

TÜRKİYE CUMHURİYETİ
AFYON KOCATEPE ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**KLİNİK ÖRNEKLERDEN İZOLE EDİLEN *KLEBSIELLA*
İZOLATLARININ ANTİBİYOTİKLERE DUYARLILIKLARI**

Bio. Ebru Kırac

**MİKROBİYOLOJİ VE KLİNİK MİKROBİYOLOJİ ANABİLİM
DALI**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

DANIŞMAN

Doç.Dr. Zafer Çetinkaya

Tez No: 2011 -003

2011 - Afyonkarahisar

KABUL VE ONAY

Afyon Kocatepe Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji Ana Bilim Dalı çerçevesinde yürütülmüş bu çalışma aşağıdaki jüri tarafından **Yüksek Lisans Tezi** Olarak kabul edilmiştir.

Tez Savunma Tarihi: 20/01/2011

Doç. Dr. Orhan Cem Aktepe
Jüri Başkanı

Doç. Dr. Zafer Çetinkaya
Üye

Doç. Dr. Fatma Aktepe
Üye

Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji Ana Bilim Dalı Yüksek Lisans Programı Öğrencisi Ebru Kıracı' ın '**AKÜ Ahmet Nejdet Sezer Araştırma ve Uygulama Hastanesinde 'Klinik Örneklerden İzole Edilen Klebsiella İzolatlarının Antibiyotiklere Duyarlılıkları'** başlıklı tezi ----- günü saat -----'da Lisansüstü Eğitim ve Sınav Yönetmeliğinin ilgili maddeleri uyarınca değerlendirilerek kabul edilmiştir.

Doç. Dr. Esmâ KOZAN Enstitü
Müdürü

ÖNSÖZ

Eğitim sürecim içerisinde bilgi ve deneyimlerinden yararlandığım, her konuda desteklerini gördüğüm, hoşgörü ortamı içerisinde geniş tecrübeleriyle bizlere yön veren, kendine güvenen bireyler olarak yetişmemizde büyük rol oynayan saygıdeğer hocalarım Doç.Dr. Orhan Cem Aktepe, Doç. Dr. Mustafa Altındış, Doç. Dr. İ. Hakkı Çitfci, Doç. Dr. Özlem Miman'a en içten saygı ve teşekkürlerimi sunarım.

Bu tezin başlangıcından en son cümlesine kadar ki her aşamasında çok büyük emeği, bilgisi, tecrübesi, fedakarlığı, özverisi olan tez danışmanım çok değerli hocam Doç.Dr. Zafer Çetinkaya' ya gönülden teşekkür ederim.

Yoğun çalışma temposuna rağmen desteklerini esirgemeyen Dr. Özlem Yoldaş'a sabır, hoşgörü ve iyi niyeti için tüm kalbimle teşekkür ederim.

Eğitimimin her aşamasında birlikte olduğum, öğrenciliğim boyunca birlikte çalışmaktan mutluluk duyduğum, hiçbir konuda yardımlarını ve sevgilerini esirgemeyen çok sevgili arkadaşlarım Bio. Teyde Çalışkan, Bio. Davut Çufalı, Bio. Kübra Eryeğer, Bio. Emine Durhan'a sonsuz teşekkür ederim.

Hayatımın her döneminde desteklerini, sevgilerini, esirgemeyen; başarı ya da başarısızlığımda hep yanımda olan; kendileriyle gurur ve onur duyduğum çok değerli anne ve babama ve kardeşim Süleyman'a çok teşekkür ederim.

İÇİNDEKİLER

KABUL VE ONAY	
ÖNSÖZ	i
SİMGELER ve KISALTMALAR	iii
TABLolar	v
1.GİRİŞ	1
<i>Enterobacteriaceae</i> üyesi bakteriler gram negatif, çoğu hareketli, fakültatifanaerob basillerdir. Bu aile şu an yaklaşık 100 tür içermektedir (Işık, 2007).....	4
1. 1. 1. Enterobacteriaceae Ailesinin Genel Özellikleri ve Morfolojileri.....	4
1.1.2. <i>Enterobacteriaceae</i> Ailesinin Biyokimyasal Özellikleri.....	4
1.1.3. Enterobacteriaceae Ailesinin Antijenik Yapıları.....	5
1.1.4. <i>Enterobacteriaceae</i> Ailesinin Patogenezi ve Yaptığı Hastalıklar.....	5
1.2. <i>Klebsiella</i> Türleri	6
1.2.1 <i>Klebsiella</i> Türlerinin Morfolojileri ve Kültür Özellikleri.....	6
1.2.3. <i>Klebsiella</i> Türlerinin Biyokimyasal Özellikleri.....	10
1.2.4. <i>Klebsiella pneumoniae</i> 'nin Yaptığı Hastalıklar	12
1.2.5. <i>Klebsiella</i> Türlerinin Etken Olduğu Nozokomiyal İnfeksiyonlar ve Epidemiyolojik Özellikleri	13
1.3. Antibiyotiklere Direnç Mekanizmaları	18
1.3.1. Doğal (İntrinsik) Direnç.....	19
1.3. 2. Kazanılmış (Kalıtsal) Direnç.....	19
1.4. Beta-Laktam Antibiyotikler.....	21
1.4.1. Beta laktam Antibiyotikere Direnç Mekanizmaları	25
1.4.2. Beta Laktamazların Sınıflandırılması.....	26
1.4.3. Beta Laktamazların İsimlendirilmesi.....	33
1.4.4. β -Laktamaz Enzimleriyle İlacın İnaktivasyonu	34
1.4.5 Genişlemiş-Spektrumlu β -Laktamazlar (GSBL'ler)	34
1.4.6. GSBL Tipleri.....	36
1.4.7. GSBL'lerin Klinik Önemi.....	41
1.4.9. GSBL'lerin Laboratuvar Tanı Yöntemleri.....	43
2. MATERYAL VE METOD	47
2.1.Örnek Toplama	47
2.2. Örneklerin Seçilmesi	47
2.3. İdentifikasyon	48
2.4. Antibiyotik Duyarlılık Testi.....	49
2.5. Çift Disk Sinerji Testi.....	50
2.6. Petri Kutularının Hazırlanması	51
2.7. Disklerin Yerleştirilmesi.....	51
2.8. Petri Kutularının İnkube Edilmesi, İnhibisyon Zonlarının Ölçülmesi ve Değerlendirilmesi.....	52
2.9. GSBL Deneyi.....	52
3. BULGULAR	54
4. TARTIŞMA	61
5. SONUÇ	70
ÖZET	72
SUMMARY	74
KAYNAKLAR	77

