri hem kloksasilin hem p-kloromerküribenzoat inhibisyonuna dirençli penisilinazlardır. Richmond ve Sykes tarafından yapılan sınıflandırma Çizelge 2.2’de gösterilmiştir [60,89,90].

Çizelge 2.2. β -laktamazların Richmond ve Sykes’a göre sınıflandırılması [87,88]

Sınıf	Genetik lokasyon	Majör Substrat	İndüklenebilir (İ) veya Konstitütif (K)	Sentez eden mikroorganizmalar
I	Kromozom	Sefalosporinler	İ, K	Enterobacter Citrobacter Serratia, Yersinia, Providencia, Acinetobacter, Pseudomonas türleri <i>P.vulgaris</i>
II	Kromozom	Penisilinler	İ, K	Pseudomonas türleri <i>V.parahaemolyticus</i>
III	Plazmid	Penisilinler, Sefalosporinler	İ, K	<i>E.coli</i> , Shigella, Salmonella Pseudomonas Neisseria türleri <i>H.influenzae</i>
IV	Kromozom	Penisilinler, Sefalosporinler	İ, K	Klebsiella Enterobacter türleri
V	Plazmid	Penisilinler (Kloksasilin dahil)	K	<i>E.coli</i> Pseudomonas türleri
VI	Kromozom	Sefalosporinler	K	Bacteroides türleri

Sykes ve Matthew β -laktamazları sınıf A ve sınıf B olmak üzere iki gruba ayırmışlar, kromozomal sınıf A enzimlerini penisilinazlar, sefalosporinazlar ve geniş spektrumlu β -laktamazlar olarak, plazmid kaynaklı sınıf B enzimlerini

ise isoksazolil penisilinleri hidroliz etmeyenler, isoksazolil penisilinleri hidrolize edenler ve diğer β -laktamazlar olarak alt sınıflara ayırmışlardır [60,89,90].

Mitsubishi ve Inoue'nin 1981 yılında yaptıkları sınıflamada sefuroksimi hidroliz eden β -laktamazlar kategorisi dikkat çekmiştir. 1989'da Karen ve Bush tarafından önerilen sınıflandırmada (Çizelge 2.3) tüm bakterilerin β -laktamazları yer almış ve ilk kez substrat ve inhibitör özellikleri moleküler yapı ile ilişkilendirilmiştir [9,81,92-94].

Çizelge 2.3. Karen ve Bush'a göre β -laktamazların sınıflandırılması

Gruplar	Başlıca etkilenen antibiyotikler	CA** inhibisyon ile	Enzimler
1	Sefalosporinler	-	AmpC enzimler
2a	Penisilinler	+	Penisilinazlar
2b	Penisilinler Sefalosporinler	+	TEM-1,TEM2, SHV-1
2be	Penisilinler Sefalosporinler Monobaktamlar	+	TEM-3'ten TEM-26'ya ve SHV-2'den SHV-6'ya kadar olanlar, <i>K. ocytoca</i> K1
2c	Penisilinler Karbenisinler	+	PSE-1,PSE-3,PSE-4
2d	Penisilinler Kloksasinler	±	OXA-1,=XA-11,PSE-2
3	β -laktamlar'ın çoğu Karbapenemler	-	<i>S. maltophilia</i> L1, <i>B. fragilis</i> Ccr A
4	Penisilinler	-	<i>P. cepacia</i> 'nın ürettiği penisiliaz

Bush tarafından önerilen şemada ise hem plazmid hem de kromozomal özellikli enzimler vardır. Bu sınıflandırmada öncelikli sınıflandırmalarda kullanılan substrat profili, inhibitör profili ve moleküler ağırlığı ile izoelektrik nokta gibi fiziksel özelliklere oksasilin, sefoksitin ve nitrosefin, ayrıca tazobaktam ile inhibisyon da eklenerek enzimler 4 grupta toplanmıştır. Çizelge 2.4'de, β -laktamazların en son sınıflandırma şeması, molekül sınıfları, tercih edilen substrat ve β -laktamaz inhibitörlerine duyarlılıkları verilmiştir [9,95].

Çizelge 2.4. Bush'a göre beta-laktamaz grupları ve genel özellikleri [61,81,92]

Grup	Alt Başlık	Majör Substrat	İnhibisyon CA* EDTA**		Önemli örnek enzimler
1	CEP-N	Sefalosporinler	-	-	Gram negatif bakterilerin kromozomal enzimleri
2a	PEN-Y	Penisilinler	+	-	Gram pozitif bakterilerin penisilinazları
2b	BDS-Y	Sefalosporinler, Penisilinler	+	-	TEM-1, TEM-2, SHV-1, HMS-1, CEP-2, ROB-1, OHIO-1, LXA-1
2b'	EBS-Y	Sefalosporinler, özellikle sefotaksim, Penisilinler	+	-	TEM-3 (CTX-1), TEM-4, TEM-5 (CAZ-1), TEM-7, TEM-10, SHV-2, SHV-3, SHV-4, SHV-5, CAZ-2, TLE-1, RHH-1
2c	CAR-Y	Penisilinler, özellikle karbenisilin	+	-	PSE-1, PSE-3, PSE-4, CARB-3, CARB-4
2d	CLX-Y	Penisilinler, özellikle kloksasilin	+	-	OXA-1, OXA-2, OXA-7, PSE-2, <i>B.fragilis</i> beta-laktamazi
2e	CEP-Y	Sefalosporinler	+	-	<i>X.maltophilia</i> L2, <i>P.vulgaris</i> , <i>B.fragilis</i> beta-laktamazi, FEC-1
3	MET-N	Değişken	-	+	<i>B.cereus</i> II, <i>X.maltophilia</i> L1
4	PEN-N	Penisilinler	-	+,-	<i>P.cepacia</i> beta laktamazi

* CA: Klavulanik asit

** EDTA: Etilendiamintetraasetik asit

*** Bu grubun bazı üyelerinde klavulanik asidin yüksek konsantrasyonları ile inhibisyon oluşabilir.

Bu sınıflandırmadaki grup 1, β -laktamazları esas olarak Richmond ve Sykes'in sınıf 1 enzimleri ile benzerlik göstermektedir. Enzimi fazla miktarda meydana getiren deprese mutantlar izole edilebilmesine rağmen, bunlar genellikle indüklenabilir kromozomal enzimlerdir. Bu enzimler sefaloridin ve sefalotini bazı penisilinlerden çok daha hızlı hidrolize etmektedir. Moleküler düzeyde incelendiklerinde bu sınıftaki enzimlerinin tümünün Sınıf C'ye ait olduğu saptanmıştır [92].

Grup 2 β -laktamazların klavulanik asit için güçlü bir afiniteye sahip olmaları, gen hibridizasyonu ve immünolojik özellikleri bakımından benzerlik göstermekle birlikte, incelenen substrat profillerinin farklılığından dolayı birçok alt sınıfı kapsamaktadır. Moleküler düzeyde Sınıf A'daki enzimlerin hepsi Bush sınıflandırmasında grup 2 β -laktamazları arasında yer almaktadır. Klavulanik asit tarafından inhibe edilen grup 2A β -laktamazları Gram pozitif bakterilerin penisilinazlarının birçoğunu kapsamaktadır. Penisilinleri hidrolize etme kapasitesi sefalosporinlerinkinden daha yüksektir. Kloksasilin bu enzimler için bir inhibitör değildir. Grup 2b, β -laktamazları hem penisilinleri hem sefalosporinleri hidrolize etmektedir. Geniş çapta yayılmış olan plazmid kaynaklı TEM-1, TEM-2 VE SHV-1 enzimleri bu grupta yer almaktadır. Bu enzimler klavulanik asit tarafından aztreonam veya kloksasilinden daha iyi inhibe edilmektedir. Bu gruptaki enzimlerin, geniş spektrumlu sefalosporinler, aztreonam ve imipenemi zayıf oranda hidrolize ettiği belirlenmiştir. CEP-2 β -laktamazı başlangıçta bir sefalosporinaz olarak belirlenmesine rağmen, benzilpenisilini sefaloridin ve sefalotin kadar iyi, karbenisilini ise sefalosporinlerin yaklaşık yarısı oranında hidrolize ettiğinden bu grupta yer almaktadır. Klavulanik asit tarafından kuvvetli bir şekilde inhibe edilen grup 2b β -laktamazları benzilpenisilinden daha az oranda olmakla birlikte, aminotiyazoloksim β -laktamları veya geniş spektrumlu β -laktamları hidrolize etme yeteneğindedirler. Bunlar arasında TEM-3 (CTX-1), TEM-5 (CAZ-1), SHV-2, SHV-3 gibi TEM veya SHV tipi enzimler bulunmaktadır. Aztreonamı hidrolize etme yeteneğinden dolayı K1 β -laktamazları da bu grupta yer almaktadır [92]. Grup 2c β -laktamazları benzilpenisilin gibi karbenisilini de

hidrolize etmektedir. Sefalosporinleri penisilinlerden çok daha yavaş hidrolize etme eğiliminde olan ve genellikle kloksasilin için de yavaş hidroliz hızına sahip olan PSE-1, PSE-3 ve PSE-4 β -laktamazları bu grupta yer almaktadır. PSE-2'nin de başlangıçta bu grupta yer alması gerektiği düşünülmesine rağmen daha sonra grup 2d'de yer alması kloksasilin hidrolizinin bu enzim için daha ayırt edici bir özellik olmasından kaynaklanmaktadır. Grup 2c enzimleri genellikle klavulanik asit tarafından inhibe edilmektedir oysa kloksasilin veya aztreonam için daha zayıf afiniteye sahiptirler. OXA-4 enzimi bir istisna olmakla birlikte, grup 2d β -laktamazlarından daha az oranda inhibe edilmektedir. Bununla birlikte aztreonam ve kloksasiline zayıf afinite göstermektedir. Aminoasit dizileri diğer β -laktamazlarından farklı olan OXA-2 ve PSE-2 β -laktamazları moleküler yapıları göz önüne alınarak Sınıf D olarak kabul edilmektedir. Klavulanik asidin düşük konsantrasyonları tarafından inhibe edilen grup 2e enzimleri grup 1'de belirtilenlerden farklı bir grup sefalosporinazı kapsamaktadır [96,97].

Klavulanik asit tarafından inhibe edilmeyen grup 3 β -laktamazları metallo enzimleri kapsamaktadır. EDTA tarafından inhibe edilen bu enzimlerin aktivitesi için divalent bir katyon; genellikle de çinko gerekmektedir [92].

Grup 4 β -laktamazları klavulanik asit tarafından inhibe edilmeyen farklı penisilinazları kapsamaktadır. Bu enzimlerin çoğu karbanisilin ve/veya kloksasilin tarafından yüksek oranda hidrolize edilmektedir [92].

Bush-Jacoby-Medeiros tarafından yapılan sınıflandırma amino asit dizilerine dayanılarak yapılmıştır. β -laktamazlar A,B,C,D olmak üzere dört grupta incelenmiştir [98,99]. Her dört sınıfın da kromozomal ve plazmid kökenli temsilcileri vardır [79]. Sınıf A serin penisilinazlar, sınıf B metallo-enzimler, sınıf C serin sefalosporinazlar ve sınıf D oksasilini hidrolize eden serin β -laktamazları içermektedir [97]. Klinik olarak en önemli β -laktamazlar sınıf A ve sınıf C'ye aittir [95]. Bush-Jacoby-Medeiros sınıflandırması Çizelge 2.5'te gösterilmiştir [9].

Çizelge 2.5. Bush-Jacoby-Medeiros sınıflandırması [9]

Bush Jacoby Medeiros	1989 Bush Grubu	Richmond- Sykes Grubu	Mitsuhashi - Inoue Sınıfı	Molekül Sınıfı	Tercih Edilen Substrat	Inhibisyon CA ^b EDTA	Enzimler
1	1	Ia, Ib, Id	CSase	C	Sefalosporinler	- -	Gram negatif bakterilerin Amp C enzimleri: MIR-1
2a	2a	Yok	PCase V	A	Penisilinler	+ -	Gram pozitif bakterilerin penisilinazları
2b	2b	III	PCase I	A	Penisilinler, Sefalosporinler	+ -	TEM-1, TEM-2, SHV-1
2be	2b'	Yok (sadece IV'teki K1)	CXase	A	Penisilinler, dar ve geniş spektrumlu sefalosporinler, monobaktamlar	+ -	TEM-3'den TEM-26'ya, SHV- 2'den SHV-6'ya <i>Klebsiella oxytoca</i> K1
2br	Yok	Yok	Yok	A	Penisilinler,	± -	TEM-30'dan TEM-36'ya TRC- 1
2c	2c	II, V	PCase IV	A	Penisilinler, karbenisilin	+ -	PSE-1, PSE-3, PSE-4
2d	2d	V	PCase II PCase III	D	Penisilinler, oksasilin	± -	OXA-1'den OXA-11'e PSE-2 (OXA-10)
2e	2e	Ic	CXase	A	Sefalosporinler	+ -	<i>P. vulgaris</i> 'in indüklenbilir sefalosporinazları
2f	Yok	Yok	Yok	A	Penisilinler, sefalosporinler, karbapenemler	+ -	<i>E. cloacae</i> 'nin NMC-A'sı <i>S. marcescens</i> 'in Sme-1 enzimi
3	3	Yok	Yok	B	Birçok β-laktam karbapenemler dahil	- +	<i>S. maltophilia</i> 'nın L1 enzimi <i>B. fragilis</i> 'in Ccr A enzimi
4	4	Yok	Yok	ND ^c	Penisilinler	- ?	<i>B. cepacia</i> 'nın penisilinazı

Bush-Jacoby-Medeiros sınıflandırmasında Grup 1'de klavulanik asit ile inhibe olmayan sefalosporinazlar bulunurken Grup 2'de β -laktamaz inhibitörlerine duyarlı moleküller sınıf A veya D içinde yer alan enzimler bulunur. Grup 3'de EDTA ve p-kloromerküri benzoat dışındaki β -laktamaz inhibitörlerine duyarlı olmayan metallo β -laktamazlar, Grup 4'de ise klavulonik asit ile inhibe olmayan penisilinazlar bulunmaktadır [9].

Bu sınıflandırmada üç yeni grup olarak 2be, 2br ve 2f bulunmaktadır. TEM ve SHV'den türeyen β -laktamazlar devamlı artış gösterdiği için bu enzim türevleri 2b de toplanmıştır. Genişlemiş spektrumlu β -laktamazlar bu sınıflamada 2be grubuna konulmuştur. 2b'den izolat alıp β -laktamaz inhibitörlerine afiniteleri azalmış olan enzimler de 2br grubuna dahil edilmiştir. 2f grubundaki β -laktamazlar, aktif bölgelerinde serin içeren ve klavulanik asitle hafif inhibe olan, karbapenemi hidroliz eden enzimlerdir. Bu sınıflandırma tablosunda ayrıca oksasilin, sefoksitin ve nitrosefin için substrat profilleri, tazobaktam ile inhibisyon profili, Grup 2d'deki enzimler için metsilin hidrolizi bulunmaktadır [9].

Grup 1'de bulunan sefalosporinazların birçoğu kromozomal kökenli indüklenebilen enzimlerdir. Yüksek düzeyde enzim sentezleyen deprese mutantların da β -laktamazları bu grupta yer alır. Klavulanik asit ve Sulbaktam'dan etkilenmezler. Aztreonam ve Kloksasilin tarafından inhibe edilirler. Moleküler Sınıf C'de yer alırlar. Kromozomal Amp-C enzimleri, ayrıca plazmit kontrolündeki FOX-1, MIR-1, MOX-1, BIL-1 β -laktamazları bu grupta bulunmaktadır. Bu grup enzimler karbapenemler ve sefepim hariç diğer β -laktamazları hidroliz edebilmektedir. Sefaloridin ve sefalotini penisilinden daha hızlı hidroliz ederler [9].

Grup 2'deki enzimler substrat profillerindeki farklılık nedeniyle alt gruplara ayrılmıştır. Bir alt grup hariç hepsi moleküler sınıf A'da bulunurlar [9].

Grup 2a'da bulunan enzimler penisilini hidrolize eden, klavulonik aside duyarlı olan enzimlerdir. Kloksasilin ile inhibe edilmezler [9]. Grup 2b hem penisilin hem de sefalosporinleri hidroliz eden (geniş spektrum), klavulanik aside duyarlı β -laktamazları içerir. Plazmid kontrolündeki TEM ve SHV-1 enzimleri bu gruptadır. Moleküler ağırlıkları 30 binden azdır. Yeni kuşak sefalosporinler, aztreonam ve imipeneme karşı düşük hidrolitik aktivite gösterirler [9].

Daha önce 2b grubunda bulunan enzimler bu sınıflandırmada 2be grubu olarak yeni bir gruba yerleştirmişlerdir. Geniş spektrumlu β -laktamazları hidroliz ederler. Klavulanik asitle inhibe olmazlar. TEM-3 ile TEM-26 arasındaki enzimleri SHV-2'den SHV-6'ya kadar olan enzimler ve *Klebsiella oxytoca*'nın K1 enzimi bu grupta bulunur [9].

Grup 2be enzimleri klavulanik asitten etkilenmeyen, geniş spektrumlu β -laktamazların bulunduğu gruptur. TEM-30'dan TEM-36'ya kadar olan enzimler ve TRC-1 enzimi bu grubun temsilci enzimlerindedir [9].

Grup 2c β -laktamazları benzilpenisilini ve karbenisilini hidroliz edip, klavulanik aside duyarlı olan enzimlerdir. Kloksasilini yavaş hidroliz etmeleriyle Grup 2d enzimlerinden ayrılırlar. Penisilinleri sefalosporinlerden çok daha hızlı hidroliz ederler. PSE-1, PSE-3, PSE-4 β -laktamazlarının da bu grupta yer alması düşünülmüş ancak kloksasilini hidroliz etme özelliğinin ayırt edici özellik olmasından Grup 2d'de yer almıştır. Grup 2c enzimleri kloksasilin veya aztreonam için daha zayıf afiniteye sahiptirler [9].

Grup 2d enzimleri kolksasilini benzilpenisilinden daha hızlı hidroliz eden, klavulanik asit ve sulbaktama dirençli olan β -laktamazlardır. PSE-2 enzimi ile beraber OXA enzimleri de bu grupta yer alır. Grup 2d β -laktamazları diğer Grup 2'nin diğer alt gruplarından farklı olarak moleküler sınıf D'de bulunurlar [9].

Grup 2e enzimleri sefalosporinaz olmalarına rağmen Grup 1'dekilerden farklı olarak klavulanik asit ile inhibe olmaktadır. Grup 2f β -laktamazları karbapenemleri hidroliz edip, klavulanik asit ile inhibe olmaktadır. Grup 3 β -laktamazları EDTA ile ihibe olup, klavulanik asitle inhibe olmayan metalloenzimlerin bulunduğu gruptur. Aktiviteleri için Zn^{++} iyonlarına gereksinimleri vardır. Grup 4 enzimleri klavulanik asitle inhibe olmayan penisilinazların bulunduğu gruptur. Bu grup enzimlerin moleküler sınıfı belirlenmemiştir. *E.coli'nin*, kromozomal enzimleri bu grupta yer almaktadır [9,92].

Yeni β -laktamazların belirlenmesi ve sınıflandırması için DNA ve protein dizilerinin saptanmasını temel alan araştırmalar yapılmaya devam etmektedir [100].