SİMGELER ve KISALTMALAR

β : Beta

°C :Celsius

AAC-6'-I : 6'-aminoasetiltransferaz-I enzimi

AK Amikasin

AM : Ampicillin

C : Chloramphenicol

CAZ : Ceftazidim

CIP : Ciprofloxacin

CN : Gentamicin

CRO : Ceftriaxon

CTX : Cefotaxim

GN: Gentamisin

GNB :Gram-negatif bakteriler

CLSI :Clinical Laboratory Standards Institute

ÇDST :Çift disk sinerji testi

DHP-1: Dehidropeptidaz-1

ECA:*Enterobacteriaceae* Common Antigen

EDTA :Etilen Diamin Tetra Asetik Asit

EMB :Eozin Metilen Blue

GİS: Gastrointestinal sistem

GSBL :Genişlemis Spektrumlu Beta Laktamaz

Hİ:Hastane infeksiyonları IMVIC :İndol, Metil Red, Voges Proskauer, Sitrat

MHA :Mueller Hinton Agar

MIK :Minimum İnhibitor Konsantrasyonu

ml :Mililitre

mm :Milimetre

MR/VP :Metil Red/Voges Proskauer

NPRS: National Prevalence Resistance Study

pH :Hidrojen potansiyeli

TSI :Three Sugar Iron

TABLULAR

Tablo 1. 1, Klebsiella Türlerinin Önemli Biyokimyasal Reaksiyonları.....	122
Tablo 1.2, Beta-laktamaz grupları ve genel özellikleri.....	28
Tablo 1.3, CLSI 2010 Önerilerine Göre Enterobacteriaceae Türleri İçin Rapor Edilen Bazı Antibiyotiklerin Zon Çapları ve MIC Değerleri.....	44
Tablo 2.1, CLSI Önerilerine Göre Enterobacteriaceae Türleri için Rapor Edilen Antimikrobiyal Ajanlar.....	50
Tablo 3.1, Kliniklere Göre GSBL Pozitifliği Dağılımı.....	54
Tablo 3.2, Klinik Örneklerle Göre GSBL Pozitifliğinin Dağılımı.....	55
Tablo 3.3, Aminoglikozid Direncinin GSBL Pozitif ve Negatif Örneklerle Göre Dağılımı.....	56
Tablo 3.4, Karbapenem Direncinin GSBL Pozitif ve Negatif Hastalara Göre Dağılımı.....	56
Tablo 3.5, Klebsiella İzolatlarının Grup A ve Grup B Antibiyotiklerine Duyarlılıkları.....	58
Tablo 3.6, CLSI Önerilerine Göre Grup A ve Grup B Antibiyotiklerine Direncin GSBL Pozitifliğine Göre Dağılımı.....	59

1.GİRİŞ

Klebsiella türleri fırsatçı patojen olarak insanda üriner sistem, alt solunum yolu, safra kesesi, cerrahi kesi yerinde infeksiyon etkeni olarak saptanan bakteriler arasındadır. Floralarda sınırlı sayıda Klebsiella suşu bulunmasına karşılık, hastanelerde yatarak tedavi alan hastalarda kolonizasyon oranlarının hızla arttığı bilinmektedir (Erdem, 2001; Töreci, 2002). Hastaneler, sıklıkla kullanılan invaziv tanı ve tedavi uygulamaları, yüksek antibiyotik kullanım oranları gibi nedenlerle dirençli bakterilerin ortaya çıkması ve yayılması için uygun ortamlardır.

Klebsiella'ların özelliği çoklu antibiyotik direncine sahip olmalarıdır (Erdem,2001). Klebsiella suşlarında geniş spektrumlu sefalosporinlere karşı plazmid kaynaklı direnç saptanmaktadır. Bu direnç genişlemiş spektrumlu beta-laktamaz (GSBL) üretimine bağlıdır. GSBL oluşturan suşlar hastane infeksiyonu epidemilerine neden olabilmelerinden ve taşıdıkları direnç plazmidleri türler arasında da transfer edilebildiğinden daha da önem kazanmaktadırlar.

Bakterilerin beta-laktam antibiyotiklere karşı direnç geliştirmesindeki en önemli mekanizma beta-laktamaz enzimi üretimidir. Bu enzimlerin görülme sıklıklarının artması (*Klebsiella pneumoniae*'de SHV-1 ve *E.coli*'de ampisilini hidrolizeden TEM-1) ve yeni bakteri türlerine yayılması (*Neisseria gonorrhoeae* ve *Haemophilus influenzae*) sonucu üçüncü kuşak sefalosporinler klinik kullanıma girmiş; çok daha az yan etkileriyle ve geniş spektrumları ile özellikle gram-negatif bakterilerin neden olduğu nozokomiyal infeksiyonlarda yaygın olarak kullanılmıştır. Bu yaygın kullanım sonucunda bakteri türleri, bu antibiyotiklere karşı yeni β -laktamaz üretimleriyle cevap vermişlerdir.

Bu β -laktamazlar, SHV 1, TEM-1, TEM-2 ana β -laktamaz genlerinden mutasyonlarla oluşmuş ve substrat profilleri genişleyerek üçüncü kuşak sefalosporinleri hidrolizleyip, direnç geliştirmişlerdir. Bu β -laktamazlara “Genişlemiş Spektrumlu β -Laktamazlar” (GSBL) denilmiştir. Ancak tanımları konusunda henüz fikir birliği yoktur.

GSBL üreten suşlarla oluşan infeksiyonlar, günümüzde tedavi başarısızlıklarına yol açmaktadır. Bu suşlar hastane infeksiyonu etkenleri arasında hızla yayılıp, yüksek mortalite, morbidite ve yüksek tedavi maliyetlerine sebep olurlar. GSBL en çok *Klebsiella spp.* daha az oranlarda da diğer *Enterobacteriaceae* cinslerinde bulunmaktadır. Bu bakteriler GSBL genlerini, plazmidler aracılığı ile birbirlerine, diğer suş ve bakterilere aktarırlar. GSBL üreten *Klebsiella* cinsleri, GSBL genlerinin aktarımında başta gelen bakteri grubudur ve hastane infeksiyonlarında etken olarak öne çıktığı görülmektedir.

Klebsiella türleri hastanede yatan hastaların gastrointestinal sistem (GİS) ve nazofarinksinde kolonize olurlar. Böylece hastalarda ve hastane florasında kolayca kolonize olup uzun süre canlı kalırlar. Hastanede yatan hastalara geniş spektrumlu sefalosporinler çok sık kullanılır. GİS’de bulunan *Klebsiella* türleri bu seçici antibiyotik baskısı ile in vivo koşullarda mutasyonlara uğrayarak GSBL üreten suşlar haline gelirler ve ortama hakim olurlar. GSBL üreten genler, plazmidlerle bazende tranpozonlar ve integronlarla bakteriler arasında kolayca yayılırlar. Son yıllarda sık kullanılan antibiyotiklerin büyük bir kısmına dirençli ve GSBL üreten *K.pneumoniae*’nin sebep olduğu çok sayıda hastane infeksiyonu salgınları bildirilmektedir. Hastane kaynaklı infeksiyonların sağaltımında sık kullanılan kinolonlara karşı son yıllarda %30'lara, diğer antibiyotikler için ise %50'lere varan direnç oranları bildirilmektedir.

GSBL üreten suşlar çoklu direnç plazmidleri de taşıyabilmekte, kromozomal direnç görülen bazı antibiyotiklere de direnç göstermektedir. Çoklu direnç, GSBL üretimiyle ilişkilidir. GSBL üretiminden sorumlu plazmidler aminoglikozidler, kloramfenikol, tetrasiklin ve sülfonamid direnç genlerini de taşıdıklarından GSBL üreten suşlar sıklıkla çoğul dirençlidir. Vurgulanması gereken önemli bir nokta da GSBL oluşturan bakterilerin, in vitro duyarlı bulunsalar bile penisilin, sefalosporin ve monobaktamlara 'dirençli' rapor edilmeleri gerekir. Bunun dışında GSBL üreten suşlarla oluşan yaygın infeksiyonlarda karbapenemler dışında kullanılan antibiyotiklerin bakterisidal etkilerini sürdüremediği veya bakterisidal etkilerinin olmadığını bildiren çalışmalar mevcuttur. Bu yüzden GSBL varlığının ve TEM/SHV/CTX-M prevalansının belirlenip, antibiyotik tedavi rejiminin, GSBL üreten suşlarla oluşan hastane ve toplum kökenli infeksiyonları önlemek, yayılmasını engellemek, tedavi maliyetini düşürüp morbitide ve mortaliteyi azaltacak şekilde yeniden düzenlemek çok önemlidir. Bunun için en başta bakterinin ürettiği GSBL enziminin doğru olarak saptanması gereklidir. GSBL salgılayan suşların saptanması için klavulanik asidin bu enzimlerin aktivitesini inhibe etmesi temeline dayanan çeşitli yöntemler kullanılmaktadır. GSBL saptanmasında kullanılan yöntemlerin duyarlılık ve özgüllükleri değişmektedir. Standart disk difüzyon testleri GSBL üretimini %48 oranında yakalayabilmektedir. Bu sebeple bu enzimleri tespit etmek için ilave testlere ihtiyaç vardır. GSBL üretimini belirlemek için en sık uygulanan test çift disk sinerji testi (ÇDST)'dir. Bu testin optimal disk uzaklığı konusunda tam bir standardizasyon maalesef bulunmamaktadır. Bu yöntemin yanında GSBL üretiminin doğru olarak saptanmasında; kombine disk, E test ve otomatize sistemler bulunmasına rağmen bu testlerin rutinde kullanıma girmesi için birbirlerine avantaj, dezavantaj ve yeterliliklerini gösteren herhangi bir çalışma bulunmamaktadır (Işık, 2007).

1.1 Enterobacteriaceae Ailesi

Enterobacteriaceae üyesi bakteriler gram negatif, çoğu hareketli, fakültatifanaerob basillerdir. Bu aile şu an yaklaşık 100 tür içermektedir (Işık, 2007).

1. 1. 1. Enterobacteriaceae Ailesinin Genel Özellikleri ve Morfolojileri

Enterobakteriler küçük 0.5-3 µm en ve 1-6 µm boyunda, sporsuz, gram-negatif basillerdir. Enterobakterilerde, belirgin bir kapsül veya slime tabakası denen ince bir kılıf hücreyi sarabilir (Bilgehan,1992). Enterobacteriaceae türleri Mac Conkey besiyerinde kolay üreyebilen basillerdir. Bazıları peritriş kirpiklerle hareketli veya hareketsiz, DNA'da Guanin+Sitozin (G+C) oranı %39-59 arasındadır. Enterobacteriaceae ailesinde yer alan *K.pneumoniae* yaşadığımız çevrede çok yaygındır. *K.pneumoniae* insanların barsaklarında, üriner sistem ve solunum sisteminde belirtisiz yerleşim gösterebildiği gibi, ölüme kadar giden ağır infeksiyonlar da oluşturabilir (Erdem, 1999).

1.1.2. Enterobacteriaceae Ailesinin Biyokimyasal Özellikleri

Bu ailedeki bakteriler, glikozu fermente eden, nitratı redüksiyona uğratabilen, oksidaz negatif, katalaz pozitif özelliğe sahiptirler. Klebsiella, Enterobacter ve Serratia cinsleri glikoz fermentasyonunda butanediol yolunu kullanırlar ve son ürün olarak asetoin oluştururlar. Bu nedenle Klebsiella, Enterobacter ve Serratia cinslerinin Voges-Proskauer reaksiyonu pozitif olup, IMVIC testi (- - + +) dır (Işık, 2007).