β -laktamaz enzimleri Gram pozitif bakterilerde ekstraselüler karakterde iken, Gram negatif bakterilerde periplazmik aralıkta yer almaktadır. Bu enzimler bakteri kromozomunda veya plazmidde kodlanmaktadır. Ayrıca gerek kromozomal gerekse plazmidde bulunan β -laktamaz geninin transpozonda da taşınabilmesi kromozom ve plazmide bağlı direnç kavramlarını birbirine daha da yakınlaştırmaktadır [97].

2.6. β -Laktamazların Adlandırılmaları

β -laktamazların bazıları tercih ettikleri substrata göre (CARB-FUR,IMP,OXA), bazıları biyokimyasal özelliklerine göre (SHV,NBC) adlandırılırken genlerine göre (AMP,CepA), izole edildikleri bakterilere (AER,PSE), izolatlara (P99), hasta isimlerine (TEM,ROB), bulan kişilere (HMS), hastaneye (MIR; RHH), eyaletlere (OHIO) göre de adlandırılmışlardır. Bu farklı şekillerde adlandırma β -laktamazları karmaşık bir hale sokmuştur. Bugün bu adlandırmalardan bazıları gerçekliklerini yitirmişlerdir. Örneğin SHV enzimi için "sulfhdryl variable"dan katılarak adlandırma yapılmıştır. Ancak SHV-1 enzimin aktif bölgesinde sülfidril yerine serin hidroksil olduğu görülmüştür [94].

2.7. Kromozomal β -Laktamazlar

Gram negatif γ omaklarda kromozom kontrolünde sentezlenen β -laktamazlar bulunur. Bunlardan bir grup Richmond-Sykes sınıflamasında Tip 1, Bush tarafından yapılan sınıflandırmada Grup 1'de yer alan enzimlerdir. Bu enzimler sefalosporinleri penisilinlerden daha hızlı hidroliz ederken, klavulanik asit ve sulbaktam gibi β -laktamaz inhibitörlerinden etkilenmeyen enzimleridir [101].

Kromozomal Bush Grup I β -laktamazları (Amp C tipi enzimler) yüksek oranda üreten bazı Gram negatif bakterilerde geniş spektrumlu penisilinlere ve sefalosporinlere direnç görülmektedir [102]. Grup I β -laktamazlar indüklenebilir özelliktedir [103]. Yani normalde bakteri tarafından az miktarda sentezlenen enzim, ortamda bulunan bir indükleyicinin etkisi ile yüksek miktarlarda sentezlenmeye başlar. Farklı β -laktam ajanların bu β -laktamazları indükleme yeteneği ve indükledikleri enzimlere dayanıklılıkları farklıdır. Normalde indüksiyon etkisi geçici olup indükleyicinin etkisi kalkınca tekrar bazal düzeye gelir. Ancak bu tip β -laktamazları üreten türlerde esas sorun indüksiyona gerek olmaksızın yüksek oranda β -laktamaz üreten (dereprese) mutantların bulunmasıdır. Bu mutantlar bakteri topluluğunda 10^{-5} - 10^{-8} sıklığında bulunur. 2. kuşak, 3. kuşak sefalosporinler, aztreonam ve üreidopenisilinler bu tip β -laktamazlar için zayıf indükleyiciler olmalarına karşın, üretilen enzim tarafından parçalanır. Dolayısıyla, bu ajanlar, tedavide tek başlarına kullanılmaları halinde dereprese mutantları seçme özelliğindedir. Bunun sonucunda tedavi başarısızlıkları ortaya çıkmaktadır. Üçüncü kuşak sefalosporinlerle bakteriyemi tedavisi sırasında dereprese mutantların seçilme sıklığı %20-40 olarak bildirilmektedir [103]. İndüklenebilir β -laktamaz (İBL) varlığı disk indüksiyon testi ile gösterilebilir. Bu testte kuvvetli indükleyiciler olan imipenem veya sefoksitin diskleri 3. kuşak sefalosporin diskleri ile aralarındaki mesafe 1,5-2 cm olacak şekilde yan yana agar yüzeyine yerleştirilir. Sefalosporin diskinin zonunda indükleyiciye bakan

tarafında bir düzleşme olması İBL varlığı açısından pozitif olarak değerlendirilir [104].

AmpC β -laktamazların indüksiyon mekanizması oldukça karmaşıktır. AmpC geni tarafından kodlanan β -laktamazların indüksiyonunda AmpR, AmpG ve AmpD olarak adlandırılan üç gen identifiye edilmiştir. AmpC geni kendisine komşu bir gen olan AmpR geninin ürünü olan AmpR proteini tarafından normalde baskılanmaktadır. İndükleyici β -laktam antibiyotiğin bakteri hücre duvarı sentezine etkisi sonucu peptidoglikan sentezi bozulur. Ortaya çıkan peptidoglikan yıkım ürünlerinden biri (disakkarit-pentapeptit) indükleyici molekülün prekürsörü olarak düşünülmektedir. Disakkarit pentapeptidin miktarı kuvvetli indükleyicilerle artar. Bir permeaz olarak görev yapan ve bir transmembran proteini olan AmpG bu peptidoglikan fragmentinin monosakkarit pentapeptide dönüştüğü indüksiyon için sinyal molekülü ile sitoplazma içine geçişini sağlar. Monosakkarit pentapeptit AmpR proteinini aktive eder. Aktive olan AmpR, AmpC ifadesini artırır. Böylece β -laktamaz sentezinde artış olur. İndüksiyonun olmadığı koşullarda AmpD proteini monosakkarit pentapeptit sinyal molekülünü hidrolizleyerek AmpR'yi baskılayıcı formda tutar. Ortamda indükleyici olduğunda AmpG lehine bozulur ve β -laktamaz indüksiyonu başlar. β -laktamazların konstitütif olarak aşırı sentezlenmesi yoluyla görülen direnç daha çok AmpC ifadesini deprese hale getiren AmpD geninde mutasyonlara bağlıdır. Mutasyon sonucu AmpD'nin baskılayıcı etkisi kalkacak olursa AmpG'nin etkisi sürer ve AmpC sürekli olarak ifade edilerek fazla miktarda enzim sentezlenmesine neden olur. Böylece deprese mutant izolatlar ortaya çıkar [73,80].

Stabil deprese mutantlar indüklenebilir β -laktamaz sentezleyen bakteri populasyonlarında seleksiyona uğramaktadır. β -laktam antibiyotikler arasında sadece imipenem bu mutantların seçimine yol açmaktadır. Diğer taraftan az sayıda deprese mutant içeren indüklenebilir β -laktamaz sentezleyen bir bakteri popülasyonu labil-zayıf indükleyicilerle karşılaştığında, bu bakteriler yeterli miktarda enzim sentezleyemedikleri için

ölürken stabil deprese mutantların hastane mikroflorasına yerleşmesi, hastane infeksiyonları yönünden de sorun yaratmaktadır [88,105,106].

İndüklenebilir β -laktamazlarla direnç non-hidrolitik bir mekanizma ile de ortaya çıkabilmektedir. Bu mekanizmada indüklenebilir β -laktamaz üreten bakteri veya stabil-deprese mutant tarafından yüksek düzeyde oluşturulan β -laktamaz enzimi antibiyotiği hidrolize etmeden bağlayarak biyolojik olarak inaktif ezim komplekslerinin meydana gelmesine neden olmaktadır. Böylece enzim miktarının artmasına bağlı olarak antibiyotiğin hedef aldığı PBP'lere ulaşmasını engelleyen non-hidrolitik bir bariyer oluşmaktadır [84,107].

Kromozom kontrolünde sentezlenen β -laktamazların bir diğer grubunu Bush sınıflamasında Grup 3'de ve moleküler sınıf B'de yer alan metallo enzimler oluşturur. Kromozomal kökenli çinko β -laktamazların aktif bölgesinde bulunan metal iyonu β -laktamaz inhibitörüne duyarlılığı düşürerek karbapenemler dahil enzimin tüm geniş spektrumlu β -laktamazları hidroliz etmesini sağlar. Bu grup enzimler birbirleriyle %40 kadar sekans homolojisi gösterirler ve aktif bölge civarında bu oran %70-80'e varır [8].

1994 yılından itibaren çeşitli çalışmalarda imipenem direncine neden olan bla_{imp} metallo β -laktamaz geninin plazmid aracılığı ile *K.pneumoniae* izolatlarına geçtiği gösterilmiştir [84]. Kromozomal beta-laktamazlarla ilgili çizelge, Çizelge 2.6'da gösterilmiştir [85].

Çizelge 2.6. Kromozomal beta-laktamazlar [85]

Antibiyotikler	İndükleme Gücü	Hidrolize Dayanıklılık	Mikroorganizmanın Dayanıklılığı	
			İndüklenebilir beta Laktamazı olanlar	Stabil dereprese mutantlar
- Ampisilin - Dar spektrumlu Sefalosporinler	Güçlü	Dayanıklı	Dirençli	Dirençli
-Geniş spektrumlu Sefalosporinler Üreidopenisilinler - Aztreonam	Zayıf	Dayanıksız	Duyarlı	Dirençli
- İmipenem	Güçlü	Dayanıklı	Duyarlı	Duyarlı
- Temosilin	Zayıf	Dayanıklı	Duyarlı	Duyarlı

2.8. Plazmid Aracılığı ile Sentezlenen ve Diğer Sekonder β -Laktamazlar

Gram negatif bakterilerde sentezleri plazmid kontrolünde olan birçok β -laktamaz tanımlanmıştır ve tanımlanmasına devam edilmektedir.

TEM-1, TEM-2 ve SHV-1 enzimleri

- Klasik OXA ve PSE enzimleri ve nadir dar spektrumlu enzimler
- Genişlemiş spektrumlu β -laktamazlar (GSBL)
- İnhibitör dirençli TEM enzimleri
- Genişlemiş spektrumlu sekonder β -laktamazlar (TEM ve SHV kökenli olmayanlar).

Gram negatif bakterilerde β -laktam antibiotiklere karşı oluşan direnç çoğunlukla plazmid kontrolünde sentezlenen β -laktamazlar ile oluşur. Plazmid ya da transpozonlar üzerinde bulunan β -laktamaz genleri bir bakteride bulunan β -laktamazın diğer bakteriye geçişine kolaylık sağlar. Böylece direnç genlerinin bu genetik elementler üzerinde bulunması direncin daha kolay ve hızlı bir şekilde yayılmasını sağlar [7].

TEM-1, TEM-2 ve SHV-1 Gram negatif çomakların en belirgin plazmidal β -laktamazlarıdır. Bush sınıflandırmasında 2b'de yer alırlar. İlk izolat olan TEM-1 1965 yılında ampisiline dirençli bir *E.coli* izolatından elde edilmiştir. Daha sonraki yıllarda Enterobacteriaceae ailesinin diğer üyelerinde de görülmeye başlanmıştır. Plazmidal TEM-1 enzimleri bugün *E.coli* izolatlarının yarısından fazlasında vardır. Diğer Enterobacteriaceae üyelerinde sıklıkları %20-50 arasında vardır. Ülkeden ülkeye farklılık gösterir. SHV-1 ve TEM-2, TEM1'e göre daha seyrek bulunmalarına rağmen tüm dünyada yaygındır [8].

SHV-1 β -laktamazı ise esas olarak Klebsiella türlerinden izole edilmekle birlikte, günümüzde Enterobacteriaceae'deki diğer cinslerde de yaygın olarak bulunmaktadır [90,108]. Geniş spektrumlu cinslerde de yaygın olarak bulunmaktadır. Geniş spektrumlu diğer β -laktamazlardan TEM-1'e çok benzeyen TLE-1 *E.coli* izolatlarında nadiren bulunmaktadır [60,84,89,90].

Bush'un 2be grubunda yer alan GSBL'lar TEM ya da SHV enzimlerinde 1-4 aminoasit değişikliği ile oluşmuşlardır. GSBL'lar ilk olarak bir *K.pneumoniae* izolatında daha sonra Enterobacteriaceae'nin hemen hemen bütün üyelerinde bulunmuştur. Ancak bugün TEM ve SHV kökenli GSBL'lar daha sık olarak *K.pneumoniae* ve *E.coli*'de bulunmaktadır [8].

Bu mutantlarda genellikle yeni kuşak sefalosporinler için hem V_{max} 'ı hem de bağlanma afiniteleri yükselmiş böylece direnç oluşturma etkileri artmıştır [1]. Geniş spektrumlu penisilinler ve dar spektrumlu sefalosporinleri olduğu gibi, geniş spektrumlu sefalosporinleri ve monobaktamları hidrolize etme yeteneğindedirler. Karbapenemler, sefemisinler ve temosilin bunlara dayanıklıdır. Daha çok Klebsiella'larda gözlenmektedirler, ancak diğer enterik bakterilerde de bulunmaktadır [85].

Genişlemiş spektrumlu β -laktamazlar, TEM-1, TEM-2, SHV-1 gibi enzimlerden birkaç nokta mutasyonu ile gelişmiş ve penisilinler, 3. ve 4. kuşak sefalosporinlerle monobaktamları inaktive edebilme özelliğinde

enzimlerdir [9,108-110]. Günümüzde GSBL üreten izolatlarla gelişen infeksiyonların sağaltımında genişlemiş spektrumlu β -laktamların kullanılması halinde tedavi başarısızlıkları görülmektedir [111]. Bu nedenle GSBL'lerin saptanabilmesi önemlidir.

GSBL üreten izolatlar bazı genişlemiş spektrumlu β -laktam ajanlara duyarlı gibi görünseler de MİK değerlerinde inokulum etkisi görülür. İnokulum etkisi, GSBL üreten mikroorganizmaların bakteri sayısının yüksek olduğu durumlarda, direnç düzeylerinin de yükseldiğini açıklayan bir tanımdır. Önerilen inokulum düzeylerinde (5×10^5 bakteri/ml) MİK değerleri düşüktür, ancak inokulum bir infeksiyon bölgesinde olduğu gibi 10^7 'ye çıkarıldıklarında MİK değerleri 100-500 kat yükselmektedir. Bu durum, neden invitro testlerde duyarlı gibi görünseler de GSBL yapan bakterilerin etken olduğu infeksiyonlarda genişlemiş spektrumlu β -laktam kullanımından kaçınılması gerektiğini gösterir. Enzimin substrat profili değişik olabildiği için tutarsız veya mantıksız sonuçlar görülebilir. Bu nedenle antibiyogramlarda indikatör antibiyotiklerin hemen hemen tümünün yer alması önerilmektedir [102].

Doğrulama testlerinde söz konusu enzimlerin klavulanik asit ile inhibisyonu temeline dayanan yöntemler uygulanır [102,112].

Doğrulama testleri bu izolatların Amp C tipi üreten izolatlardan ayırımı için önemlidir. Amp C tipi β -laktamazlar β -laktamaz inhibitörlerinden etkilenmez. Ayrıca daha önce de belirtildiği gibi Amp C tipi β -laktamazlar 3. kuşak sefalosporinlerin yanı sıra, sefoksitin direncine de yol açar. GSBL üreten izolatlar genellikle gentamisin ve SXT'ye de dirençlidir. Çoğul dirençli özelliği de bu tip enzimler için bir diğer ipucu olabilir. Bir izolatın GSBL ürettiği saptandığında invitro duyarlılık sonucu ne olursa olsun, tüm sefalosporinler, penisilin türevleri ve monobaktamlara dirençli olarak rapor edilmelidir [113]. Ancak β -laktamaz inhibitör kombinasyonları ve sefamisinler bu enzimlerden etkilenmedikleri için duyarlılık sınırlarına göre değerlendirilirler [102].

Son yıllarda GSBL'ların arasına katılan ve CTX-M olarak tanımlanan beta-laktamazlar substrat olarak sefotaksimi tercih etmektedir [7]. CTX-M üreten mikroorganizmalarda sefotaksimin minimum inhibitör konsantrasyonu (MİK) 64 µg/mL'nin üzerinde, seftazidim MİK'leri ise 2-8 µg/mL civarındadır. Buna karşın bazı CTX-M türleri seftazidimi de hidroliz edebilmekte, seftazidim MİK'leri 256 µg/mL'ye çıkabilmektedir [114,115]. İlk CTX-M beta-laktamaz 1989 yılında Almanya'dan *E.coli*'de bildirilmiş, o tarihten bugüne kadar *Salmonella spp.* başta olmak üzere bir çok Enterobacteriaceae türünde saptanmıştır [6,114,116]. CTX-M üriner sistem infeksiyonu etkeni *E.coli*'lerde bildirilmektedir [114,117]. Bu da, sefotaksim ve seftriaksonun toplumda yaygın kullanımının CTX-M enzimlerinin ortaya çıkışında rol oynadığını düşündürmektedir [114,115].

TEM-1, TEM-2 VE SHV-1 enzimleri temosilin dışında Gram negatif bakterilere etkili tüm penisilinlere, dar spektrumlu sefalosporinlere, sefamandol ve sefoperazona karşı etkilidirler. Geniş spektrumlu sefalosporinler, sefamisinler, monobaktamlar ve karbapenemler bu enzimlere dayanıklıdır. Klavulanik asit ve Tazobaktam TEM ve SHV enzimleri için iyi inhibitörlerdir, ancak sulbaktam daha zayıf bir inhibitördür [7]. Genişlemiş spektrumlu enzimlerin coğrafik olarak dağılımları farklıdır. Örneğin TEM-10 ve TEM-24 Amerika'da yaygınken, Fransa'da TEM-3 Yunanistan ve Almanya'da SHV-15'e daha sık rastlanmaktadır [8].

Extended Broad Spectrum (EBS) β-laktamazlar TEM ve SHV β-laktamazlardan sadece 1-4 aminoasit sübtitüsü ile farklı olduklarından, genellikle TEM ve SHV türevleri olarak adlandırılmaktadır. Ancak EBS β-laktamazlar çok daha genişlemiş bir substrat profiline sahiptir [105,118,119]. Yirmiden fazla TEM türevi EBS β-laktamaz saptandığı halde, SHV türevlerinin sayısı çok daha azdır [120]. Bu enzimler sefotaksime seftazidimden daha etkili olan TEM-3'ün CTX-1 olarak ve seftazidime sefotaksimden daha etkili olan TEM-5'in CAZ-1 olarak adlandırılmasında olduğu gibi, direnç fenotiplerine göre de adlandırılmaktadır. Başlangıçta

E.coli ve *Klebsiella* türlerinde bulunmuş olan EBS β -laktamazlarının daha sonraları Enterobacteriaceae'nin diğer üyelerine yayıldıkları belirlenmiştir [60,105,121,122].