1.1.3. Enterobacteriaceae Ailesinin Antijenik Yapıları

Ailenin serolojik tiplendirmesinde kullanılan ana antijenler somatik (O), kirpik (H) ve kapsül (K) antijenleridir. Bunlar dışında bakteri hücresinin dış yüzeyinde bulunan ECA (*Enterobacteriaceae* Common Antigen) tüm enterobakterilerde bulunan ortak antijendir. Somatik (O) antijeni; O antijeninin birinci bölgesi (region I) tekrarlayan oligosakkarit parçalarından oluşur. İkinci bölge (region II) kor polisakkaritinden oluşur. Lipit A bölümü yani üçüncü bölge (region III) beş altı yağ asidine tutunmuş bir disakkarittir. O antijenleri ısıya (110°C ye 2.5 saat), alkole (%96'lık, 4 saat) ve asitlere dayanıklıdır. Formaldehit karşısında etkinliği kaybolur. Kirpik (H) antijenleri; protein yapıdadır. Hareketli suşlarda bulunur. Formole dirençlidir. K (kapsül) antijeni; polisakkarit yapıda olup, antijenik özellik taşır (Işık, 2007).

1.1.4. Enterobacteriaceae Ailesinin Patogenezi ve Yaptığı Hastalıklar

Bakterinin protein yapıda adezinleri mukozalara tutunmalarını sağlamaktadır. Bakterinin Enterotoksinleri genellikle ince barsakları etkileyip diyareye neden olan toksinlerdir. Lipid A bölümü ise toksik aktiviteden sorumludur. Enterobakteriler demir sağlamak için, siderofor denilen bileşikleri kullanarak konak organizmada transferrin veya laktoferrin gibi moleküllerden demir kazanırlar. Bunlara yanında shigatoksin ve shigatoksin benzeri toksinler, hemolizinler, kapsül maddeleri, enzimler diğer virülans faktörleridir. Kolonizasyon faktörleri, enterotoksin, hemolizin gibi virülans faktörlerini ve ilaç direnci genlerini taşıyan plazmidler ve bakteriyosinler de bulunur.

Enterobakteriler en sık üriner sistem infeksiyonlarına neden olur. Bunun dışında solunum sistemi, yara, kan ve merkezi sinir sisteminde, pnömoni, septisemi, menenjit ve abselere neden olurlar (Erdem, 1999).

Enterobacteriaceae ailesinde tipik semptomlarla seyreden hastalıkların (tifo, basilli dizanteri, veba) etkeni olan cinsler ile özellikle hastane infeksiyonlarına (idrar yolu yara infeksiyonları, pnömoniler, septisemiler) neden olan fırsatçı bakteriler bulunmaktadır.

Aslında bugün hastane infeksiyonlarının en büyük sorumluları enterobakterilerdir. Hastane infeksiyonlarına yol açan enterobakteriler; *E.coli*, *Enterobacter spp*, *K.pneumoniae*, *Proteus mirabilis*, *Citrobacter spp*. ve *Serratia marcescens* türleridir.(Işık, 2007)

1.2. Klebsiella Türleri

1.2.1 Klebsiella Türlerinin Morfolojileri ve Kültür Özellikleri

Klebsiella cinsi bakteriler Enterobacteriaceae ailesinin genel karakterlerini gösteren bazen ikişer ikişer, bazen kısa zincirler oluşturan 0.7-1.5 x 2.0-5.0 µm boyutlarında Gram negatif hareketsiz, sporsuz, genellikle kapsüllü çomakçıklardır (Podscun, 1998). Klebsiella cinsi adını, 19.yy'ın sonlarında yaşamış, Alman mikrobiyoloğu Edwin Klebs'den almıştır. Daha sonraları *Klebsiella pneumoniae*'nin yaptığı ağır öldürücü pnömoni tablosunu araştırmacı Carl Friedlander ayrıntılı bir biçimde tanımlanmıştır. Bundan dolayı *Klebsiella pneumoniae* yıllarca 'Friedlander basili' olarak adlandırılmıştır (Gouby ve ark.,1994; Aydın, 2000).

Klebsiella cinsi bakteriler, insan ve hayvan bağırsak, üst solunum yolları florası ile toprak ve sularda bulunurlar. İnsanlarda, genellikle pnömoni, idrar yolu infeksiyonları, otitis media, sinüzit, menenjit, prostatit, kolesistit, peritonit, daha az olmak üzere sepsis, karaciğer absesi gibi birçok hastalığa yol açmaktadır (Podscun, 1998). Nozokomiyal ve fırsatçı infeksiyonların en başta gelen etkenleri arasındadırlar (Gouby ve ark.,1994).

Klebsiella cinsinde yedi tür bulunmaktadır:

Klebsiella pneumoniae

Klebsiella oxytoca

Klebsiella ozanae

Klebsilla rhinoscleromatis

Klebsiella planticola

Klebsiella terrigena

Klebsiella ornithinolytica

Klebsiella cinsi, hareketsiz türler içerir. Klebsiella cinsi bakterilerin önemli bir özelliği, Gram boyama ile geniş kapsüllü görüntüsüdür. Bu özelliği ve katı besiyerinde büyük, mukoid koloniler yapması polisakkarit kapsülüne bağlıdır. Klebsiella cinsi bakteriler, ısıya dayanıksız olup nemli ortamda 55°C’de 30 dakikada ölürler, oda sıcaklığında tutulan kültürlerde haftalarca, + 4°C soğukta aylarca canlı kalırlar (Gouby ve ark,1994; Aydoğan, 2000). Kuruluğa oldukça dirençlidirler. Özellikle organik maddelerde kurutulurlarsa aylarca canlı kalabilmektedirler. Üremeleri için kan, serum, asit sıvısı, glikoz gibi özel besin maddelerine gereksinim duymazlar (Gouby ve ark.,1994).