İn-vitro testlerde çeşitli yöntemler kullanılarak bu tip β -laktamaz içeren izolatların tanımlanması öngörülmektedir. Çünkü belirgin duyarlılığa rağmen GSBL üreten bakterilerle enfekte olan hastalar oximino β -laktam antibiyotiklere cevap vermezler. Bu yöntemlerden biri; yüksek inokulum kullanmaktır. İnokulum miktarı 10^5 ml'den 10^7 ml'ye çıkarıldığı zaman MİK değeri 16 kat yüksek değerlerde çıkabilir. Diğer bir yöntem, GSBL'lerin β -laktamaz inhibitörlerine duyarlılığını göstermektedir. Bu özellik "disk approximation testi" ve "E-testi" yöntemi ile araştırılabilir. GSBL üreten izolatlar sefotaksim veya seftriakson gibi oximino- β -laktamlara duyarlı bulunsa bile üriner sistem enfeksiyonları dışında, tedavi başarısızlığı ile karşılaşacağı için tedavide kullanılmamalıdır. GSBL'ler sefemisinlere etkili olmamasına rağmen, izolatlar porin kaybı yüzünden sefoksitin, sefotetan ve diğer sefemisinlere rezistan olabilir. GSBL tipik olarak, aminoglikozid, kloramfenikol, sulfonamid, trimetoprim, tetrasiklin ve alternatif tedaviyi sınırlayan diğer antibiyotiklere direnç taşıyan plazmidler tarafından kodlanır. Florokinolonlara direnç sıklığı, GSBL üretmeyen *K.pneumoniae* veya *E.coli* türlerine göre daha yüksektir [123].

Karbapenemler, GSBL enzimlerine karşı in-vitro ve in-vivo olarak etkilidir ve tedavide bir seçenek oluşturmaktadırlar. Diğer seçenekler ise β -laktam- β -laktamaz inhibitörü kombinasyonlarıdır. Buna karşın inhibitörlü kombinasyonlar her zaman etkili olmayabilir. Örneğin, enzim çok miktarda sentezleniyorsa, birden fazla enzim varsa veya permeabilitede porin kaybına bağlı bir azalma söz konusu ise bazı GSBL içeren bakteriler dirençli olabilir. Sulbaktamın SHV türevi enzimlere karşı çok etkili olmadığı bilinmektedir [69,123].

İnhibitör dirençli TEM β -laktamazları (IRT) Bush-Jacoby-Mederios tarafından yapılan son sınıflandırmada Grup 2b' de yer alıp amokisilin klavulanik aside dirençten sorumlu enzimlerdir. Ana enzimin 69,244. ve 276. aminoasitlerindeki mutasyonlar, bu enzimlerin β -laktam substratlarına ve klavulanik asit gibi inhibitörlerine bağlanma özelliklerini ve afinitelerini değiştirmiştir. Taşıdıkları mutasyonlar, izoelektrik noktaları, aktiviteleri, substrat ilgileri ve inhibisyon kinetikleri açısından birbirinden farklı 12 IRT enzimi gösterilmiştir. İnhibitörlere dirençli olan beta-laktamazlar (IRT) üçüncü kuşak sefalosporinleri hidroliz edebilmelerine karşın TEM veya SHV türü enzimlerden izolat aldıkları için GSBL'ler ile birlikte ele alınmaktadırlar [6,116].

IRT'ler en sık olarak *E.coli*'de bulunmakla birlikte *K.pneumoniae*, *Klebsiella oxytoca*'da da bildirilmektedir. İnhibitörlere dirençli TEM türevleri klavulanik asit ve sulbaktam ve bunların klinik kullanımda olan kombinasyonlarına dirençli olmalarına karşın tazobaktam ve piperasilin/tazobaktam kombinasyonuna duyarlıdırlar [6]. İnhibitöre dirençli enzimlerde dikkat çekici bir başka özellik de GSBL sentezleyen bakterilerin aksine bu enzimi içeren bakterilerin toplumdan kazanılmış infeksiyonlarda da gözlenmesidir. Bunun toplumda amoksisilin klavulanik asitin yaygın kullanımı ile ilgili olduğu düşünülmektedir [124].

OXA enzimleri molekül yapılarına göre sınıf D'de, diğer sınıflandırmalara göre 2d grubunda yer alan enzimlerdir. Kloksasilini substrat olarak tercih ederler. OXA enzimleri klavulanik asit ve sulbaktama dirençli enzimlerdir [7,9,95].

Karbenisinilaz grubundaki PSE-1 (CARB-2), PSE-2, PSE-3 ve PSE-4 β -laktamazlarının başlangıçta *Pseudomonas* türlerine özgü olduğu düşünülmüş, oysa günümüzde özellikle *P.aeruginosa*'da olmakla birlikte Enterobacteriaceae'de de buldukları saptanmıştır. PSE-1'de (CARB-2) sık rastlanmasına karşın, PSE-3 ve PSE-4 daha seyrek olarak olarak

görülmektedir. Çok sıklıkla izole edilmeyen PSE-2 ise OXA-2'ye benzerlik göstermektedir [110,89,90]. Bu gruptaki CARB-1 (BRO-1) Branhamella ve Moraxella türlerinde bulunurken, CARB-3 ve CARB-4 enzimleri sadece *P.aeruginosa*'da ve nadiren bulunmaktadır. AER-1 β -laktamazı *Aeromonas hydrophila*'da, SAR-1 ise *V.cholerae*'de ender olarak gösterilen enzimlerdir [60,90].

PER-1 enzimi içeren izolatlar seftazidime dirençlidirler (MİK >256 $\mu\text{g/ml}$). Buna karşılık seftazidim+klavulanik aside duyarlıdırlar (MİK=1-4 $\mu\text{g/ml}$). Piperasiline düşük direnç (MİK=8-16 $\mu\text{g/ml}$) gösterirler [7].

2.9. β -Laktamaz Testleri

β -laktamaz testleri direkt ve indirekt testler olarak 2'ye ayrılmaktadır. Genişlemiş spektrumlu β -laktamaz (GSBL) testleri indirekt bir testtir. β -laktamaz testleri, direncin varlığına ve yokluğuna ait tanımlamaların klinikte bilgi olarak kullanılmalarını sağlayabilecekse yapılmalıdır [125].

2.9.1. Genişlemiş spektrumlu β -laktamaz (GSBL) testleri

GSBL oluşturan izolatların in-vitro duyarlı olsalar bile geniş spektrumlu penisilinler, sefalosporinler ve monobaktamlara dirençli olarak bildirilmeleri önerilmiştir. Karbapenemler bu izolatlara karşı etkilidirler. GSBL kodlayan genler genellikle diğer direnç genleriyle aynı plazmidde buldukları için GSBL oluşturan izolatlar sıklıkla çoğul dirençli olup, amino-glikozidlere ya da trimeoprim-sulfametoksazol gibi farklı grup antibiyotiklere de direnç gösterirler [125].

Rutin disk difüzyon testi ve MİK testleri her zaman GSBL oluşturan izolatları tanımlayabilir. Geniş spektrumlu sefalosporinler veya aztreonam için duyarlılıktaki hafif bir azalma GSBL üretimi için bir ip ucu olmalıdır. CLSI son yıllarda MİK ve disk difüzyon testleri için sefotaksim, sefpodoksim, seftazidim,

seftriakson ve aztreonam duyarlılık sınırları tarama düzeyinde spesifikleştirmiştir [126].

GSBL oluşturan izolatların klavulanik asitle inhibisyona dayanan bazı testlerle de tespit edilmesi mümkündür [127].

Bunlar,

- Çift disk sinerji
- Klavulanik asit kombinasyonlu MİK (Minimum inhibisyon konsantrasyonu) deneyi
- Fenotipik confirmasyon testi
- E-test
- Otomatize Vitek sisemidir.

Çift disk sinerji testinde merkezde bulunan amoksisilin klavulanik asit diskinin etrafına merkezden merkeze 30 mm olacak şekilde 3. kuşak sefalosporinlerden biri veya aztreonam yerleştirilir. Amoksisilin klavulanik asit diskine doğru diğer disklerin inhibisyon zonlarının genişlemesi veya disk arasında bir inhibisyon alanının gözlenmesi GSBL varlığını gösterir [128]. Sinerji testi MİK yöntemiyle de uygulanabilir [125].

Fenotipik confirmasyon testi *K.pneumoniae*, *K.oxytoca* ve *E.coli* izolatlarına uygulanmaktadır. Bu testte seftazidim, seftazidim klavulanik asit, sefotaksim, sefotaksim klavulanik asitli antibiyotik kombinasyonları disk difüzyon ve MİK testiyle denir. Disk difüzyon testinde klavulanik asitli diskin etrafındaki inhibisyon zonu, klavulanik asit içermeyen diske göre 5 mm veya daha fazla ise izolatın GSBL aktivitesine sahip olduğu düşünülür. MİK deneyinde klavulanik asit kombinasyonlu antibiyotiğin MİK değerinin, klavulanik asitsiz antibiyotik MİK değerinden üç dilisyon veya daha fazla düşük saptanması pozitiflik olarak kabul edilir [126].

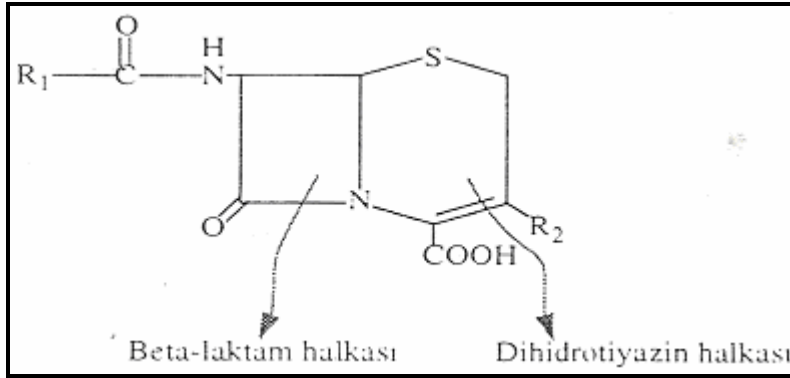
E-test yöntemi diffüzyon ve agar dilüsyon yöntemlerinin modifikasyonu olan ve konsantrasyon gradientiyle emdirilmiş antimikrobiyaller içeren plastik şeritlerin kullanıldığı bir yöntemdir. Bir ucunda β -laktam antibiyotik (seftazidim), diğer ucunda β -laktam klavulanik asit kombinasyonunun emdirildiği şeritlerin kullanılması ile MİK değerinde inhibitörlü kombinasyonun lehine düşüş saptanması GSBL varlığına işaret etmektedir [129]. Otomatik vitek sisteminde 3. kuşak sefalosporinlerin klavulanik asit ve sulbaktamla kombinasyonları kullanılır. Bu kombinasyon varlığında bakteri üremesi izlenir. Pahalı fakat duyarlı bir sistemdir [127].

Disk difüzyon yönteminin bir modifikasyonu olan üç boyutlu testler de GSBL oluşturan izolatları saptamak mümkündür. Denenen antibiyotiğin enzimatik olarak inaktivasyonu, inhibisyon zonunun dairesel üç boyutlu inokülasyon bölgesi ile kesiştiği yerde genişlemenin incelenmesi ile belirlenir [130].

GSBL üreten izolatlar penisilinlere, sefalosporinler (sefamisinler hariç) ve aztreonama dirençli kabul edilmelidirler [125,127].

2.10. Çalışmada Kullanılan Antibiyotiklerin Önemli Özellikleri

Sefalosporinlerde β -laktam halkası yanında, penisilinlerdeki 5 üyeli tiyazolidin halkası yerine sefalosporinlerde 6 üyeli bir dihidrotyazin halkası bulunmaktadır. Sefalosporin C'den yan dallar uzaklaştırılarak elde edilen 7-amino-sefalosporinik asitten ibaret sefem çekirdeğine farklı yan dallar eklenerek yarı sentetik sefalosporinler elde edilmektedir (Şekil 2.4). Sefem çekirdeğinde dihidrotyazin halkasına 3 konumunda yeni yan dalların (R_2) ilavesi daha değişik ve çok sayıda sefalosporinin elde edilmesine olanak sağlamaktadır. Sefem çekirdeğine 7 konumunda eklenen yan dallar (R_1) ise daha çok β -laktamlara stabiliteyi etkilemektedir. Buraya eklenen açıl yan dalında yapılan diğer değişiklikler antibakteriyel aktivite ve farmakolojik özelliklerde değişmelere neden olmaktadır [61].



Şekil 2.4. Sefem çekirdeği [61]

2.10.1. Amoksisilin klavulanik asit

Ticari olarak kullanıma ilk giren β -laktam/ β -laktamaz inhibitörüdür. Amoksisilin ve klavulanik asit gastrointestinal sistemden iyi emilirler. Kombinasyon olarak kullanıldıklarında birbirlerinin farmakokinetiklerini etkilemezler [131-133].

625 mg amoksisilin/klavulanik asit'in oral olarak alınması sonrası sağlıklı gönüllülerle elde edilen farmakokinetik değerler. Çizelge 2.7'de sunulmuştur [134].

Çizelge 2.7. Amoksisilin/klavulanik asidin oral alınması sonrası farmokokinetik özellikleri

Veriliş yolu	Doz mg	C_{max} mg/l	T_{max} saat	$t_{1/2}$ saat	AUC mg/l.s
Oral Amoksisilin	500	8	1,3	0,92	19,4
Klavulanik asit	125	3,9	1,3	0,75	8,0

C_{max} :maksimum plazma konsantrasyonu altında kalan alan

T_{max} :maksimum plazma konsantrasyonuna ulaşma süresi

$t_{1/2}$:yarılanma ömrü

AUC:Serum konsantrasyon-zaman eğrisi

Amoksisilin ve klavulanik asit %18 ve %25 olmak üzere düşük oranlarda proteine bağlanırlar. Sistemik dolaşıma geçen amoksisilin/klavulanik asit oldukça iyi bir dağılım gösterir. Orta kulak, periton ve asit sıvısı, sinovyal sıvı,

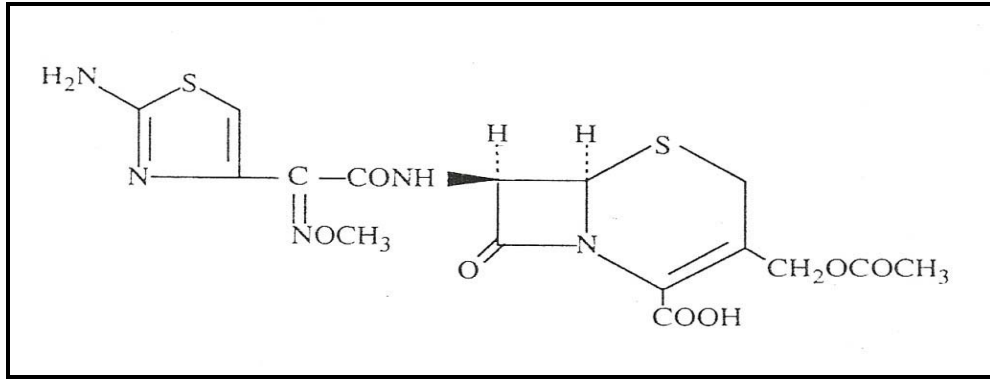
kemik ve jinekolojik dokularda antibakteriyel konsantrasyonlara ulaşır [134,135].

Amoksisilin primer olarak metabolize olmadan böbreklerden atılır. Klavulanik asit ise %40 oranında metabolize olur. Non-renal klirens ve bundan dolayı böbrek yetmezliğinde klavulanik asit ortağı olan antibiyotikten daha hızlı elimine edilir. β -laktam antibiyotiğin toksisitesinden korumak için doz aralığının açılması klavulanik asidin subinhibitör konsantrasyonlarına neden olabilir. Bununla birlikte bağlanmanın irreversibl olmasından dolayı bunun klinik anlamı açık değildir [136].

2.14.2 Sefotaksim

Birçok diğer β -laktamaza dirençli sefalosporinde olduğu gibi sefotaksim yapısal özelliğini de metoksiiminoaçil grubu vermektedir. Sefotaksim temel yapısına 7 konumunda syn-metoksamin grubunun girmesi ile antibakteriyel aktivitesi artmaktadır. Ayrıca sefotaksim syn-izomeri durumunda olması β -laktamaz meydana getiren bakterilere karşı aktivitesini de arttırmaktadır. Bu etki farkı, kısmen β -laktamaz etkisine syn-izomerinin daha dayanıklı olmasından kısmen de syn-izomerinin daha yüksek PBP afinitesi göstermesinden kaynaklanmaktadır. Sefem çekirdeğinin 3 konumunda sefoksimetil süstitüentine sahip olması, sefotaksimi desasetilsefotaksimle sonuçlanan metabolik yıkıma duyarlı hale getirmektedir. Sefotaksim kimyasal yapısı ve adlandırılması Şekil 2.7'de gösterilmiştir [137-139]. Sefotaksim yüksek dercede afinite gösterdiği PBP 3'e bağlanarak filaman hücre oluşumuna, PBP 1a ve 1b'ye bağlanarak da hücrenin erimesine neden olmaktadır [140]. Sefotaksim Enterobacteriaceae ailesindeki üyelere karşı diğer sefalosporinlerin göstermekte olduğu alışılmış etki spektrumuna sahiptir. [137,139,140]. TEM-1, TEM-2, SHV-1 gibi enzimler üçüncü jenerasyon sefalosporinlere genellikle etkisizdir. Ancak bu enzimlerden birkaç aminoasit değişikliği ile mutasyon sonucu ortaya çıkan EBS β -laktamazlar

sefotaksime direnç sağlamaktadır. Sefotaksim kimyasal yapısı ve adlandırılması şekil 2.5'de verilmiştir [122,141].

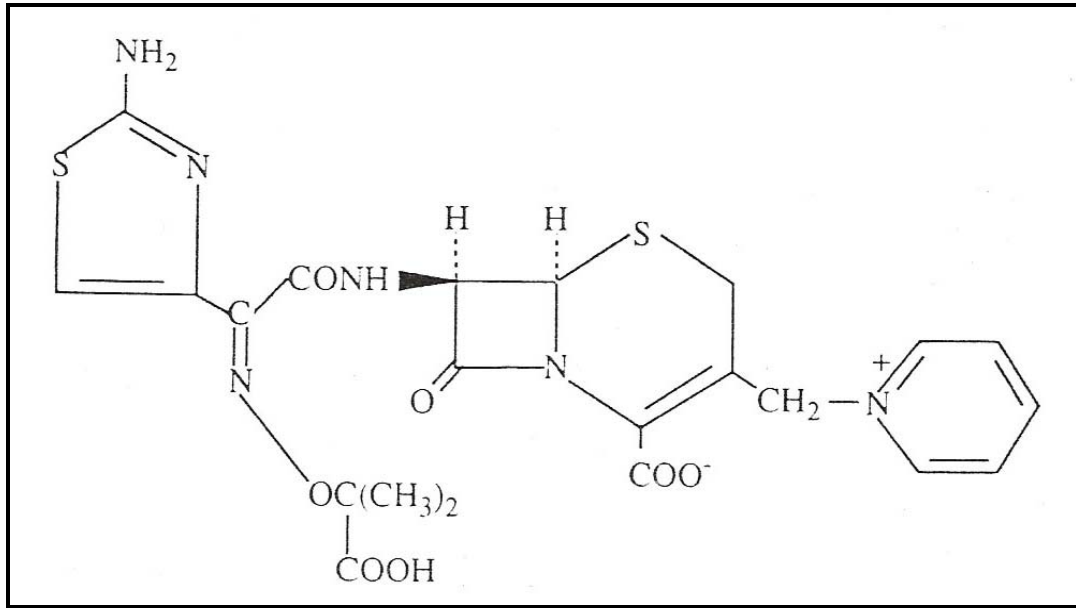


Şekil 2.5. Sefotaksim kimyasal yapısı ve adlandırılması
[6R-[6 α ,7 β (Z)]]-3-[(Asetoksi)metil]-7-[[2-amino-4 tiyazolil
(metoksiimino) asetil]amino]-8-okso-5-tiya-1-azabisiklo
[4.2.0]oct-2-en-2-karboksilik asit

2.14.3. Seftazidim

Sefem çekirdeğinin 3 numaralı karbon atomuna bağlı yan dallarında yapılan değişiklikler daha çok farmakolojik özellikleri etkilemektedir. Ancak bazı grupların varlığı kısmen de olsa antibakteriyel aktivitenin değişmesine yol açmaktadır. Seftazidimde bulunan piridiyummetil grubu, bileşiğin antipseudomonal aktivitesine katkıda bulunmaktadır. Molekülün 7 numaralı karbon atomuna bağlı yan dalda bulunan aminotiyazol grubu PBP'lerle olan ilişkiyi ve periplazmaya girişi arttırmaktadır. Bileşiğin β -laktamazlara stabilitesinin ise oksim grubu sağlamaktadır. Seftazidimin 10 numaralı karbon atomuna bağlı karboksipropiloksiimino grubu β -laktamaz indüksiyonunun azalmasına neden olduğu gibi, β -laktamazlara stabiliteyi de arttırmaktadır. Ancak seftazidimin içerdiği karboksipropil grubu Gram pozitif bakterilere karşı belirgin, Enterobacteriaceae ailesinin üyelerine karşı orta derecede bir etki almasına neden olur. Sefazidimin kimyasal yapısı ve adlandırılması Şekil 2.6'da gösterilmiştir [138,142,143]. Seftazidim PBP 3'e olan yüksek afinitesinden dolayı hücrede filaman oluşumuna ve PBP 1a'ya olan

afinitesinden dolayı da hücrenin erimesine neden olmaktadır. Ayrıca seftazidimin PBP 1b'ye olan afinitesi de fazladır [144]. Seftazidim Enterobacteriaceae üyelerinin çoğunluğuna etkilidir.