1.2.2. *Klebsiella* Türlerinin Antijen Yapıları ve Patojenite Faktörleri

Polisakkarit yapısında O ve K antijenleri bulunmaktadır. Bugün K antijenine bağlı tiplendirme ön planda uygulanmaktadır. Bunun nedenleri K antijeni ile tiplendirmenin daha kolay olması, K antijenlerinin O antijenlerinin sayısından fazla olmasıdır ve 82 tip K antijeninin O antijenlerinin üzerini kaplaması nedeniyle O antijenlerinin tayininin zor olmasıdır . Bu antijenlere karşı elde edilmiş antiserumlarla lam ve tüp aglütinasyonları, kültür süzütüsü ile presipitasyon ve Neufeld'in kapsül şişme reaksiyonu ile *Klebsiella*'lar tiplendirilebilir. Kapsül şişme reaksiyonunda aslında özgül serumlarla karşılaştırılan bakterilerin kapsül polisakkaritlerinde oluşan presipitasyon sonucunda kapsül şişmiş gibi görünmektedir. *Klebsiella* cinsi bakterilerin serolojik tiplendirimi bu alanda uzman olmuş laboratuvarlarda yapılabilmektedir (Aydoğan, 2000).

1-Kapsüller Antijenler: *Klebsiella* cinsi bakterilerin geniş polisakkarit kapsülü virulansında temel faktördür ve bakteri hücrelerini fagositozdan korur (Peşken, 1993; Di martini ve ark.,1995). *Klebsiella* kapsül polisakkaritlerinin in vitro olarak makrofajların fonksiyonel kapasitelerini ve farklılaşmalarını engelledikleri ayrıca infekte bölgeye lökosit göçünü geciktirdikleri rapor edilmiştir(Işık, 2007).

2-Fimbria: Fimbrianın 'adhezyon' denen yapışma yeteneği de virulans ile ilgilidir. Fimbrialar yapışmadan sorumlu en önemli yüzey adhezinleri ya da ligantlarıdır. Fimbrialar genellikle gram negatif bakterilerde bulunurlar fakat bazı gram pozitif bakterilerde de bulunabilirler. Çevre şartları fimbriaların oluşumunu etkiler. Oksijen, sıcaklık, pH ve bakterinin içinde bulunduğu ortam bunlar arasındadır. Bakteri sitoplazmik membranından kaynaklanıp dışa doğru uzanan fimbrialar protein yapısında olup 'pilin' adı verilen ve birbirleri ile sarmal şekilde

birleşmiş alt ünitelerden meydana gelmektedir (Peşken, 1993; Di martini ve ark,1995).

Çok kırılğan olan fimbrialar sürekli olarak kaybedilir ve yerlerine yenileri yapılır. ÜSİ'a yol açan bazı bakteriler, yeni fimbrialar yaparak konağın immun yanıtını aşabilirler (Gouby ve ark.,1994).

a) Genel Pili (Tip 1): Bu yapılar 10 µm boyunda 1-11 nm çapında olup 15-26 kda moleküler ağırlığında polimerik globuler protein alt ünitelerinden (pilin) oluşmaktadır. Tip1 pililerin bakterinin ürogenital ve solunum sistemine kolonizasyonunda rol oynadığı gösterilmiştir (Işık, 2007).

b) Tip 3 Pili: Diğerlerinden farklı olarak sadece tanen ile muamele edilmiş eritrositi aglutine ederler (Ulutürk, 2000). Tip 3 pili, *K.pneumoniae* suşlarının solunum sisteminin epiteline, üroepiteliyal hücrelere ve endoteliyal hücrelere yapışmasında rol alır (Gouby, 1994).

3-Serum Direnci ve Lipopolisakkarit: Serum direncinden TraT lipoproteini veya porini gibi dış membranın çeşitli proteinlerinin asitleri, kapsüler polisakkarit (CPS) ve O antijenlerinin (lipopolisakkaritler) sorumlu olduğu ortaya konmuştur (Işık, 2007).

4-Sideroforlar: Klebsiella'larda konak organizmadan demir iyonu sağlayabilen sideroforların varlığı gösterilmiştir. Sideroforlar yayılcı sistemik infeksiyon oluşturmada esansiyel bir faktör olan demiri sağlayarak mikroorganizmaların işini kolaylaştırmaktadır (Peşken, 1993; Di martini ve

ark.,1995). Demir bakterinin üremesi için redoks katalizörü olarak görev yapan temel faktördür. Demir intrasellüler olarak hemoglobulin, hemosiderin ferritin, myoglobulin ve ekstrasellüler olarak transferin gibi proteinlere bağlıdır. Bakterilerin çoğu konakta ihtiyacı olan demiri siderofor adı verilen düşük molekül ağırlıklı, yüksek duyarlıklılı şelatlar ile sağlarlar (Podscun, 1998).

1.2.3. Klebsiella Türlerinin Biyokimyasal Özellikleri

Klebsiella cinsi bakterilerin tür düzeyinde tanımlamalarında kullanılan özellikler şunlardır; Klebsiella'lar fermentatif bakterilerdir. Birçok şekeri fermente etmelerine rağmen bu konuda kökenler arasında farklılık vardır. D-glukoz, laktoz ve sükrozu fermente etmelerinin yanında mannitol, adonitol, trehalozu da fermente ederler. Örneğin *Klebsiella rhinoscleromatis*, laktozu fermente edemez.