Şekil 2.6. Seftazidimin kimyasal yapısı ve adlandırılması
 [6R- [6 α ,7 β (Z)]]-1- [[7- [[(2-Amino-4-tiyazolil) [(1-karboksi-1-
 metiletoksi)imino]asetil]amino]-2-karboksi-8-okso-5-tiya-1azabisiklo
 [4.2.0]oct-2-en-3-il]metil]piridinyum hidroksit, iç tuz

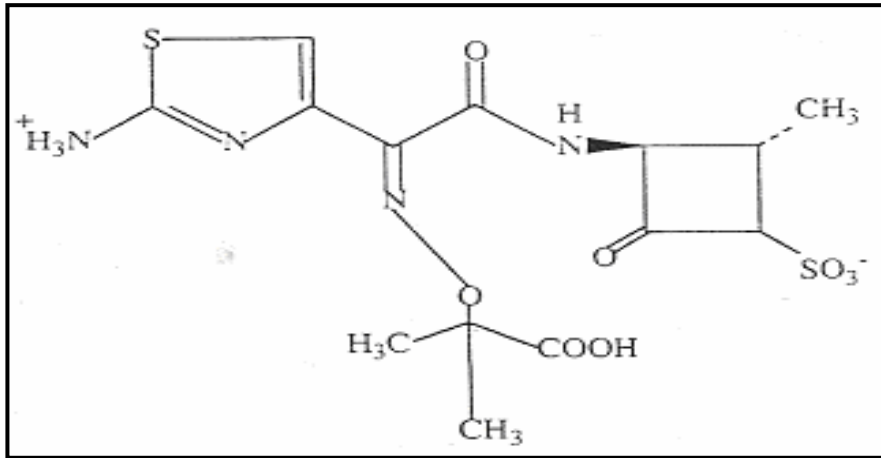
Anaerob bakterilere iyi etkili olmaması, seftazidim'in β -laktamazlara genellikle yüksek düzeyde direnç gösteren bir sefalosporindir. TEM-1, TEM-2, SHV-1 ve OXA-2 β -laktamazlarına stabilitesi yüksektir. OXA-1 enzimi ise seftazidime zayıf etkilidir. Seftazidime, PSE β -laktamazlarından sadece PSE-2 ve PSE-3'ün etkili olduğu, ancak bu etkinin zayıf olduğu belirlenmiştir [167-169]. Son yıllarda ortaya çıkan geniş spektrumlu β -laktamazlardan CAZ- (TEM-5) ve CAZ-2 seftazidime diğer β -laktamlara oranla daha yüksek afinite göstermektedir. Seftazidim TEM-6, TEM-9 SHV-4, SHV-5 gibi EBS β -laktamazlar tarafından da hidrolize olabilmektedir [31,122].

2.14.4. Seftriakson

Gram-negatif bakteri spektrumunun niteliği bakımından sefotaksim ve seftizoksime benzer. Plazma proteinlerine % 90 oranında bağlanır. BOS'a sefotaksim ve seftizoksime kadar iyi geçer. Kısmen karaciğerde metabolize edilmek veya safraya itrah edilmek ve kısmende böbrekten glomerüler filtrasyonla atılmak suretiyle yavaş elimine edilir. Eliminasyon yarılanma ömrü en uzun olan sefalosporindir (8 saat). İzole böbrek yetmezliği olgularında doz ayarlanması gerekmez. Erişkinlerde 24 saatte bir 2g i.v dozunda uygulanır. Çocuk dozu günde 50 mg/kg'dır, menenjitte 2 katına çıkarılır. Diğerlerine göre sık diyare yapan sefalosporindir, bunda barsak mikroflorasını bozmasının katkısı vardır. Nisbeten sık bir şekilde safra kesesinde çökelti (psödotiazis, "safra çamuru") yapar. Bu, bazen semptomatik olabilir (safra koliği, bulantı ve kusma gibi); tedavi bittikten sonra iki ay içinde çökelti kaybolur [147].

2.14.5. Aztreonam

Bisiklik β -laktamların aksine yapısında sadece bir β -laktam halkası bulunan aztreonam 3-amino-monobaktamik asitten oluşan monobaktamların ilk üyesidir. Monobaktamlar 2-oksoasetidin-1-sülfonik asit kısmının β -3 konumunda ve çoğunda olduğu gibi α -3 metoksi grubu ile açıl yan zinciri tarafından karakterize edilmektedir. Aztreonam molekülü β -laktam halkasının azotuna bağlı çeşitli sübstitüenlerden oluşmaktadır. Aztreonamın yapısında bulunan β -laktam halkasının azotuna bağlı 1-sülfonik asit grubu β -laktam halkasına bağlı çeşitli sübstitüentlerden oluşmaktadır ve β -laktamazların etkisine karşı halkanın stabilitesini de arttırmaktadır. Açıl yan zincirindeki aminotiyazoloksim kısmı aerop Gram negatif bakterilere aztreonamın gösterdiği güçlü aktiviteyi sağlamaktadır. Aztreonam'ın kimyasal yapısı ve adlandırılması Şekil 2.7'de gösterilmiştir [142-148].



Şekil 2.7. Aztreonamın kimyasal yapısı ve adlandırılması
 [2S [2 α ,3 β (Z)]]-2- [[[1-(2-Amino-4-tiyazolil)-2- [(2-metil-4-okso-1
 sülfo-3-azetidini)amino]-2oksoetilinden]amino]oksi]-2
 metilpropanoik asit

Aztreonamın Gram negatif bakterilere daha fazla etkili olması bu bakterilerin PBP'lerine yüksek afinite göstermesinden kaynaklanmaktadır. PBP 3'e olan yüksek afinitesinden dolayı hücrede filaman oluşumuna, PBP 1a'ya olan ilgisinden dolayı da hücrenin erimesine neden olmaktadır. Gram pozitif bakteriler ve anaerob bakterilerin PBP'lerine zayıf afinite gösterdiğinden aztreonam bu bakterilere etkisizdir. *E.coli*, *K.pneumoniae* izolatlarının çoğu aztreonama duyarlıdır [148].

Aztreonam β -laktamazların çoğuna, örneğin; plazmid kaynaklı β -laktamazlardan TEM-1, TEM-2, OXA-1, OXA-3 ve PSE-1, PSE-3, PSE-4'e genellikle direnç göstermektedir. PSE-2 β -laktamazına ve bazı Klebsiella izolatlarının oluşturduğu K1 β -laktamazına dirençli değildir [31,122,148,149].

3. MATERYAL VE METOD

3.1. Klinik Örneklerin Toplanması ve İdentifikasyonu

Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi ve S.B. Ankara Numune Eğitim ve Araştırma Hastanesi'ne 01.01.2006-01.06.2006 tarihleri arasında başvuran, yatan hastalar ve poliklinik hastalarından kan örnekleri toplanmıştır.

Kan örnekleri farklı merkezlerden ve farklı zamanlarda toplanıldığı için bakterilerin üreme yeteneklerini veya canlılıklarını kaybedebilecekleri düşünülerek izole edilen *K.pneumoniae*, *K.oxytoca*, *E.coli* bakterileri Tryptic Soy Broth besi yerine ekildikten sonra 1 gece, 37 °C inkübe edilmiştir. Bakterilerin identifikasyonu API 20 E (BioMerioux) kitleri kullanılarak adlandırılmıştır. Bu identifikasyon yöntemi Gram negatif çomakların identifikasyonunda hızlı sonuç vermesi, kolay kullanımı, diğer identifikasyon sistemlerinin geliştirilmesinde referans olması sebepleriyle güvenilir sonuçlar elde edilebildiği için tercih edilmiştir. Çalışmada beta-laktamaz negatif kontrol izolatu olarak *E.coli* ATCC 25922 kullanılmıştır.

3.2. Çift Disk Sinerji Testi

Elde edilen taze kültürlerinden Tryptik Soy Broth içinde 0,5 Mc Farland eşeline uygun süspansiyon hazırlanmış ve MHA'a (Müller Hinton Agar) (Oxoid CM0337) ekilmiştir. CLSI (Clinical and Laboratory Standards Institute) kriterlerine göre petrinin ortasına amoksislin klavulanik asit (1/2 30 µgr), etrafına disk merkezinden disk merkezine uzaklığı 30 mm olacak şekilde, aztreonam (30 µgr), seftazidim (30 µgr), seftriakson (30 µgr), sefotaksim (30 µgr) diskleri yerleştirilmiştir. Daha sonra petriler 37 °C derecede 18 saat inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyon sonunda zon çapları ölçülerek amoksisilin klavulanik asit (1/2, 30 µgr) ve diğer antibiyotik diskleri arasında bakterin üremediği bir sinerji alanı oluşturan petriler GSBL pozitif kabul edilmiştir [9,52]. Disk difüzyon yönteminde belirli bir miktar antibiyotik

emdirilmiş kağıt diskler, test mikroorganizmasından hazırlanan standart süspansiyonun yayıldığı petrinin yüzeyine yerleştirilir. Böylelikle, diskteki antibiyotik agar içerisine yayılır ve bakteriye etkili olduğu düzeylerde üremeyi engeller. Bunun sonucunda, disk çevresinde bakterilerin üremediği dairesel bir inhibisyon alanı oluşur. Bu alanın çapı ölçülerek “duyarlı”, “orta” ve “dirençli” olacak şekilde duyarlılık kategorileri belirlenir [150-152].

3.3. Kullanılan Besi Yerleri Ve İdentifikasyon

3.3.1. Mueller hinton agar (Oxoid CM0337)

Beef extract	300 g
Casein hydrolysate	17,5 g
Nişasta	1,5 g
Agar	10 g
Distile su ile	1000 ml'ye tamamlanır.

Yukarıda belirtilen malzemeler karıştırılıp kaynatılarak eritilir. 121 °C 15 dakika otaklanılır. Soğuduktan sonra petrilere dökülür [153].

3.3.2. CASO (Tryptik Soy) broth

Pankreatik sindirilmiş Kazein	17,0 g
Enzimatik sindirilmiş Soybean Meal	3,0 g
Dekstroz	2,5 g
Sodyum Klorid	5,0 g
Dipotasyum fosfat	2,5 g
Distile su	1000 ml'ye tamamlanır.

Çok amaçlı bir besi yeri olan Tryptik Soy Broth, dehidre besiyeri 30 g/L olacak şekilde damıtık su içinde eritilir. Amaca uygun şekilde tüplere dağıtılıp, otoklavda 121 °C'de 15 dakika sterilize edilir [154].

3.4. GSBL Tanısında Kullanılan Antibiyotikler

Seftazidim zonu, ≤ 22 mm Aztreonam zonu ≤ 27 mm, Sefotaksim zonu ≤ 27 mm, Seftriakson zonu ≤ 25 mm olduğu takdirde GSBL pozitif olma şüphesi içerir. İlacın zon çapının klavulanik asit ile test edildiğinde tek başına test edilmesine göre ≥ 5 mm artması GSBL pozitifliğin işaretidir. Merkezde amoksisilin klavulanik asit kullanılmıştır. Amoksisilin klavulanik asit ve diğer antibiyotikler arasında bakterinin üremediği bir inhibisyon zonu oluşması ve bu inhibisyon zonlarının ölçülerinin Çizelge 3.1'de olduğu ölçülerde olması bize o bakteri için GSBL'nin pozitif olduğunu göstermektedir. CLSI kriterlerine uygun GSBL tanısı için antibiyotiklerin inhibisyon zonu ve kullanılan antibiyotikler Çizelge 3.1.'de gösterilmiştir [9].

Çizelge 3.1. GSBL tanısı için inhibisyon zonu ve kullanılan antibiyotikler

Antibiyotik	Zon Çapı
Merkezde amoksisilin klavulanik asit (1/2 30 µgr)	
Seftazidim (30 µgr)	≤ 22 mm
Aztreonam (30 µgr)	≤ 27 mm
Sefotaksim (30 µgr)	≤ 27 mm
Seftriakson (30 µgr)	≤ 25 mm

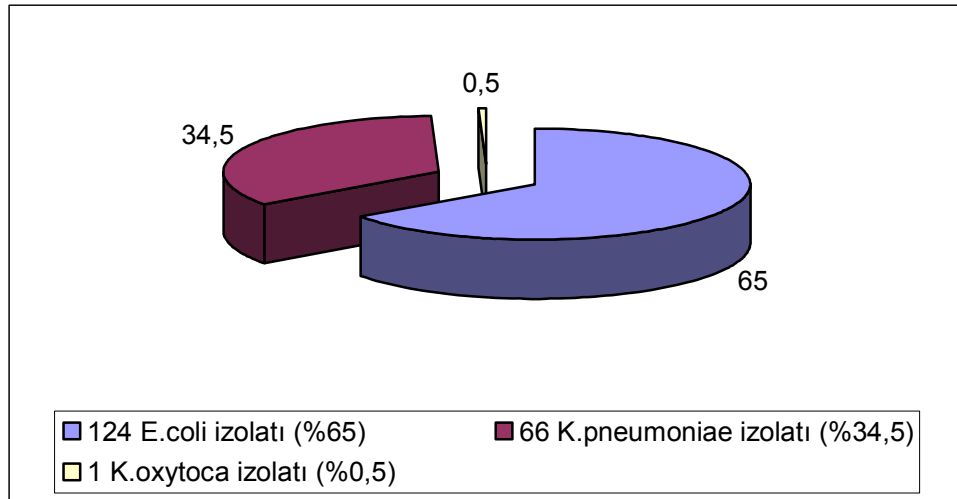
GSBL üreten *Klebsiella spp.*, *Escherichia coli* izolatları, penisilinler, sefalosporinler veya aztreonama in vitro olarak duyarlı görünmelerine karşın, klinik olarak bu ilaçlarla tedaviye dirençli olabilir. Bu izolatların bazılarında genişlemiş spektrumlu sefalosporinler ve aztreonam için inhibisyon zonları normal duyarlı popülasyonun altında fakat standart sınır değerlerin üzerinde bulunabilir. Böyle izolatlar penisilinler, geniş spektrumlu sefalosporinler veya aztreonam için sonuç bildirilmeden önce tarama sınır değerleri kullanılarak olası GSBL üretimi için taranmalıdır. Diğer izolatlar standart sınır değerleri kullanıldığında bu ilaçlardan bir veya birkaçına orta derecede duyarlı veya dirençli görünebilir. Tüm GSBL üreten izolatlarda test sonucu, tüm penisilinlere, sefalosporinlere ve aztreonama dirençli şeklinde verilmelidir [9].

4. BULGULAR

01.01.2006-01.06.2006 tarihleri arasında yatan hasta ve poliklinik hastalarından çeşitli kan örnekleri toplanmıştır. S.B. Ankara Numune Eğitim ve Araştırma Hastanesi'nden 69 kan örneği, Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi'nden 122 kan örneği alınmıştır. Her iki merkezden 191 kan örneği toplanmıştır. Bunların 124'ü (%65) *E.coli* ve 67'si (% 35) Klebsiella'dır. 67 Klebsiella izolatının (%34,5) 66'sı *K.pneumoniae*, 1'i (%0,5) *K.oxytoca*'dır (Çizelge 4.1).191 izolatın yüzde oranları Şekil 4.1'de verilmiştir.

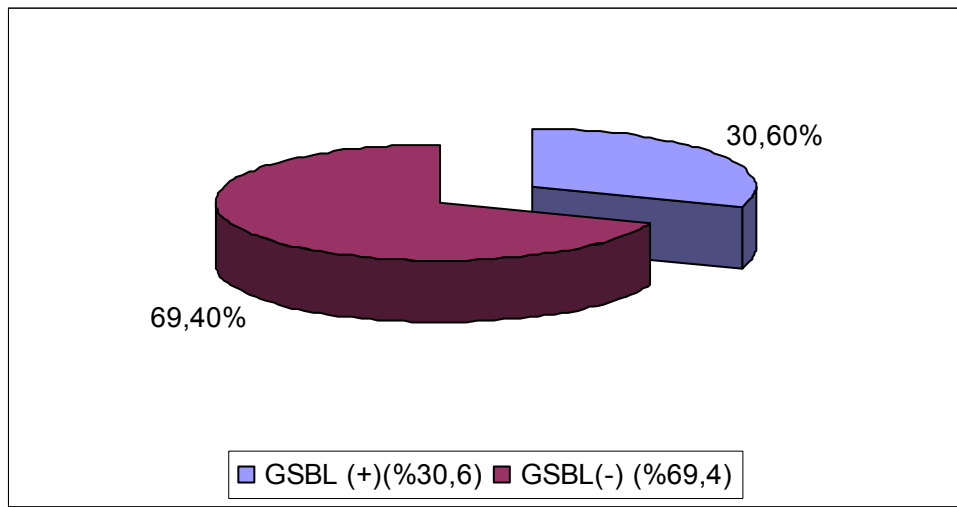
Çizelge 4.1. 191 hastanın kan kültürlerinden izole edilen bakterilerin dağılımı

Bakteriler	İzolat Sayısı	Toplam	
<i>E.coli</i>	124	191	
Klebsiella	67		
	<i>K pneumoniae</i>		<i>K.oxytoca</i>
	66		1

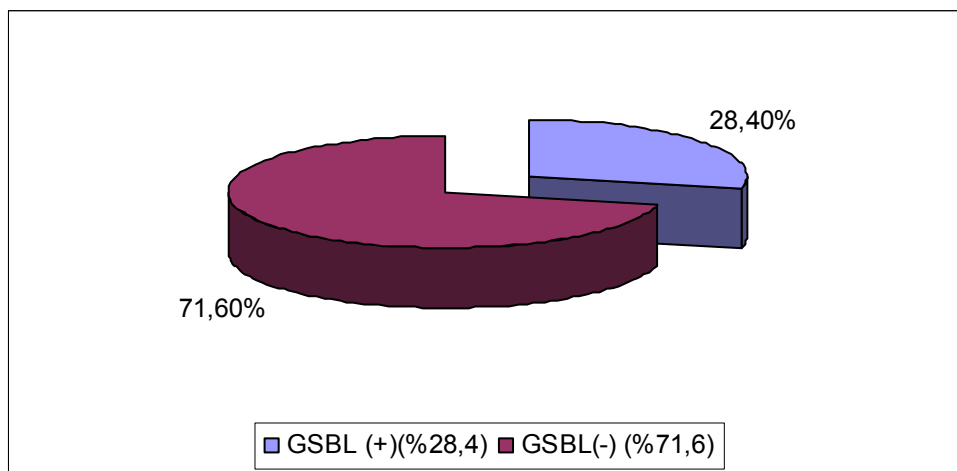


Şekil 4.1. 191 hastanın kan örneklerinden izole edilen bakterilerin yüzde (%) oranları

Çalışmada incelemeye alınan 191 kan örneğinden elde edilen, 124 *E.coli* izolatının 38'i (%30,6) GSBL pozitif, 86'sı (%69,4) GSBL negatiftir. 67 Klebsiella izolatının 19'u (%28,4) GSBL pozitif, 48'i (%71,6) GSBL negatiftir. Tek *K.oxytoca* izolatu ise GSBL negatiftir. 124 *E.coli* izolatu arasında GSBL enzimi üreten *E.coli*'lerin yüzdeleri; Şekil 4.2'de, 67 Klebsiella izolatu arasında GSBL enzimi üreten Klebsiella izolatlarının yüzdeleri Şekil 4.3'de, gösterilmiştir.



Şekil 4.2. 124 *E.coli* izolatu arasında GSBL enzimi üreten *E.coli*'lerin yüzde (%) dağılımları

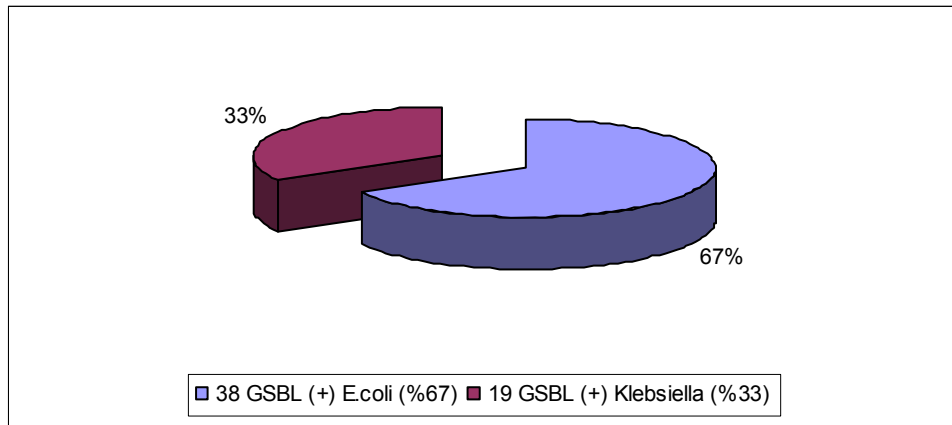


Şekil 4.3. 67 Klebsiella izolatu arasında GSBL enzimi üreten Klebsiella'ların yüzde (%) dağılımları

191 örnek arasından 38'i (%67) *E.coli*, 19'u (%33) *Klebsiella* olmak üzere toplam 57 izolatin geniş spektrumlu beta laktamaz enzim aktivitesi pozitif bulunmuştur (Çizelge 4.2). GSBL pozitif 57 izolatin bakteri dağılımı yüzdeleri Şekil 4.4'de gösterilmiştir.

Çizelge 4.2. GSBL pozitif 57 izolatin bakteri dağılımı ve yüzdeleri

Bakteriler	GSBL (+) izolat sayıları	Yüzdeleri	Toplam GSBL (+) izolat sayısı
<i>E.coli</i>	38	67%	57(%100)
<i>Klebsiella</i>	19	33%	

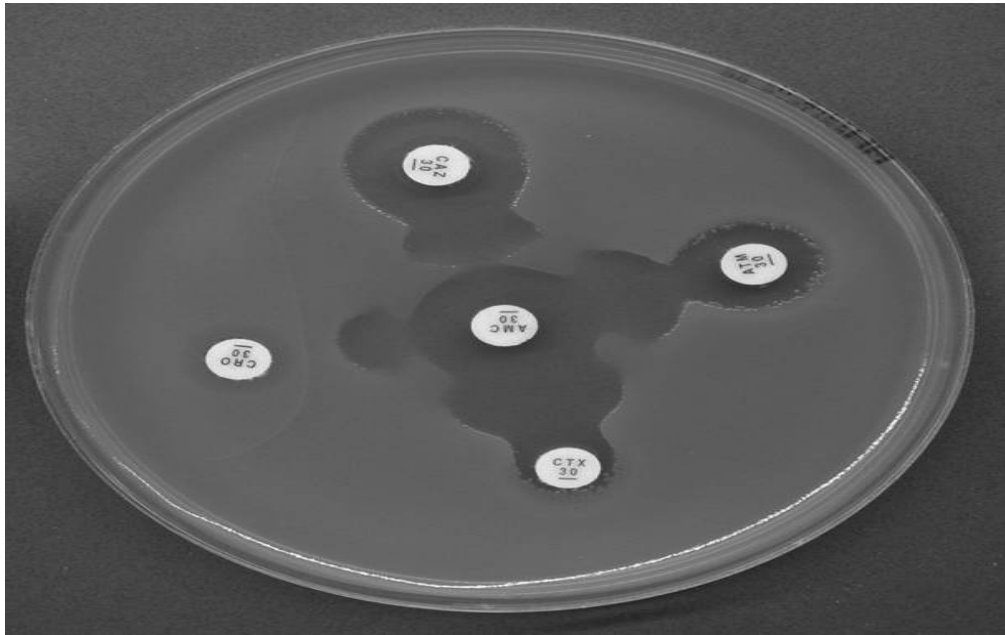


Şekil 4.4. GSBL pozitif 57 izolatin bakteri dağılımı ve yüzdeleri

GSBL enzimi varlığı çift disk sinerji testi uygulanarak tespit edilmiştir. 9mm'lik Müller Hinton Agar plaklarında plağın ortasına bir Amoksisilin Klavulanik asit (AMC20/10 µgr) diski yerleştirilmiş ve etrafına disk merkezinden disk merkezine 30 mm uzaklıkta olacak şekilde Sefotaksim (CTX30 µgr), Aztreonam (ATM 30 µgr), Seftazidim (CAZ 30 µgr), Seftriakson (CRO 30 µgr) diskleri yerleştirilmiştir. Amoksisilin Klavulanik asit (AMC) diskine doğru oluşan genişlemeler ve sinerji alanları olan plaklardaki izolatlar GSBL pozitif kabul edilmiştir. GSBL pozitifliği olan bir *E.coli* izolatının fotoğrafı Resim. 1'de, *Klebsiella* izolatının fotoğrafı Resim. 2'de gösterilmiştir



Resim 4.1. GSBL pozitif *E.coli* izolatu



Resim 4.2. GSBL pozitif *Klebsiella* izolatu

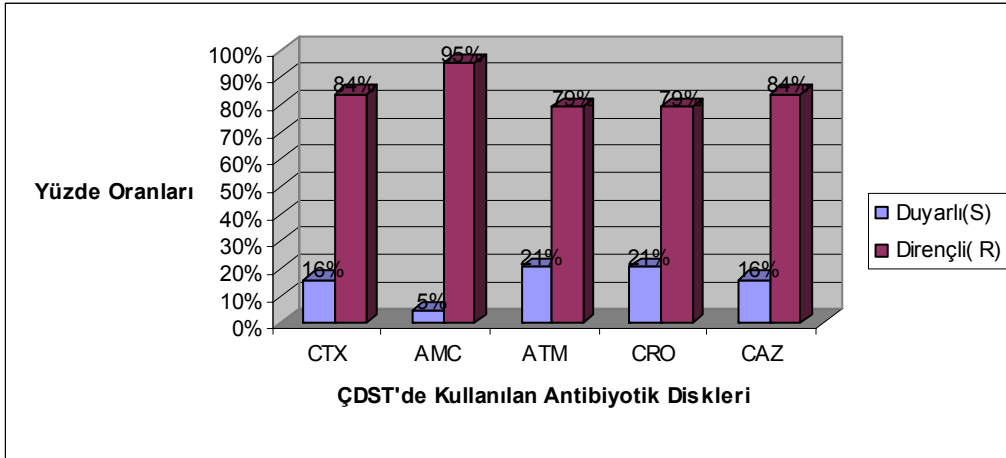
Bakterilerin genişlemiş spektrumlu beta laktamaz enzimi aktivitesi, çift disk sinerji yöntemi ile araştırılmış ve bu yöntemde kullanılan antibiyotiklere dirençlilikleri GSBL enzimi üreten 38 *E.coli* izolatu için sırasıyla %95 amoksisilin/klavulanik asit (AMC), %84 sefotaksim (CTX), %79 aztreonama

(ATM), %79 seftriakson (CRO), %84 seftazidim (CAZ) olarak bulunmuştur. Sonuçlar Çizelge 4.3'te, yüzde oranları Şekil 4.5'te verilmiştir.

Çizelge 4.3. GSBL enzimi üreten *E.coli* izolatlarının çift disk sinerji testinde kullanılan antibiyotiklere dirençlilik ve duyarlılıkları

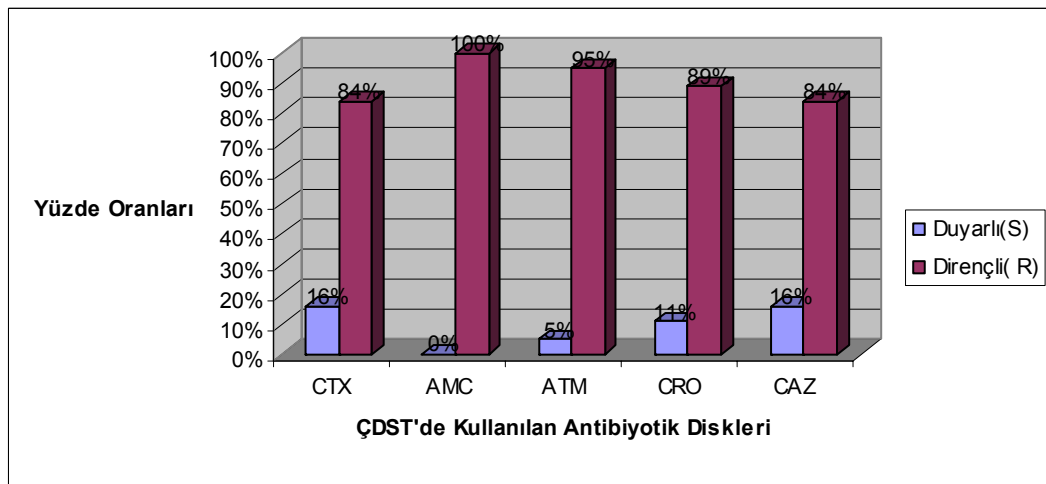
İzolat no	Test Edilen Antibiyotikler				
	AMC	CTX	CRO	CAZ	ATM
1	R	R	R	S	S
2	R	R	R	R	R
3	R	R	R	R	R
4	R	S	S	S	S
5	R	R	R	R	R
6	R	R	S	R	S
7	R	R	R	R	R
8	R	R	R	R	R
9	R	R	R	R	R
10	R	R	R	R	R
11	R	R	R	R	R
12	R	R	R	R	R
13	R	R	R	R	R
14	R	R	R	R	R
15	R	S	S	R	S
16	R	R	R	R	R
17	S	S	S	S	S
18	R	R	R	R	R
19	R	R	R	R	R
20	R	R	R	R	R
21	R	R	S	R	R
22	R	R	R	R	R
23	R	R	R	R	R
24	R	S	R	R	S
25	R	R	R	R	R
26	R	R	R	R	S
27	S	S	S	S	S
28	R	R	R	R	R
29	R	R	R	R	R
30	R	R	R	R	R
31	R	R	S	R	R
32	R	R	R	R	R
33	R	R	R	R	R
34	R	S	S	S	R
35	R	R	R	R	R
36	R	R	R	R	R
37	R	R	R	R	R
38	R	R	R	S	R

R: Rezistans (Dirençli) S: Sensitive(Duyarlı) AMC: Amoksisilin klavulanik asit CTX: Sefotaksim
CRO: Seftriakson CAZ: Seftazidim ATM: Aztreonam



Şekil 4.5. GSBL enzimi üreten *E.coli* izolatlarının çift disk sinerji testinde kullanılan antibiyotiklere dirençlilik ve duyarlılıklarının yüzde (%) oranları

GSBL enzimi üreten 19 *Klebsiella* izolatının çift disk sinerji testinde kullanılan antibiyotiklere dirençlik yüzdeleri sırasıyla %100 amoksisilin/klavulanik asit (AMC), %84 sefotaksim (CTX), %95 aztreonam (ATM), %89 seftriakson (CRO), %84 seftazidim (CAZ) olarak bulunmuştur. Sonuçlar Çizelge 4.4'te, yüzdeleri Şekil 4.6'da gösterilmiştir.



Şekil 4.6. GSBL enzimi üreten *Klebsiella* izolatlarının çift disk sinerji testinde kullanılan antibiyotiklere dirençlilik ve duyarlılıklarının yüzde (%) oranları

Çizelge 4.4. GSBL enzimi üreten Klebsiella izolatlarının çift disk sinerji testinde kullanılan antibiyotiklere dirençlilik ve duyarlılıkları

İzolat no	Test Edilen Antibiyotikler				
	AMC	CTX	CRO	CAZ	ATM
1	R	R	R	R	R
2	R	R	S	R	S
3	R	S	R	S	R
4	R	R	R	R	R
5	R	R	R	R	R
6	R	R	R	R	R
7	R	R	R	S	R
8	R	R	R	R	R
9	R	R	R	R	R
10	R	S	R	R	R
11	R	R	R	R	R
12	R	R	R	R	R
13	R	S	R	S	R
14	R	R	R	R	R
15	R	R	S	R	R
16	R	R	R	R	R
17	R	R	R	R	R
18	R	R	R	R	R
19	R	R	R	R	R

R: Rezistans (Dirençli) S: Sensitive(Duyarlı) AMC: Amoksisilin klavulanik asitCTX: Sefotaksim CRO: Seftriakson
CAZ: Seftazidim ATM: Aztreonam

191 örnekte, GSBL pozitifliği saptanmış 57 izolatın çift disk sinerji testinde kullanılan antibiyotiklere dirençlilik yüzdeleri sırasıyla sefotaksim, seftriakson, seftazidim ve aztreonam, amoksisilin/klavulanik asit için %84, %82,5, %84, %84, %96,5 olarak bulunmuştur.

GSBL pozitif 57 izolatın (*E.coli* ve *Klebsiella*) çift disk sinerji testinde kullanılan antibiyotiklere dirençlilik oranları Çizelge 4.5'te verilmiştir.

Çizelge 4.5. GSBL pozitif 57 izolatın ÇDST'de kullanılan antibiyotiklere dirençlilik oranları

ÇDST'de Kullanılan Antibiyotikler	Dirençli İzolat Sayısı	Yüzdeleri (%)
CTX	48	84%
CRO	47	82,50%
CAZ	48	84%
AZT	48	84%
AMC	55	96,50%

5. SONUÇ VE ÖNERİLER

Günümüzde yaygın olarak kullanılan antibiyotikler infeksiyon hastalıklarının tedavisinde yeterli etkinliği gösteremeyip, sıklıkla direnç sorunuyla karşımıza çıkmaktadırlar. Bu direnç, toplumdan kazanılmış infeksiyonlardan izole edilen bakterilerden daha çok antibiyotiklerin yoğun kullanıldığı hastane ortamlarından izole edilen bakterilerde daha yüksek bulunmaktadır [155-157].

GSBL enzimlerini kodlayan plazmitlerin farklı türler arasında aktarılabilmesi Enterobacteriaceae ailesi içinde birçok bakterinin GSBL oluşturmaya olanak sağlamıştır. Dünyada ve ülkemizde yapılan çalışmalarda GSBL oluşturan bakteriler içinde *K.pneumoniae* ilk sırada yer almaktadır. [31,150,156,158,159]. Ancak bizim çalışmamızda GSBL oluşturduğu saptanan tüm izolatların %33'ünü Klebsiella, %67'sini *E.coli* oluşturmaktadır. Literatür sonuçları içerisinde bizim sonuçlarımız ortalama değerlerde yer almaktadır. Örneklerimiz kandan izole edilmiştir. Farklı hasta materyallerinden elde edilen bakterilerde GSBL sonuçları ve bakteri sıralaması farklı olabilir.

Yurt dışında yapılan çeşitli çalışmalarda da GSBL sıklığı, Klebsiella izolatlarında %13,0 ile %86,6, *E.coli* izolatlarında %11,0 ile %63,6 oranları arasında rapor edilmiştir [160-162].

Yapılan geniş kapsamlı çalışmalarda direnç oranı yoğun bakım ünitelerinde daha yüksek bildirilirken, yoğun bakım hastalarının altta yatan ciddi hastalıkları, çok defa immunsuprese oluşları, sık olarak invaziv girişimlere maruz kalmaları, hastanede daha uzun kalmaları ve çoklu antibiyotik tedavilerine gereksinimleri nedeniyle hastane infeksiyonlarına da açık oldukları ve hastanelerde antibiyotik direnci kontrolünün yoğun bakım ünitesinden başlaması gerektiği vurgulanmaktadır [157,163,164].

Septisemi ve bakteriyemi acil tedavi gerektiren infeksiyonlar olduğu için tedavi yaklaşımları ile ilgili protokoller hayati önem taşımaktadır. Hastane infeksiyonlarında kandan izole edilen bakteri türlerinin çeşitli çalışmalarda büyük farklılıklar gösterdiği saptanmıştır.

1994 yılından itibaren ülkemizin farklı illerindeki yoğun bakım ünitelerinden izole edilen *K.pneumoniae* izolatlarıyla yapılan çalışmalarda %18-%96 oranında GSBL pozitifliği bildirilmiştir [101].

Brachman ve arkadaşları, nozokomiyal bakteriyemilerde ise en sık karşılaşılan patojenlerin *E.coli*'yi takiben Klebsiella türlerinin olduğunu bildirmişlerdir [165]. Bu nedenle çalışmamızda kan kültürlerinden izole edilen *E.coli* ve Klebsiella bakterilerinin GSBL özelliği çalışılmıştır.

Bizim çalışmamızda, 191 kan örneği incelenmiş ve bunların 124'ü *E.coli*, 66'sı *K.pneumoniae*, 1'i *K.oxytoca'dır*. 124 *E.coli* izolatının 38'i (%30,6) GSBL pozitif 86'sı (%69,4) GSBL negatiftir. 67 Klebsiella izolatının 19'u (%28,4) GSBL pozitif, 48'i (%71,6) GSBL negatiftir. Tek *K.oxytoca* izolatu ise GSBL negatif olarak saptanmıştır. Sonuçlar aşağıda belirtilen literatür sonuçlarının ortalamasında yer almaktadır.