Hareketsiz bakterilerdir. Karbon kaynağı olarak malonat ve sitratı kullanırlar. *Klebsiella rhinoscleromatis* ise sitratı kullanamaz. Diğer tüm *Enterobacteriaceae* ailesi üyelerinde olduğu gibi oksidaz etkinlikleri yoktur. Klebsiella cinsi bakteriler deoksiribonükleaz enzim aktivitesine sahip değildir. *Klebsiella oxytoca*, *Klebsiella ornithinolytica* ve *Klebsiella planticola* bir aminoasit olan triptofanı indol, pirüvik asit ve amonyak oluşturarak metabolize ederler. Karbonhidrat metabolizmalarının ara ürünü olarak asetil-metil-karbinol (asetoin) oluştururlar (*Klebsiella ozaenae* ve *Klebsiella rhinoscleromatis hariç*). Üreyi yavaş hidrolize eder ve Christensen'in üre agarında parlak pembe renk oluştururlar (*Klebsiella rhinoscleromatis* ve *Klebsiella terrigena hariç*) (Aydoğan, 2000). Klebsiella cinsi bakterilerden yalnızca *Klebsilla rhinoscleromatis*'de lizin dekarboksilaz enzimi yoktur ve bu nedenle lizini kadeverine dönüştüremez. Sadece *Klebsiella ozaenae* arjinin dihidrolaz enzimi ile ornitini putresine dönüştürebilme yeteneği *Klebsiella ornithinolytica*, *Klebsiella ozaenae* ve *Klebsiella terrigena*'da gözlenir.

Klebsiella cinsi bakteriler, H₂S üretmezler, fenilalanini deamine etmezler (Gouby ve ark.,1994). *Klebsiella pneumoniae*, *Klebsiella ozaenae* ve *Klebsiella rhinoscleromatis* laktozdan gaz oluştururlar. Klebsiella cinsi bakterilerin *Enterobacter*, *Hafnia* ve *Serratia* cinsi bakterilerden ayırımında hareket yetenekleri ve DNAaz enzim aktiviteleri araştırılır. Klebsiella'lar hareketsiz, diğerleri hareketlidir (Aydoğan, 2000). *Enterobacter*'lerden *E.asburiae*, *E.dissolvens* ve *E. nimipressuralis* hareketsiz olup Klebsiella türleri, ornitin dekarboksilaz negatif, lizin dekarboksilaz pozitifliğiyle diğer Enterobakterilerden ayrılır. *Serratia* cinsi bakterileri Klebsiella'lardan ayıran diğer özellik deoksiribonükeaz enzimi aktivitesine sahip olmalarıdır. Klebsiella cinsi bakteriler, tüm bağırsak bakterileri gibi genel kullanım besiyerlerinde ürerler. Optimal 37°C ve pH 7'de iyi ürerler.

Aerob ve fakültatif anaerobtur. Sıvı besiyerlerinde homojen bir bulanıklık ve dipte müköz bir çökelti yaparak üremektedirler. Üredikleri ortama bol kapsül maddesi salarlar. Katı besiyerlerindeki kolonileri, tipik mukoid nitelikte, büyük, sarımtırak gri renkte ve akıcı kolonilerdir. Uygunsuz koşullarda S ve R kolonilerine dönüşebilirler. Yatık jelozdaki birikme sıvısı gri-beyaz mukoid bir kitle şeklini alır. Buyyonda birkaç günlük kültürlerde bir kıvamlaşma oluşarak besiyeri eritilmiş jelatin kıvamında bir görünüm alır (Aydoğan, 2000). MacConkey agarda koloniler tipik olarak büyük, mukoid ve kırmızıdır (Gouby ve ark.,1994).

Tablo.1. 1, Klebsiella Türlerinin Önemli Biyokimyasal Reaksiyonları(Bilgehan, 1996)

	K.pneumoniae	K.ozaenae	K.rhinosclernomatis	K.oxytoca	K.terigena
Metil kırmızı	-	+	+	-	+
İndol	-	-	-	+	-
Voges-Proskauer	+	-	-	+	+
Sitrat	+	D	-	+	+
44.5°C'de laktozdan gaz	+	-	-	+	+
+10°C'de üreme	-	-	-	+	+
Laktoz	+	G	G	+	+
Malonat	+	-	+	D	D
Üreaz	+	D	-	+	+
Lizin dekarboksilaz	+	D	-	+	+
Arginin dihidrolaz	-	D	-	+	+
H ₂ S	-			-	-

(D) Değişen (G) Gaz oluşumu (-) Negatif (+)Pozitif

1.2.4. Klebsiella pneumoniae'nin Yaptığı Hastalıklar

Sağlıklı bireylerin solunum yolunda ve dışkıda %5-10 oranında *K.pneumoniae* bulunur. *K.pneumoniae* fırsatçı infeksiyon etkeni olarak değerlendirilir ve pnömoniden başka üriner yol, yara infeksiyonlarına ve bakteremilere yol açar. Yeni Doğan Ünitelerinde plazmid aracılı çoklu dirençli Klebsiella'lara bağlı hastane infeksiyonları sık görülür.

Klebsiella'ların GSBL üretmeleri ve çoklu antibiyotik direncine sahip olmaları klinik açıdan önemlidir. *K.pneumoniae* dışındaki *Klebsiella* türleri daha az oranda hastane infeksiyonlarına yol açar (Bilgehan, 1992).

1.2.5. *Klebsiella* Türlerinin Etken Olduğu Nozokomiyal İnfeksiyonlar ve Epidemiyolojik Özellikleri

Peşken (1993); Akçam(2004), hastane infeksiyonları (nozokomiyal infeksiyonlar, Hİ), hastaneye başvuru anında inkübasyon döneminde olmayan, hastaların hastaneye başvurularından 48-72 saat sonra gelişen ya da hastanede gelişmesine karşın, bazen hasta taburcu olduktan sonra 10 gün içinde ortaya çıkabilen infeksiyonlar olarak tanımlanmaktadır. Çeşitli çalışmalarda Hİ'lerinin görülme sıklığının %3.1-14.1 arasında değiştiği tespit edilmiştir. Hİ'u etkenleri ve direnç profilleri hastaneler arasında ve aynı hastanenin değişik birimleri arasında bile farklılıklar gösterebilmektedir.

Üriner sistem infeksiyonları en sık görülen nozokomiyal infeksiyonlardır (Köksal, 2000). Nozokomiyal pnömoni, nozokomiyal infeksiyonların %13-18'inden sorumludur (Yüce, 2000). Nozokomiyal infeksiyonlar arasında en ağır klinik tablolardan biri nozokomiyal bakteremilerdir. Özellikle yoğun bakım birimlerinde görülme sıklığı daha fazladır. Bu infeksiyonların kaynağı kişinin kendi kolon florası (endojen) ve hastane personelinin elleri (ekzojen) olabilmektedir (Ulutürk, 2000).