Livermore ve Yuan Avrupa'daki 35 merkezin yoğun bakım ünitelerine ait 966 Klebisella izolatında GSBL varlığı araştırmışlardır. Türkiye'nin de iki merkezden 63 izolatla katıldığı bu çalışmada en yüksek GSBL pozitifliği %59 oranıyla ülkemiz izolatlarında bulunmuştur. Çalışmaya katılan diğer 9 avrupa ülkesi içinde bu oran %1-49 arasında değişmektedir [156].

K.pneumoniae ve *E.coli* izolatlarında GSBL sıklığı araştırmalarında Bülüç ve arkadaşları sırasıyla % 48 ve % 14 [166]; Kiremitçi ve arkadaşları % 42 ve % 23,3 oranlarını bildirmişlerdir [167]. Çalışmamızda da bu iki oran sırasıyla %28,4 ve %30,6 olarak bulunmuştur. Yurt dışındaki yayınlarda genellikle *K.pneumoniae* izolatlarında GSBL oluşumunu *E.coli* izolatlarından daha

yüksek bildirilirken, Datta ve arkadaşlarının gibi nadir çalışmalarda ters oranlar da bildirilmiştir (% 12,5 ve % 16,1) [93].

İstanbul Tıp Fakültesi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı'na çeşitli kliniklerden gönderilen toplam 626 kan örneği incelenmiş, bunların %76'sının steril kaldığı, %24'ünde üreme olduğu görülmüştür. En sıklıkla *Klebsiella türlerinin* izole edildiği, bunu stafilokok ve streptokokların izlediği saptanmıştır. Diğer Gram negatif, Gram pozitif bakterilerin ve *Candida türlerinin* daha az sıklıkla izole edildiği, bunların arasında *Pseudomonas türlerinin* 6 kan örneğinden, *E.coli* izolatlarının ise 3 kan örneğinden izole edildiği tespit edilmiştir [168]. Aynı anabilim dalında yapılan bir diğer çalışmada 3181 kan örneğinin 2356'sının steril kaldığı, 825'inde üreme olduğu saptanmıştır. Sıklıkla izole edilen bakteriler arasında *K.pneumoniae*'nin ilk sırada yer aldığı (268 izolat), *E.coli*'nin (16 izolat) ve *P.aeruginosa* 'nın (8 izolat) çok daha az sayıda izole edildiği belirlenmiştir [168].

Mutlu ve arkadaşları, yapmış oldukları çalışmada 351 kan örneğini incelemişler, 312'sinin steril kaldığını bildirmişlerdir. Üreme olan kan örneklerinden *Candida türlerinin* en sıklıkla izole edildiğini, bunu çeşitli Gram negatif ve Gram pozitif bakteri türlerinin takip ettiğini, bunlar arasında 8 *K.pneumoniae*, 4 *E.coli* ve 2 *P.aeruginosa* izolatının bulunduğunu tespit etmişlerdir [169].

Vural'ın yaptığı çalışmada Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Klinik Mikrobiyoloji Laboratuvarına 01.02.2005-01.05.2005 tarihleri arasında başvuran, yatan hastalar ve poliklinik hastalarından çeşitli kültür örnekleri toplanmıştır. GSBL varlığı çift disk sinerji yöntemiyle incelenmiştir. 100 *Klebsiella* izolatının 70'i *Klebsiella pneumoniae*, 30'u *Klebsiella oxytoca* olarak tanımlanmıştır. *E.coli* izolatlarının 19'unda (%19) GSBL varlığı saptanmıştır. *Klebsiella* izolatlarının 34'ünde (%34) GSBL bulunmuştur. 70 *K.pneumoniae* izolatının 30'unda (%43), 30 *K.oxytoca* izolatının 4'ünde (%13) GSBL varlığı bulunmuştur [170].

Urdoğan ve arkadaşları, poliklinik hasta grubundan izole edilen 100 izolat ve yatan hasta grubundan 789 izolat olmak üzere toplam 179 *E.coli* izolatında, çift disk sinerji yöntemi ile yaptıkları GSBL sıklığı çalışmasında, yatan hasta grubunda 10 (%13), poliklinik hasta grubunda 1 (%1) oranında genişlemiş spektrumlu β -laktamaz saptamışlardır [171].

Hoşgör ve arkadaşları, 1997'de yaptığı çalışmada, çift disk sinerji testi ile 51 *E.coli* 'nin %18'inde, 3 boyutlu test ile %25'inde GSBL üretimi saptamışlardır. Bu oranlar *K.pneumoniae*'de ise sırasıyla %43 ve %46 olarak bulunmuştur. İstatistiksel değerlendirmede çift diskli sinerji testi ile 3 boyutlu test arasında anlamlı bir fark bulunamamıştır [172]. Thomson ve arkadaşları ise GSBL pozitif olduğu bilinen izolatlarla ilgili yaptıkları çalışmada, GSBL üretimini çift diskli sinerji testi ile %79, 3 boyutlu test ile %93 oranında saptamışlardır [173].

Akçam ve arkadaşları, çeşitli klinik örneklerden izole edilen ve hastane infeksiyonu etkeni olarak tanımlanan 135 Gram negatif bakteride (83 *Escherichia coli*, 40 *Klebsiella spp.*, 12 *Proteus spp.*) geniş spektrumlu beta-laktamaz sıklığını, çift disk sinerji testi ve E-test® yöntemleriyle araştırılmışlardır. ÇDST ile *E.coli* izolatlarının 6 (%7,2)'sinde, *Klebsiella* izolatlarının 14 (%35)'ünde; E-test® ile *E.coli* izolatlarının 7 (%8,4)'sinde, *Klebsiella* izolatlarının 15 (%37,5)'inde GSBL üretimi saptanmıştır. *Proteus* izolatlarında ise ne ÇDST ile ne de E-test® yöntemi ile GSBL pozitifliği saptanmamıştır. Türkiye'de yapılan iki ayrı çalışmada hastane kaynaklı *K. Pneumoniae* ve *E. coli* izolatlarına GSBL enzimi pozitifliği sırasıyla %55,5 ve %15,5 [174] ile %45,0 ve %32,0 olarak saptanmıştır.

Abacioğlu ve arkadaşları E-test® ve ÇDST yöntemlerinin karşılaştırıldığı çalışmalarında, *K. pneumoniae*'de E-test® ile %50,0, ÇDST ile %62,0 oranlarında GSBL pozitifliği saptamışlardır [175].

Saraçlı ve arkadaşlarının, yaptıkları çalışmada hastaneden izole edilen 610 *E.coli*, 212 *K.pneumoniae*, 68 *K.oxytoca* ve 26 *K.ozanae*'de çift disk sinerji testi ve E-test yöntemleri kullanılarak GSBL üretimi araştırılmıştır. *Escherichia coli* izolatlarının E-test yöntemi ile dördünde çift disk sinerji yöntemi ile 21'inde; *K. pneumoniae* izolatlarının ise E-test yöntemi ile 31'inde, ÇDST yöntemi ile 40'ında GSBL pozitifliği saptanmış, *Klebsiella oxytoca* ve *K.ozanae* izolatlarında GSBL üretimi saptanmamıştır [176].

Akyıldız ve arkadaşları, Haziran 1994-Mayıs 1996 tarihleri arasında GATA Haydarpaşa Eğitim Hastanesi İnfeksiyon Hastalıkları ve Klinik Mikrobiyoloji Servisi laboratuvarında çeşitli klinik örneklerden izole edilen 67 *Klebsiella pneumoniae* izolatında çift disk sinerji ve 3 boyutlu test ile GSBL sıklığı araştırılmış. Çalışılan 67 *K. pneumoniae* izolatının 10'unda (%15) GSBL varlığı saptanmıştır. GSBL varlığı bu 10 izolatın 8'inde her iki yöntemle, birinde yalnız çift diskli sinerji testi ile ve diğerinde yalnız 3 boyutlu test ile belirlenmiştir [177].

Fincancı ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada, genişletilmiş spektrumlu beta-laktamaz (GSBL) üretiminin gösterilmesi amacıyla kullanılan dört farklı yöntemin etkinliği karşılaştırılmıştır [178]. Ayaktan ve yatan hastalara ait klinik örneklerden izole edilen 89 *Klebsiella pneumoniae*, 7 *Klebsiella oxytoca* ve 63 *Escherichia coli* izolatının tümünde,

- a) Disk difüzyon testinde seftazidim, aztreonam, sefotaksim ve seftriaksonun direnç paternleri (DP) incelenerek,
- b) Bu antibiyotiklerin zon çapları (ZÇ) ölçülüp GSBL üretimi için belirlenmiş sınır değerlerle karşılaştırılarak,
- c) 25 ve 30 mm disk aralıklı çift disk sinerji (ÇDS) testleri ile ve
- d) *Klebsiella* izolatlarında E test ile GSBL üretimi araştırılmıştır.

En yüksek GSBL pozitiflik oranı *K. pneumoniae* izolatlarında ve ZÇ testi ile elde edilmiş (%79), *E. coli* izolatlarında ise bu test ile %11 oranında pozitiflik

saptanmıştır ($p < 0,001$). Ayaktan ve yatan hastalardan alınan örneklerden izole edilen bakteriler arasında GSBL üretimi sıklığı arasında anlamlı fark bulunmamıştır ($p > 0,05$). Spearman korelasyon testi DP ile ÇDST (25 mm) arasında çok iyi ($r = 0,77$), ZÇ ile E test arasında orta ($r = 0,40$), diğer testler arasında iyi derecede ($r = 0,64-0,74$) uyum olduğunu göstermiştir [199]. Biz de çalışmamızda güvenilirliği, rutinde kolay uygulanır olması ve ekonomik maaliyeti sebebiyle çift disk sinerji testini kullanmayı seçtik.

Yine Fincancı ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada izole ettikleri *Klebsiella pneumoniae*, *Klebsiella oxytoca* ve *E.coli* izolatlarında GSBL pozitifliği saptanan izolatların çift disk sinerji testinde kullanılan antibiyotiklere dirençlilik yüzdeleri; sırasıyla sefotaksim, seftriakson, seftazidim ve aztreonam için %80,6 bulmuşlardır [178]. Bizim çalışmamızda toplam 57 GSBL pozitifliği saptanmış izolatta sırasıyla sırasıyla sefotaksim, seftriakson, seftazidim ve aztreonam için %84, %82,5, %84, %84 olarak bulunmuş, merkezde yer alan amoksisilin/klavulanik asit için ise %96,5 oranında yüksek bir değer bulunmuştur. Sonuçlar Fincancı ve arkadaşlarının bulguları ile paralellik göstermektedir.

Çalışmamızda GSBL enzimi üreten 38 *E.coli* izolatu için çift disk sinerji yönteminde kullanılan antibiyotiklere dirençlilik yüzdeleri ise; %95'i amoksisilin/klavulanik asite (AMC) direnç göstermiştir. %84'ü sefotaksime (CTX) direnç gösterirken %79'u aztreonama (ATM) direnç göstermiştir. Seftriakson (CRO)'a direnç %79 bulunurken, seftazidim (CAZ)'a direnç %84 bulunmuştur. GSBL enzimi üreten 19 *Klebsiella* izolatu için çift disk sinerji yöntemindeki antibiyotiklere dirençlilik yüzdeleri ise %100 amoksisilin/klavulanik asit (AMC), sefotaksime (CTX) %84, aztreonama (ATM) %95, seftriaksona (CRO) da %89, seftazidime (CAZ) direnç %84 bulunmuştur.

K.pneumoniae izolatlarına denenen antibiyotiklerin etkisine ait çalışmalar elde edilen bulgulara göre farklılık göstermekle birlikte, ülkemizde yapılan

çalışmalarda genel olarak imipenem dışında diğer antibiyotiklere direnç oranlarının, yurt dışında yapılmış çalışmalara kıyasla daha yüksek olduğu saptanmıştır [179].

Akyıldız ve arkadaşları, 5 değişik beta-laktam antibiyotiğe direncin araştırıldığı 67 Klebsiella izolatında beta-laktam antibiyotiklere karşı en yüksek direnç oranları, disk difüzyon yöntemi ile sefoksitine (%28), mikrodilüsyon yöntemi ile seftriaksona (%42) ve E testi ile seftriaksona (%50) karşı bulunmuştur. Disk difüzyon yöntemi ile beta-laktam antibiyotiklere orta derecede duyarlı bulunan izolatlar mikrodilüsyon yöntemi ile denendiğinde, seftriaksona 13 izolattan 11'i, sefotaksime 13 izolattan 6'sı, seftazidime 8 izolattan 3'ü, sefoksitine 3 izolattan 3'ü ve aztreonama 12 izolattan 4'ü dirençli bulunmuş; ayrıca 1 izolatın sefotaksime duyarlı olduğu saptanmıştır. Disk difüzyon yöntemiyle beta-laktam antibiyotiklere orta derecede duyarlı bulunan izolatlardan E testi ile çalışılan izolatlardan 30'u arasında; seftriaksona 9 izolattan 8'i, sefotaksime 9 izolattan 4'ü, seftazidime 3 izolattan 3'ü, sefoksitine 2 izolattan 2'si ve aztreonama 3 izolattan 1'i dirençli bulunmuştur [177].

Yukarıda literatürlerle de açıkladığı gibi GSBL sıklığı antibiyotik kullanımı ve tercih edilen yöntemlerin özelliğine bağlı olarak ölkeler, hastaneler hatta aynı hastane içindeki farklı klinikler arasında değişiklikler gösterebilmektedir.

Rutin antibiyogramlarda duyarlı buldukları antibiyotiklerle tedavi edilen infeksiyonlarda, bazen tedavi başarısızlığı görölmektedir. Bu durumun sıkça rastlanan nedenlerinden birisi antibiyotiğin farmakokinetiğine gereken önemin verilmeyişidir. Bu sorunun en sık örneklerinden biri GSBL üreten bakterilerdir. Rutin disk difüzyon, dilüsyon ve otomatize duyarlılık testleri ile GSBL'ı pozitif olduğu saptanamayan bu baktererin üçüncü kuşak sefalosporinlere ve monobaktamlara duyarlı olarak bildirilmesi, tedavi başarısızlığına yol açabilmektedir. Ek olarak etkisiz tedavi, bu antibiyotiklere dirençli izolatların seçilmesi sonucu hastanede gittikçe daha baskın duruma gelmelerini

sağlamaktadır [180]. Bu yalancı duyarlılık sorunu nedeni ile bu tip β -laktamazlara sahip bakterilerde, direnci tam olarak saptayabilmek amacıyla antibiyogramda özel testlerin yapılması veya yorumlamayı sağlayacak şekilde disk diziliminin uygulanması gerekmektedir [178].

Bu çalışmada disk dizilimi CLSI'nda önerdiği şekilde merkezde amoksisilin klavulanik asit olmak üzere disk merkezinden disk merkezine 30 mm uzaklıkta olacak şekilde aztreonam, seftazidim, sefotaksim ve seftriakson antibiyotik diskleri yerleştirilmiştir.

Sonuç olarak; direnç oranları, kullanılan antibiyotiklere, bakteri türüne, kullanılan yöntem, ülkelere ve kliniklere göre sürekli değiştiği için hastanelerde infeksiyon etkeni ve antibiyotiklere duyarlılıklarının araştırılmasına yönelik çalışmaların önemi gittikçe artmaktadır. Çalışmamızda çift disk sinerji yönteminde kullanılan antibiyotiklere direncin literatüre oranla anlamlı derecede arttığı görülmüştür. GSBL'lar ancak spesifik testler veya antibiyogramda özel düzenlemeler ile saptanabilen antibiyotik direnç mekanizmalarıdır. İnfeksiyon etkeninin direnç fenotipinin ortaya koyulacağı mekanizmaların belirlenmesi, tedavi sonuçlarını etkileyerek gereksiz antibiyotik kullanımını önleyebilecektir. GSBL pozitif sonuçlar tespit edildiğinde epidemiyolojik çalışmaların da başlatılması önerilmektedir.

KAYNAKLAR

1. Gür D., "Beta-laktamazlar", **Flora 2**, 3:3, 3-17 (1997).
2. Gür D., "Toplumdan kazanılmış infeksiyonlarda beta-laktamazların rolü", **Ankem Dergisi**, 20(2): 273-288 (2006).
3. Vahaboğlu H., "Antibiyotiklerde direnç sorunu", **Türkiye Klinikleri Farmakoloji Özel**, 2: 92-96 (2004).
4. Usluer G., "Çoklu dirençli patojenler: Epidemiyoloji ve kontrol" , **Flora**, 7: 135-141 (2002).
5. Philippon A., Arlet G., Lagrange P.H., "Origin and impact of plasmidmediated extended-spectrum beta-lactamases", **Eur. J. Clin. Microbiol. Infect. Dis.**, 13(Suppl 1):17-29 (1994).
6. Bradford P.A., "Extended-spectrum beta-lactamases in the 21st century: Characterization, epidemiology and detection of this important resistance threat", **Clin. Microbiol. Rev.**, 14(4): 933-951 (2001).
7. Livermore D.M., "Beta-lactamases in laboratory and clinical resistance", **Clin. Microbiol. Rev.**, 8(4):557-584 (1995).
8. Livermore D.M., Williams J.D., "Beta-lactams: Mode of action and mechanisms of bacterial resistance, 4th edition", Lorian V.L., **Williams and Wilkins**, Baltimore, 502-578 (1996).
9. Bush K., Jacoby G.A, Medeiros A.A., "A functional classification scheme for β - lactamases and its correlation with molecular structure", **Antimicrob. Agents. Chemoter.**, 39:1211-1239 (1995).
10. Odabaşı Z., "TEM-1 ve SHV-5 üreten bir *Klebsiella pneumoniae* (ESBL) suşu ile oluşturulan Nötropenik Fare İnfeksiyon Modelinde Çeşitli Antibiyotiklerin Etkilerinin Karşılaştırılması", Uzmanlık Tezi, **Marmara Üniversitesi Tıp Fakültesi İç Hastalıkları Ana Bilim Dalı**, İstanbul, 7-10 (2000).
11. Christensen S.C., Korner B., "An endemic caused by multiresistant *Klebsiella* in an urological unit", **Scand. J. Urol. Nephrol.**, 6: 232-38 (1972).
12. Curie K., Speller D.C.E., Simpson R.A., Stephens M, Cooke D.I., "A hospital epidemic caused by gentamisin resistant *Klebsiella pneumoniae*", **J. Hyg. Camb.**, 80:115-23 (1978).

13. Martin C.M., Ikari N.S., Zimmerman J., Waitz J.A., "Avirulent nosocomial *Klebsiella* with a transferable R factor for gentamicin: emergence and suppression", **J. Infect Dis.**, 124: 24-29 (1971).
14. Noriega E.R., Leibowitz R.E., Richmond A.S., Rubinstein E., Schaeffler S., Simberkoff M.S., Raha J.J., "Nosocomial infection caused by gentamicin resistant streptomycin sensitive *Klebsiella*", **Infect. Dis.**, 131: 45-50 (1975).
15. Bauerfeind A., Rosenthal E., Eberlein E., Holley M., Schweighart S., "Spread of *Klebsiella pneumoniae* producing SHV-5 among hospitalized patients", **Infection**, 21: 18-22 (1993).
16. Coovadia Y.M., Johnson A.P., Bhana R.H., Hutchinson G.R., George R.C., "Multiresistant *K.pneumoniae* in a neonatal nursery: the importance of maintenance of infection control policies and procedures in the prevention of outbreaks", **J. Hosp. Infect.**, 2:197-205 (1992).
17. De Champs C, Rouby D., Guelon J., Sirot J., Sirot B., Beytout D., Gourgant G.M., "A case, control study of an outbreak of infections caused by *K.pneumoniae* strains producing (CTX-1) TEM-3 beta lactamase", **J. Hosp. Infect.**, 18: 5-13 (1991).
18. French G.L., Shannon K.P., Simmons N., "Hospital outbreak of *K.pneumoniae* resistant to broad spectrum cephalosporins and β -laktam- β -laktamase inhibitor combinations by hyperproduction of SHV-5- β -laktamase inhibitor", **J. Clin. Microbiol.**, 34: 358-363 (1996).
19. Gür D., Pitt T.L., Hall L.C., Akalin H.R., Livermore D.M., "Diversity of *Klebsiella pneumoniae* with extended spectrum β -laktamase at a Turkish university hospital", **J. Hosp. Infect.**, 22: 163-178 (1992).
20. Johnson A.P., Weinbren M.J., Ayling-Smith B., Du Bois S., Amyes S.B., George R.C., "Outbreak of infection in two UK hospitals caused by a strain of *Klebsiella pneumoniae* resistant to cefotaxime and ceftazidime", **J. Hosp. Infect.**, 20: 97-203 (1993).
21. Medeiros A.A., "Nosocomial outbreaks of multiresistant bacteria, extended spectrum β -laktamases have arrived in North America", **Ann. Intern. Med.**, 119: 428-430 (1993).
22. Meyer K.S., Urban C., Eagan J.A., Berger B.J., Rahal J.J., "Nosocomial outbreak of *Klebsiella* infection resistant to late generation cephalosporins", **Ann. Intern. Med.**, 119: 353-358 (1993).

23. Reish O., Ashkenazi S., Naor N., Sarma Z., Merlob P., "An outbreak of multiresistant *Klebsiella* in a neonatal intensive care unit", **J. Hosp. Infect.**, 25: 287-291 (1993).
24. Özsoy M.F., Öncül O., Yıldırım A., Pahsa A., "Genişlemiş spektrumlu beta-laktamazlar: klinik önemi ve getirdiği sorunlar", **Flora Dergisi**, 6 (Ek 1): 3 (2001).
25. Legakis J., Maniatis A., Tzouveleki L.S., "Prevalent mechanisms of resistance among common enterobacterial isolates in Greek hospitals", **Microb. Drug. Resist.**, 1: 331-333 (1995).
26. Schiappa D.A., Hayden M.K., Matushek M.G., Hahemi F.N., Sullivan J., Smith K.Y., Miyashiro D., Ouin J.P., Weinstein R.A, Trenholme G.M, "Ceftazidime resistant *Klebsiella pneumoniae* and *E.coli* bloodstream infection: a case control and molecular epidemiological investigation", **J. Infect. Dis.**, 174: 529-536 (1996).
27. Urban C., Rahal J.J., "Klebsiella and extended spectrum β -lactamases", **Int. J. Antimicrob. Agents.**, 8: 37-43, (1997)
28. Jacoby G.A., "Antimicrobial resistant pathogens in the 1990s", **Annu. Rev. Med.**, 47: 169-179 (1996).
29. Derbentli Ş., Katrancı H., Nakipoğlu Y., "Gram negatif çomaklarda genişlemiş spektrumlu beta-laktamazların belirlenmesinde üç boyutlu yöntem ve çift disk sinerji yönteminin karşılaştırılması", **Ankem Derg.**, 10:1 (1996).
30. Papanicolaou G.A., Medeiros A.A., Jacoby G.A., "Novel plasmidmediated beta-lactamase (MIR-1) conferring resistance to oxyimino- and alfa metoksi beta-lactam in clinical isolates of *Klebsiella pneumoniae*", **Antimicrob. Agents. Chemoter.**, 34: 2200 (1996).
31. Jacoby G.A., Medeiros A.A., "More extended-spectrum beta-lactamases", **Antimicrob. Agents. Chemoter.**, 35: 1697 (1991).
32. Kaleli İ., Özen N., Şengül M., Cehavir N., Akşit F., "Gram negatif bakterilerde genişletilmiş spektrumlu beta-laktamazların çift disk sinerji yöntemi ile belirlenmesi", **Ankem Derg.**, 12: 442 (1998).
33. Bermudes H., Arpin C., Jude F., El-Harif Z., Bebear C., Quentin C., "Molecular epidemiology of an outbreak due to extended spectrum β -lactamase producing Enterobacteriaceae in a French Hospital", **Eur. J. Clin. Microbiol. Infect. Dis.**, 16: 523 (1997).

34. Kremery V., Blahova J., Kraliova K., Kubonova K., "Clinical significance of the determination of ESBL (extended-spectrum beta-lactamase) production by gram-negative nosocomial bacteria", **Cas. Lek. Cesk.**, 137: 52 (1998).
35. Szabo D., Barcs I., Rozgonyi F., "Extended-spectrum beta-lactamases: an actual problem of hospital microbiology", **Acta. Microbiol. Immunol. Hung.**, 44: 309 (1997).
36. Cormican M.G., Marshall S.S., Jones R.N., "Detection of ESBL producing strains by the E test screen", **J. Clin. Microbiol.**, 34: 1880 (1996).
37. Gökahmetoğlu S., Eşel D., Karaca N., Sümerkan B., "Klebsiella ve *Escherichia coli* suşlarında beta-laktamazların belirlenmesinde üç boyutlu yöntem, çift disk sinerji ve E test yöntemlerinin karşılaştırılması", **Ankem Derg.**, 15: 98 (2001).
38. Livermore D.M., "β-lactamases in laboratory and clinical resistance", **Clinical. Microbial. Reviews**, 8: 557-584 (1995).
39. Sirot D., "Extended spectrum plasmid mediated β-lactamases", **J. Antimicrob. Chemoter.**, 36: 19-34 (1995).
40. Kawakami S., Ono Y., Yamamoto M., Okamoto R., Inoue M., Miyazawa Y., "Extended spectrum β-lactamase (ESBL) produced by *Klebsiella pneumoniae* and *Escherichia coli* isolated from Teikyo University Hospital-The first report", **Kansenshogaku Zasshi**, 73: 1110-1115 (1999).
41. Eskitürk A., Korten V., Söyletir G., "Akut bakım gerektiren hastalarda gelişen infeksiyonlardan izole edilen Klebsiella türlerinde antibakteriyel duyarlılık paternlerinin ve geniş-spektrumlu β-laktamaz sıklığının araştırılması", **Ankem Derg.**, 10: 14-18 (1996).
42. Fantin B., Pangon B., Mohler J., Phlippon A., Carbon C., "Activity of sulbactam in combination with ceftriaxon in-vitro and in experimental endocarditis caused by *E.coli* producing SHV-2 like β-lactamase", **Antimicrob. Agent. Chemoter.**, 34: 581-586 (1990).
43. Rice L.B., Yao J.D.C., Klimm K., Eliopoulos M., Moellering R.C., "Efficacy of different β-lactams against an extended spectrum β-lactamase producing *K.pneumoniae* strain in the rat intraabdominal abcessmodel", **Antimicrob. Agents Chemoter.**, 35: 1243-1244 (1991).
44. Eagle H., Fleischmann R., Musselman A.D., "The bactericidal action of penicilin in vivo: the participation of the host and slow recovery of the surviving organisms". **Ann. Intern. Med.**, 33: 2663-2664 (1950).

45. Hunter P., Rolinson G., Witting D., "Comperative activitiy of amoxycillin and ampicillin in a experimental bacterial infection in mice", **Antimicrob. Agents. Chemoter.**, 4: 265-293 (1973).
46. Gerber A.U., Craig W.A., Brugger H.P, Feller C., Vastola A.P., Brandel J., "Impact of dosing intervals on activity of gentemycin and ticarcilin against *Pseudomonas aeruginosa* in granulocytopenic mice", **J. Infect. Dis.**, 147: 910-917 (1983).
47. Vogelman B., Gudmundsson S., Turnidge J., Legget J., Craig W.A., "In vivo postantibiotic effect in a thigh infection in neutropenic mice." **J. Infect. Dis.**, 158: 831-847 (1988).
48. Valdimarsdottir M., Einarsson S., Erlensdottir H., Gudmundsson S., Dosing, "Studies of antimicrobial combination against *Pseudomonas aeruginosa* in an animal model in recent advances in chemotherapy, "Proceedings of the 18th International Congress of Chemotherapy, Washington D.C., 475- 476 (1993).
49. Craig W.A., Gudmundsson S., "The post antibiotic effect in neutroenic murine thigh infection model", Atibiotics in Laboratory Medicine, 4th edition, **Williams and Wilkins**, Baltimore, 296-329 (1996).
50. Livermore D.M., Williams J.D., "Beta lactams: mode of action and mechanisms of bacterial resistance", Antibiotics in Laboratory Medicine, 4th ed., Lorian V.L., **Williams & Wilkins**, Baltimore, 502 (1996).
51. O'Reilly T., Cleeland R., Squires E.L, "Evaluation of antimicrobials in axperiental animal infection", Antibiotics in Laboratory Medicine, 4th edition, **Williams and Wilkins**, Baltimore, 604-765 (1996).
52. Christopher L., Weymouth E., " Detection and clinical significans of Exended Spectrum β -lactamases in Tertiary-Care Medical Center", **Clinical Microbiology**, 35: 2061-2067 (1997).
53. Coudron P.E., Moland E.S, Sanders C.C., "Occurrence and detection of extended-spectrum β -lactamases in members of the family Enterobacteriaceae at a Veterans Medical Center", **J. Clin. Microbiol.** , 35: 2593-2597 (1997).
54. Vercauteren E., Descheemaker P., Leven M., Sanders C.C., "Occurence and detection of extended spectrum β -lactamases and their prevalence among blood isolates of *Escherichia coli* and *Klebsiella spp.* In a Belgian Teaching Hospital", **J. Clin. Microbiol.**, 35: 2191-2197 (1998).
55. Tünger A., Hilmioğlu S., Dibek M.A., Çavuşoğlu C., Aktaş L., Özkan F., Özinel M.A., "Hastane infeksiyon etkeni olarak soyutlanan *Klebsiella*

pneumoniae ve *Escherichia coli* kökenlerinde genişlemiş spektrumlu beta-laktamaz sıklığı”, ***İnfeksiyon Dergisi***, 12: 165-168 (1998).

56. Emery C.L., Weymouth L.A., “Detection and clinical significance of extended spectrum β -lactamases in a tertiary-care medical center”, ***J. Clin. Microbiol.***, 35: 2061-2067 (1997).
57. Şanlıdağ T., Sağı G., Özçelik S., Çakır N., Çeliksöz A., “*Klebsiella pneumoniae* suşlarında “extended broad spectrum” beta-laktamazların araştırılması”, ***Ankem Derg.***, 10: 120 (1996).
58. Arda M., “Bakterilerin Anatomik Yapıları”, Temel Mikrobiyoloji, ***Medisan Yayın Serisi***, 45: 30-31 (2006).
59. Schlessinger D., Schaechter M., “Mechanisms of Microbial Diseases”, Schaechter M., Medoff G., Schlessinger D., ***Williams and Wilkins***, Baltimore, 17 (1989).
60. Bryan L.E., Godfrey A.J., “ β -laktam antibiotics: Mode of action and bacterial resistance”, Antibiotics in Laboratory Medicine 3th edition, V. Lorian, ***Williams and Wilkins***, Baltimore, 599 (1991).
61. Coşkun Ş., Yücedağ G., Önder Y., Ünlü E., “İdrar yolu infeksiyonlarında izole edilen bakteriyel etkenler ve bunların antimikrobiyallere karşı duyarlılıklarının son dört senelikde değerlendirilmesi”, ***Türk Mikrobiyol. Cem. Derg.***, 21: 167 (1991).
62. Schlessinger D., Schaechter M., Einstein B.I., “Mechanisms of Microbial Diseases”, Schaechter M., Einstein B.I., ***Williams and Wilkins***, Baltimore, 27 (1993).
63. Mims C.A., Playfair J.H.L., Roitt I.M., Wakelin D., Williams R., “Medical Microbiology”, ***Mosby- Year Book Europe Ltd.***, Hong Kong, 648 (1993).
64. Spratt B.G., Cromie K.D., “Penicilin-binding proteins of Gram-negative bacteria”, ***Rev. Infect. Dis.***, 10: 23 (1998).
65. Yüce K., “Antimikrobikler ve İnfeksiyon Hastalıklarında Tedavi Prensipleri”, ***Bilgehan Basımevi***, İzmir, 1 (1998).
66. Töreci K., “Antibiyotik kullanımı ve direnç ilişkisi”, ***Flora Derg.***, 8: 89-110 (2003).
67. Gold H.S., Moellering Jr. R.C., “Antimicrobial-drug resistance”, ***The N. Engl. J. Med.***, 335: 1445-1451 (1996).

68. Gür D., "Antibiyotiklere direnç gelişmesi", Klinik Uygulamada Antibiyotikler ve Diğer Antimikrobiyal İlaçlar 1. baskı, Akalın H.E., **Güneş Kitabevi Ltd. Şti.**, Ankara, 19, (1994)
69. Gür D., "Hastane enfeksiyonlarında önem kazanan Gram negatif bakterilerde antibiyotiklere direnç mekanizmaları", **Hastane İnfeksiyonları Dergisi**, 1: 8-20, 38-45 (1997).
70. Gür D., "Bakterilerde Anibiyotiklere Karşı Direnç", İnfeksiyon Hastalıkları 1. baskı, Wilke A., Söyletir G., Doğanay M., **Nobel Kitabevleri**, İstanbul, 183 (1996).
71. Vahaboğlu M.H., "Antibiotik dienc mekanizmaları", **Klinik Derg.**, 6(1): 6-8 (1993).
72. Mayer K.H., Opal M.S., Medeiros A.A., "Mechaisms of antibiotic resistance", Principles and Practice of Infectious Disease 4th ed., Mandell G.L., Bennett E.J., Dolin R., **Churchill Livingstone**, New York, 212 (1995).
73. Jones R.N, Erwin M., " In vitro evaluation of RO 09-1227, a novel catechol-substituted cephalopirin", **Antimicrob. Agents. Chemoter.**, 36:233 (1992).
74. Gür D. "Antibiyotiklere direnç mekanizmaları ve antibiyotik duyarlılık testleri", Beta-laktam antibiyotiklere karşı direnç mekanizmaları, Akalın H.E., **Pfizer İlaçları A.Ş.**, İstanbul, 15 (1992).
75. Sawai T., Takahashi I., Yamagishi S., "Idiometric assay method for β -lactamase with various β -lactam antibiotics as substrates", **Antimicrob. Agents. Chemother.**, 13: 910 (1978).
76. Mayer K.H., Opal M.S., Medeiros A.A., "Mechanisms of antibiotic resistance", Principles of Infectious Disease 4th ed., Mandell G.L., Bennett E.J., Dolin R., **Churchill Livingstone**, New York, 212 (1995).
77. Heritage J., Zali F.H., Gascoyne-Birizi D., Hawkoy P.M., "Evolution and spread of SHV extented-spectrum beta-lactamases in gram-negative bacteria", **J. Antimicrob. Chemother.**, 44: 309-18 (1999).
78. Quintiliani J.R., Courvalin P., "Mechanisms of resistance to antimicrobial agents", Manual of Clinical Microbiology 6th ed., Murray P.R., Baron E.J., Pfaller M.A., Tenover F.C., Tenover R.H., **American Society of Microbiology**, Washington, 1308-1324 (1995).
79. Livermore D.M., "Beta-lactamase mediated resistance and opportunities for it's control", **J. Antimicrob. Chemother.**, 1: 24-41 (1998).

80. Akova M., "Beta-laktam antibiyotiklerin klinik kullanımı ve beta-laktamazlara bağılı direnç gelişimi", **Ankem Dergisi**, 8: 305-310 (1994).
81. Bush K., "Characterization of beta-lactamases", **Antimicrob. Agents. Chemother.**, 33: 259-263 (1989).
82. Bush K., Sykes R.B., "Methodology for the study of β -lactamases", **Antimicrob. Agents. Chemoter.**, 33: 259-263 (1989).
83. Gür D., "Beta-laktamazların sınıflandırılması", **Flora Derg.**, 2: 80 (1996).
84. Gür D., Akalın H.E., "Beta-laktamazlar ve beta-laktam antibiyotiklerine direnç mekanizmaları", **İç Hastalıkları Derg.**, 2: 105 (1987).
85. Akata F., "Gram negatif bakterilerde β -laktamaz tipleri ve antibiyogramdan β -laktamaz tipini tahmin etmede kullanılacak yöntemler", **İnfeksiyon Dergisi**, 11(3): 303-309 (1997).
86. Jack G.W., Richmond M.H., "A comparative study of eight discint β -lactamases synthesized by Gram-negative bacteria", **J. Gen. Microbiol.**, 61: 43 (1970).
87. Richmond M.H., Sykes R.B., "The β -lactamases of Gram-negative bacteria and their possible physiological role", **Adv. Microb. Physiol.**, 9:3 (1973).
88. Gür D., "Beta-laktam antibiyotiklerde direnç mekanizmaları", **Hacettepe Tıp Derg.**, 22: 193 (1989).
89. Neu H.C., "Antibiotic inactivating enzymes and bacterial resistance", *Antibiotics in Laboratory Medicine*, 2th ed., Lorian V., **Williams & Wilkins**, Baltimore, 757 (1986).
90. Wiedemann B., Kliebe C., Kresken M., "The epidemiology of β -lactamases", **J. Antimicrob. Chemoter.**, 18: 1 (1989).
91. Sykes R.B., Matthew M., "The β -lactamases of Gram-negative bacteria and their role in resistance to β -lactam antibiotics", **J. Antimicrob. Chemother.**, 2: 115 (1976).
92. Bush K. "Classification of beta-lactamases: groups 1, 2a, 2b, and 2b", **Antimicrob. Agents. Chemother.**, 33: 264-271 (1989).
93. 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.**, 57: 146-149 (2004).