Epidemik Hİ'ları, Hİ'larının %10'unu oluşturmaktadır. Endemik Hİ'ları ise, olguların %90'ını oluşturmakta ve sporadik olarak gözlenmektedir (Işık, 2007). Hastane infeksiyonlarından izole edilen patojenlerin spektrumu süreç içinde değişmekle beraber gram-negatif bakteriler, hastanede sorun olan patojenler içindeki yerini korumaktadır (Işık, 2007).

Verbist ve ark. (1993), Avrupa'da 1992'de 13 ülkede hematoloji/onkoloji ve yoğun bakım birimlerinde gerçekleştirilen bir çalışmada hastane infeksiyonlarından

soyutlanan 8625 bakterinin %57'sini gram-negatif basillerin oluşturduğu görülmüştür.

Aydemir (2006), ülkemizde 1994-1995 yıllarında 8 merkezde yoğun bakım birimlerinde gerçekleştirilen National Prevalence Resistance Study (NPRS) çalışmasında izole edilen 981 gram-negatif bakterilerin dağılımı incelendiğinde ilk sırada *Pseudomonas spp.* (%30) saptanmış, onu *Klebsiella spp.* (%25), *E.coli* (%18), *Acinetobacter spp.* (%9), *Enterobacter spp.* (%9) izlemiştir.

Hospitalize edilmiş ve diabetes mellitus veya kronik pulmoner obstrüksiyonlu immünkompromize bireylerde, fırsatçı patojen olan *Klebsiella* türlerinin yaptığı infeksiyonlara sık rastlanmaktadır. *K.pneumoniae* nozokomiyal infeksiyonların en önemli etkenlerindedir. ABD ve Avrupa'da, *Klebsiella* türleri nozokomiyal bakteriyel infeksiyonların %8'inin nedenidir. İngiltere'de 1983-1991 yılları arasında görülen 145 epidemik nozokomiyal infeksiyonların 13'ünün nedeninin *Klebsiella* olduğu bildirilmiştir. *Klebsiella* türleri endemik hastane infeksiyonlarının %8'inden, epidemik salgınlardan ise %3'ünden sorumludur.

Son yıllarda *K.pneumoniae* yaptığı infeksiyonlardan daha çok GSBL üretilmesiyle ortaya çıkan dirençleriyle gündeme gelmiştir. Başlıca β -laktam antibiyotiklerle beraber aminoglikozidlere, florokinolonlara da direnç gösteren çoklu dirençli bakterilerin sayısı artmıştır. Ayrıca çok yaygın olmasa da karbapenem direnci gelişmeye başlamıştır (Öngen, 2003). *Klebsiella*'lar sağlıklı bireylerin nazofarinks ve barsağında % 5 oranında kolonize olurlar. Hospitalizasyon ve antibakteriyel ilaç kullanımı *Klebsiella* taşıyıcılığını arttırmaktadır. *Klebsiella* infeksiyonlarına ortamda kolonize olmuş suşlar kaynak oluşturmaktadır. Florada sınırlı miktarda *Klebsiella* suşu bulunmasına karşılık yatarak tedavi alan hastalarda kolonizasyon oranlarının hızla arttığı bilinmektedir (Çetinkaya ve ark., 2005).

Aydođan (2000), yapılan çalışmalarda hospitalize hastalardaki taşıyıcılık oranları, gaitada %77, farinkste %19, hastaların ellerinde ise %42 oranında bulunmuştur. Yüksek orandaki nozokomiyal Klebsiella kolonizasyonunun daha çok antibiyotik kullanımı ile ilişkili olduğu dűřünlmektedir. Bařka bir çalışmada hastanede iki haftalık bir kalış sűresinin ardından Klebsiella kolonizasyon oranında 2-4 kat artış saptanmıştır . Kolonizasyonun artışı ve hastanedeki Klebsiella suşlarına karşı çoklu direncin gűrűlmesi, uzun sűreli, çoklu veya geniş spektrumlu antibiyotik kullanımına bağlanmaktadır (Wiener ve ark. 1999).

Avrupa'da Klebsiella suřlarının β -laktamazları genellikle SHV-5 tipi, ABD'de ise TEM-10 ve TEM-12 yaygın olarak saptanmıřtır. (Aydođan, 2000). Medeiros (1993), 1993'te "National Nosocomial Infection Study System"de test edilen, *K.pneumoniae* suřlarının %5'inin GSBL pozitif izolatlar olduđu rapor edilmiřtir . Aydođan (2000), Avrupa'da ise bu oran daha yűksektir. 2000 yılında Fransa ve İngiltere'de yapılan bir çalıřmada Klebsiella suřlarının %14-16'sının GSBL űreten suřlar olduđu ortaya konmuřtur. Belirgin bűlge ve hastanelerde bu oran %25- 40'a ulařabilmektedir. Kuzucu ve ark.(1999), űlkemizde yapılan çalıřmalarda *K.pneumoniae* suřlarında GSBL sıklıđı %40-90 arasında deđiřmektedir. Kontrollű antibiyotik kullanımı ile bu tűr etkiler azalacađından profilaksi ve ampirik tedavi amaçlı yanlıř antibiyotik kullanımını engelleyecek yeni stratejilerin geliřtirilmesi gerekir. Medikal aletlerin kontaminasyonu, kan űrűnleri, hastaların GİS'leri ile hastane personelinin elleri infeksiyonun yayılmasında űnemli kaynaklardır (Aydođan, 2000).