94. Bush K., Jacoby G., "Nomenclature of TEM beta-lactamases", **J. Antimicrob. Chemother.**, 39: 1 (1997).
95. Gür D., "AmpC ve geniş spektrumlu beta-laktamazlarda son gelişmeler", **Ankem Dergisi**, 11: 209-212 (1997).
96. Sanders W.E., Sanders C.C., "Cycling of antibiotics: an approach to circumvent resistance in specialized units of hospital", **Clin. Microbiol. Infect.**, 1: 223-225 (1996).
97. Livermore D.M., Williams J.D., "Beta lactams: mode of action and mechanisms of bacterial resistance", Antibiotics in Laboratory Medicine, 4th ed., Lorian V.L., **Williams & Wilkins**, Baltimore, 502 (1996).
98. Livermore D.M., "Beta-lactamases in laboratory and clinical resistance", **Clin. Microbiol. Rev.**, 8: 557-584 (1995).
99. Medeiros A.A., "Evolution and dissemination of beta-lactamases accelerated by generations of beta-lactam antibiotics", **Clin. Infect. Dis.**, 24, 19-45 (1997).
100. Töreci K., "Antibiyotik direnç mekanizmaları", **Ankem Derg.**, 3: 445 (1989)
101. Uzun Ş., "Yoğun bakım ünitesinde yatan hastalardan izole edilen gram negatif çomaklarda genişlemiş spektrumlu β -laktamaz (GSBL) oluşturma sıklığı", Yüksek Lisans Tezi, **İstanbul Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı**, İstanbul, 115 (2000).
102. Jorgensen J.H., Ferraro M.J. "Antimicrobial susceptibility testing: special needs for fastidious organisms and difficult-to-detect resistance mechanisms", **Clin. Infect. Dis.** 30: 799-808, (2000)
103. Livermore D.M., " β -lactamases: quantity and resistance" **Clin. Microbiol. Infect.**, 3(suppl 4): 4510-4519 (1997).
104. Sanders C.C., Sanders W. Jr., " β -lactam resistance in Gram negative bacteria global trends and clinical impact" **Clin. Infect. Dis.**, 15: 824-839 (1992).
105. Gür D., "Sefalosporinler, in-vitro aktiviteleri ve bunlara karşı gelişen dirençte rol oynayan mekanizmalar", **Antibiyotik Bült.**, 1: 83 (1991).
106. Livermore D.M., "Clinical significance of β -laktamaz induksiyonu ve stabl derepresyon in Gram-negatif çomaklarda", **Eur. J. Clin. Microbiol.**, 6: 439 (1987).

107. Sanders C.C., Sanders W.E. Jr., "Microbial resistance to newer generation β -lactam antibiotics: Clinical and laboratory implications", **J. Infect. Dis.**, 151 (3): 399-406 (1985).
108. Bush K., "New beta-lactamases in Gram negative bacteria, diversity and impact on selection of antimicrobial therapy", **Clin. Infect. Dis.**, 32: 1085-1089 (2001).
109. Rahal J.J., "Extended spectrum β -lactamases; how big is the problem", **Clin. Microbiol. Infect.**, 6: 2-6 (2000).
110. Rice L., "Evolution and clinical importance of extended spectrum β -lactamases", **Chest**, 119: 3915-3965 (2001).
111. Heffelfinger J.D., Dowell S.F., Jorgensen J.H., "Management of community acquired pneumonia in the era of pneumococcal resistance"; **Drug Resistant Streptococcus pneumoniae Therapeutic Working Group. Arch. Intern. Med.**, 160: 1399-1408 (2000).
112. Jarlier V., Nicoles M.M., Fournier G., Philippon A., "Extended broad spectrum β -lactamases conferring resistance to newer β -lactam agents in Enterobacteriaceae"; hospital prevalence and susceptibility patterns", **Rev. Infect. Dis.**, 10: 867-71 (1988).
113. National Committee for Clinical Laboratory Standards, "Performance standards for antimicrobial susceptibility testing", Villanova, PA, **National Committee for Clinical Laboratory Standards**, 11th informational supplement, 100: 11 (2001).
114. Bonnet R. "Growing group of extended-spectrum beta-lactamases: the CTX-M enzymes", **Antimicrob. Agents. Chemother.**, 48: 1-14, (2004)
115. Paterson D.L., Bonomo R.A., "Extended-spectrum beta-lactamases: a clinical update", **Clin. Microbiol. Rev.**, 18: 657-86 (2005).
116. Stürenburg E., Mack D., "Extended-spectrum beta-lactamases: implications for the clinical microbiology laboratory, therapy, and infection control", **J Infect Dis**, 47(4): 273-95 (2003).
117. Gülay Z., Biçmen M., Atay T., "Cefotaximase-Mtype beta-lactamase production in *Escherichia coli* isolated at a university hospital in Turkey", **3rd Balkan Conference of Microbiology**, İstanbul, 35 (2003).
118. Jacoby G.A., Archer G.L., "New mechanisms of bacterial resistance to antimicrobial agents", **N. Engl. J. Med.**, 324: 601 (1991).

119. Jacoby G.A, Carreras I., "Activities of β -lactam antibiotics against *E.coli* strains producing extended-spectrum β -lactamases", ***Antimicrob. Agents Chemoter.***, 34: 858 (1990).
120. Philippon A., Arlet G., Lagrange P.H., "The role of β -lactamase inhibitor combinations", The Role of Piperacillin/Tazobactam in the Treatment of Polymicrobial Infections, Nord C.E., ***Pharmalibri Publ. Inc.***, Montreal, Chicago, 3 (1994).
121. Livermore D.M., "Mechanism of resistance to β -laktam antibiotics", ***Scand. J. Infect. Dis.***, 78: 7 (1991).
122. Philippon A., Labia R., Jacoby G., "Extended spectrum β -lactamases", ***Antimicrob. Agents Chemoter.***, 33: 1131 (1989).
123. George A., Jacoby M.D., "Extended-spectrum β -lactamases and other enzymes providing resistance to oxyimino- β -lactams", ***Infectious Disease Clinics of North America***, 11(4): 875-887 (1997).
124. Nicolas-Chanoine M.H., "Inhibitor-resistant beta-lactamases", ***J. Antimicrob. Chemother.***, 40(1): 1-3 (1997).
125. Swenson J.M., Hindler J.A., Peterson L.R., "Special phenotyping methods for detecting antibacterial resistance", Manuel of Clinical Microbiology 7th ed., Murray P.R., Baron E.J., Tenover F.C., Tenover R.H., ***Am. Soc. Microbiol.***, Washington, 368 (1999).
126. National Committee for Clinical Laboratory Standards: Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing, Ninth Informational Supplement, ***NCCLS***, Wayne, 100:9 (1999).
127. Bal Ç., "Antibiyotik duyarlılık testlerinin hasta izleniminde kullanımı: Beta-laktamaz testleri ve rutinde kullanımları", ***Antbiyotik duyarlılık testlerinin Standardizasyonu Toplantısı***, Antibiyotik, İstanbul, 33 (1997).
128. Jarlier V., Nicolas M.H., Fournier G., Philippon A., "Extended broad spectrum beta-lactam agents in Enterobacteriaceae: hospital prevalence and susceptibility patterns", ***Rev. Infect. Dis.***, 10: 867 (1988).
129. Cormican G.M., Marshall A.S., Jones N.R., "Detection of extended-spectrum beta-lactamase (ESBL)-producing strains by the E-test ESBL Screen", ***J. Clin. Microbiol.***, 34: 1880 (1996).
130. Thomson S.K., Sanders C.C., "Detection of extended-spectrum β -lactamases in members of the family Enterobacteriaceae: Comparison

- of the Double-Disk and Three-Dimensional Tests”, ***Antimicrobial Agents Chemoter***, 36: 1877-1882 (1992).
131. Reed M.D., “Clinical pharmacokinetics of amoxicillin and clavulanic acid”, ***Pediatr Infect. Dis. J.***, 15: 1-8 (1996).
 132. Todd P.A., Benfield P., “Amoxicillin/clavulanic acid: an update of its antibacterial activity, pharmacokinetic properties and therapeutic use”, ***Drugs***, 39: 264-307 (1990).
 133. Eshelma F.N., Spyker D.A., “Pharmacokinetics of amoxicillin and ampicillin: crossover study of the effect of food”, ***Antimicrob. Agents Chemoter.***, 14: 539-543 (1978).
 134. Bush L.M., Johnson C.C., “Ureidopenicillins and beta-lactam/beta lactamase inhibitor combinations”, ***Infect. Dis. Clin. North. Am.***, 14: 409-433 (2000).
 135. Reed M.D., “The clinical pharmacology of amoxicillin and clavulanic acid”, ***Pediatr. Infect. Dis. J.***, 17: 957-962 (1998).
 136. Hardin T.C., Butler S.C., Ross S, Wakeford J.H., Jorgensen J.H., “Comparison of ampicillin subactam and ticarcillin clavulanic acid in patients with chronic failure: effects of differential pharmacokinetics on serum bactericidal activity”, ***Pharmacotherapy***, 14: 144-152, (1997)
 137. Chabbert Y.A., “Concluding remarks”, ***J. Antimicrob. Agents. Chemoter.***, 6(Suppl. A): 301 (1980).
 138. Martin A.R., “Antibiotics”, Wilson and Gisvold’s Textbook of Organic Medicinal and Pharmaceutical Chemistry 9th, Delgado J. M., ***Lippincott Co.***, Philadelphia, 227 (1991).
 139. Schrinner E., Limbert M., Penosse L., Lutz A., “Antibacterial activity of cefotaxime and other new cephalosporins (in vitro and in vivo)”, ***J. Antimicrob. Chemoter.***, 6: 25 (1980).
 140. Mitsuhashi S., Inoue M., Masuyoshi S., “Antibacterial activity of cefotaxime”, ***J. Antimicrob. Chemoter.***, 6: 37 (1980).
 141. Jacoby G.A., Carreras I., “Activities of β -lactam antibiotics against *E.coli* strains producing extended-spectrum β -lactamases”, ***Antimicrob. Agents. Chemoter.***, 35: 1697 (1991).
 142. Neu H.C., “Structure-activity relations of new β -lactam compounds and in-vitro activity against common bacteria”, ***Rev. Infect. Dis.***, 5: 319, (1983)

143. Norby S.R., "Ceftazidime in clinical practice- a summery", **J. Antimicrob. Chemoter.**, 2 : 405 (1983).
144. Harper P.B., "In vitro properties of ceftazidime", **J. Antimicrob. Chemoter.**, 8: 5 (1984).
145. Harris A.M., Plested S.J., Harper P.B., "A comparison of the in vitro properties of ceftazidime with those of new broad-spectrum cephalosporins and gentamicin", **J. Antimicrob. Chemoter.**, 8: 43 (1981).
146. Hauben A.W., Stabbering E.E., "A comparative study of the inducing capacity and the selection of resistant variants by cefpirome (HR810), Cefpirome: A New Dimension in Spectrum and Activity", **16th International Congress of Chemotherapy**, Jerusalem, 51(1989).
147. S.O Kayaalp, "Rasyonel Tedavi yönünden tıbbi farmakoloji 10. baskı", **Hacettepe Taş**, Ankara, 242 (2002).
148. Sykes R.B., Bonner D.P., "Monobactam antibiotics: History and development, Aztreonam: The antibiotic discovery for Gram-negative infections", **The Royal Society of Medicine International Congress and Symposium Series**, London, 89: 3 (1985).
149. Brogden R.N., Rennie C.H., "Aztreonam: A review of its antibacterial activity, pharmacokinetics properties and therapeutic use, **Drugs**, 31: 96, (1986)
150. Jorgensen J.H., "Laboratory issues in the detection and reporting of antibacterial resistance", **Infect. Dis. Clin. North. Am.**, 11: 785-802 (1997).
151. Gülay Z., "Antimikrobiyal ilaçlara direnç", Mutlu G., Ümir T., Cengiz T., Ustaçelebi Ş., Temel ve Klinik Mikrobiyoloji, Tümbay E., Mete Ö., **Güneş Kitabevi**, Ankara, 91-108 (1999).
152. National Committee for Clinical Laboratory Standarts, "Performance standarts for antimicrobial disk susceptibility tests", **National Committee for Clinical Laboratory Standarts**, Approved standart M2-A, Wayne Pa, 17 (1997).
153. Bilgehan H., "Klinik Mikrobiyolojide tanı, 4. baskı", **Barış Yayınları Fakülte Kitabevi**, İzmir, 255 (2004).
154. Anonymous, "Merck Gıda Mikrobiyolojisi Uygulamaları", A.K. Halkman, **Başak Matbaacılık**, Ankara, 358 (2005).

155. Çalangu S., "Hastane infeksiyonları: Antibiyotik kullanımı ve direnç", **Ankem Derg.**, 12: 311 (1998).
156. Livermore D.M., Yuan M., "Antibiotic resistance and production of extended-spectrum beta-lactamases amongst *Klebsiella* spp. from intensive care units in Europe", **J. Antimicrob. Chemoter.**, 38: 409 (1996).
157. Töreci K., "Bakterilerde antibiyotik direnci ve hastane infeksiyonları ile ilişkisi", **Hast. İnfeksiyon Derg.**, 3: 117 (1999).
158. Katsanis G., Jacoby G., "The frequency of extended-spectrum beta-lactamases in isolates of *Klebsiella pneumoniae*", **J. Antimicrob. Chemoter.**, 29:345 (1992).
159. Vedel G., Belaouaj A., Gilly L., Labia R., Philippon A., Nevot P., Paul G., "Clinical isolates of *Escherichia coli* producing TRI beta-lactamases: novel TEM-enzymes conferring resistance to beta-lactamase inhibitors", **J. Antimicrob. Chemoter.**, 30: 449 (1992).
160. Jain A., Roy I., Gupta M.K., Kumar M., Agarwal S.K., "Prevalence of extended spectrum beta-lactamase producing gram-negative bacteria in septicemic neonates in tertiary care hospital.", **J. Med. Microbiol.**, 52: 421-425 (2003).
161. Tzelepi E., Magana C.H., Platsouka E., Safianou D., Paniara O., Legakis N.J., Vatopoukos A.C., Tzouvelekis L.S., "Extended-spectrum betalactamase types in *Klebsiella pneumoniae* and *Escherichia coli* in two Greek hospitals" **Int. J. Antimicrob. Agents.**, 21: 285-288 (2003).
162. Ho P.L., Tsang D.N., Que T.L., Ho M., Yuen K.Y., "Comparison of screening methods for detection extended spectrum beta-lactamases and their prevalence among *Escherichia coli* and *Klebsiella* species in Hong Kong", **APMIS**, 108: 237-240 (2000).
163. Çakar N., Tütüncü A., "Yoğun bakım birimine yatış sebepleri, invaziv girişimler ve infeksiyon sorunu" **Klimik Derg.**, 9: 3 (1996).
164. Archibald L., Phillips L., Monnet D., McGowan Jr. J.E., Tenover F., Gaynes R., "Antimicrobial resistance in isolates from inpatients and outpatients in the United States: Increasing importance of the intensive care unit.", **Clin. Infect. Dis.**, 24: 211-5 (1997).
165. Brachman P.S., Emori T.G., Garner J.S., Haly R.W., "Incidence of Hospital-acquired infection in the United States of America", Hospital infection and its control, **Barker Publ. Ltd.**, Cheshire, 11 (1982).

166. Bülüç M., Gürol Y., Bal Ç., “Genişlemiş spektrumlu beta-laktamaz oranları:2000-2002”, **Türk Mikrobiyol. Cem. Derg.**, 33: 31-4 (2003).
167. Kiremitçi A., Durmaz G., Aybey A., Us T., Akgün Y., “*Escherichia coli* ve *Klebsiella* suşlarında NCCLS tarama ve fenotipik doğrulama yöntemleriyle genişlemiş spektrumlu beta-laktamaz (GSBL) varlığının araştırılması”, **XXXI. Türk Mikrobiyoloji Kongresi**, Kuşadası, 340 (2004).
168. Gürler B., Gürler N., “1989 yılında hemokültür örneklerinden izole edilen mikroorganizmalar ve kemoterapötiklere duyarlılığı”, **Ankem Derg.**, 4: 319 (1990).
169. Mutlu H., Küçükateş E., “1991 yılında hemokültürden izole edilen mikroorganizmalar ve kemoterapötiklere duyarlılığı”, **Ankem Derg.**, 6: 225 (1992).
170. Vural G., “Klinik örneklerden izole edilen *K.pneumoniae*, *K.oxytoca*, *E.coli* suşlarında genişlemiş spektrumlu beta laktamaz enzimi varlığının araştırılması”, Yüksek Lisans Tezi, **Gazi Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü**, Ankara, 94 (2005).
171. Urdoğan N., Gürler N., “İdrar yolu infeksiyonu olan çocuklardan izole edilen *Escherichia coli* suşlarında antibiyotik direnci ve çeşitli virulans faktörlerinin araştırılması”, **Ankem Derg.**,18: 89-96 (2004).
172. Hoşgör M., Özsoy M.F., Altunay H., Koçak N, Çavuşlu Ş., Yenen O.Ş. “Genişlemiş Spektrumlu Beta-Laktamazların Belirlenmesinde Çift Diskli Sinerji Testi ile Üç Boyutlu Yöntemin Karşılaştırılması”, **Klimik Dergisi**, 21: 59-60 (1998).
173. Thomson K.S., “Controversies about extended-spectrum and AmpC betalactamases”, **Emerg. Infect. Dis.**, 7: 333-336 (2001).
174. Leblebicioğlu H., Nas Y., Eroğlu C., Sunbul M., Esen S., Gunaydin M., “Detection of extended spectrum beta-lactamases in *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae*”, **J. Chemother.**,11: 103-6 (1999).
175. Abacıoğlu Y.K., Yücesoy M., Gülay Z., Yuluğ N., “Extended spectrum beta-lactamases saptanmasında E-test ile çift disk sinerji yöntemlerinin karşılaştırılması”, **İnfeksi Derg.**,9: 93-97 (1995).
176. Saraçlı M.A., Başustaoğlu A., Aydoğan H., Küçükkaaslan A., Özyurt M., “Gata hastanesinde izole edilen *Escherichia coli* ve *klebsiella* suşlarında genişlemiş spektrumlu beta-laktamaz (esbl) pozitifliği”, **İnfeksiyon Dergisi**, 15: 87 (2001).

177. Akyıldız R., Özsoy M.F., Altunay H., Koçak N., Çavuşlu Ş., Yenen O.Ş., “*Klebsiella pneumoniae* suşlarında genişlemiş spektrumlu beta-laktamaz sıklığı ve beta laktam antibiyotik direncinin araştırılması”, ***Klimik Derg.***, 11: 53-58 (1998).
178. Fincancı M., Ulutürk R., Eren İ., Konuksal C., Soysal F., Sander S., Boztaş Z., “*Klebsiella pneumoniae* , *Klebsiella oxytoca* ve *Escherichia coli* kökenlerinde genişletilmiş spektrumlu beta-laktamazların araştırılmasında kullanılan çeşitli yöntemlerin karşılaştırılması”, ***İnfeksiyon Dergisi***, 17: 55- 60 (2003).
179. Atar Y.I., “*Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae* ve *Pseudomonas aeruginosa* suşlarında β -laktamaz aktivitesi ve çeşitli β -laktam antibiyotiklerin bu suşlara etkisinin araştırılması”, Doktora Tezi, **T.C. İstanbul Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı**, İstanbul, 89 (1995).
180. Collatz E., Labia R., Gutmann L., “Molecular evolution of ubiquitous β -lactamases towards extended-spectrum enzymes active against newer β -lactam antibiotics”, ***Mol. Microbiol.***, 4: 1615 (1990).

ÖZGEÇMİŞ

Kişisel Bilgiler

Soyadı, adı : DEMİRÖZÜ, Zerrin
Uyruğu : T.C.
Doğum tarihi ve yeri : 10.03.1981, Ankara
Medeni hali : Bekar
Telefon : 0 (312) 562 19 09
e-mail : zerrind@hotmail.com.

Eğitim

Derece	Eğitim Birimi	Mezuniyet tarihi
Yüksek Lisans	Gazi Üniversitesi /Biyoloji Bölümü	2007
Lisans	Gazi Üniversitesi/ Biyoloji Bölümü	2003
Lise	50. Yıl Lisesi	1999

Yabancı Dil

İngilizce

Hobiler

Takı tasarımı, yüzme.