GSBL'ler genellikle plazmid kaynaklıdır. Bu plazmidler, enterobakterilerin çeřitli tűrleri arasında kolay geçiř gűsterebildiklerinden dirençli genlerin birikimi, çoklu direnç plazmidleri içeren suřlarla sonlanmaktadır. GSBL űretimi sıklıkla antibiyotiklere karřı çoklu direnç ile iliřkilendirildiđinden, terapűtik seçenekler sınırlı

hale gelmiştir. Bununla birlikte, GSBL üreten Klebsiella suşlarının karbapenemlere duyarlı olduğu görülmektedir. Ancak imipeneme direnç gösteren GSBL pozitif *K.pneumoniae* suşları izole edilmiştir. Bu suşların plazmid kaynaklı AmpC-tip β -laktamaza sahip oldukları bilinmektedir (Bradfort ve ark., 1997).

1. 2. 5. 1. Nozokomiyal İnfeksiyonlarda; GSBL Üreten *K.pneumoniae* Salgınları

GSBL üreten klinik izolatların çoğunu hastanede yatan hastalardan izole edilen ve en çok nozokomiyal salgın sebebi olan *K.pneumoniae* suşları oluşturmaktadır (Akyıldız, 2000). Özellikle yoğun bakım ünitelerinde GSBL üreticisi *K.pneumoniae* suşlarının neden olduğu büyük hastane salgınları gözlenmiştir. Bu salgınlarda gelişen infeksiyonların yaklaşık yarısının kan dolaşımı infeksiyonu olduğu bildirilmiştir (Pena ve ark., 1998). Ülkemiz hastanelerinde de nozokomiyal patojen olan Klebsiella suşlarının GSBL üretiminin %80'leri geçtiği gözlenmektedir (Yakupogulları ve ark., 2004).

Ampisiline karşı primer dirençten dolayı ampisilin yada aynı spektrumdaki başka ilaçla tedavi edilen hastalarda florada *E.coli*'nin yerini Klebsiella türleri almaktadır. Yine üçüncü kuşak sefalosporinlerin kullanımı, GSBL pozitif Klebsiella türlerinin kolonize olması ve infeksiyon oluşturmada oldukça önemli bir risk faktörüdür (Akalm, 2000).

1.2.5.2.Nozokomiyal İnfeksiyonlarda GSBL Üretimini Yayılması

Hastaneler, sıklıkla kullanılan invaziv tanı ve tedavi uygulamaları, yüksek antibiyotik kullanım oranları gibi nedenlerle dirençli bakterilerin ortaya çıkması ve yayılması için uygun ortamlardır. İnfeksiyon hastalıklarının tedavisinde ampirik antibiyotik kullanımı ve antibiyotik duyarlılık testleri için önemli bir sorun olan standardizasyon eksikliği ne yazık ki direnç gelişmesine ciddi katkıda bulunmaktadır (Çetinkaya ve ark, 2005).

Klebsiella spp. kapsülü sayesinde kuruluğa daha dirençlidir bu sayede cilt ve eşyalar üzerinde uzun süre kalıp çapraz infeksiyonlara neden olurlar. Bir hastanede GSBL üreten bir suş seleksiyonla seçilebilir veya başka bir merkezden transfer edilebilir. Bundan sonra bu suş değişik yollarla yayılabilir veya GSBL'yi kodlayan plazmid farklı suşlar arasında transfer edilerek yayılabilir. GSBL taşıyan plazmidler 100 kb ve daha büyük plazmidlerdir. GSBL genlerini taşıyan genler aynı zamanda aminoglikozid direncini kodlayan genleri de taşır. Bir çok merkezde bu plazmidlerin yayılması veya klonun yayılması ile oluşan GSBL salgınları bildirilmektedir (Esen, 2004). Her merkezde periyodik olarak antimikrobiyal direncin izlenmesi ve sonuçlarının bildirilmesi, uygun tedaviye ve direnç gelişiminin önlenmesine katkıda bulunacaktır (Çetinkaya ve ark., 2005).

Sonuç olarak; *Klebsiella*'lar fırsatçı infeksiyonlar olup septisemi, pnömoni, üriner sistem ve yumuşak doku infeksiyonu gibi ciddi infeksiyonlara neden olabilmektedir. *Klebsiella* infeksiyonları tipik olarak nozokomiyal infeksiyonlardır. Bu bakterilerin hedefleri hospitalize edilmiş, altta yatan başka bir hastalığı olan immün yetmezlikli hastalardır. *Klebsiella* infeksiyonları yeni doğan yoğun bakım ünitelerinde septisemi ve menenjitlere neden olabilmektedir. Bu salgınların daha fazlasının nedeni çoklu antibiyotiğe dirençli suşlar olduğundan, yeni doğan *Klebsiella* infeksiyonları büyük sorun haline gelmiştir. Çoklu dirençli *Klebsiella*

suşlarının hastane salgılarından GSBL suşları sorumlu tutulmaktadır. Klebsiella suşları arasında, GSBL oluşturan suşların sayısında geçmiş yıllara göre sürekli bir artış göstermektedir (Podscun, 1998).

Klinikte GSBL üreten suşlarla oluşan infeksiyonların tedavisinde karbapenemler, kısmen β -laktamaz inhibitörlü kombinasyonlar ve sefamisinler kullanılmaktadır. Artık dördüncü kuşak sefalosporin olan sefepimin kullanılması da Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) tarafından önerilmemektedir (Dizbay, 2004).

Risk altındaki kişilerin nozokomiyal *K.pneumoniae* infeksiyonlarından korunması için aşı çalışmaları yapılmıştır. Günümüzde Klebsiella izolatlarının kapsül tiplerinin yaklaşık 25 serotipini içeren Klebsiella aşıları, bu bakterinin neden olduğu sepsisten korunmada en geçerli aşı olarak kabul edilmektedir (Combe ve ark, 1994).

1.3. Antibiyotiklere Direnç Mekanizmaları

Bakteriler tranpozon ve plazmidler gibi hareketli genetik parçaları alarak, basit mutasyonlar ile veya endojen antibiyotik direnç odaklarının yeniden düzenlenmesi (rearrangement) ile (integronlar gibi) antibiyotiğe dirençli hale gelirler. ABD’de hastane kaynaklı infeksiyonların %70’inden antibiyotiklere dirençli bakteriler sorumludur (Baskın, 2005).

Dirençte yeni bir mutasyon veya direnç geninin kazanılma olasılığı nedeniyle genetik metodlar %100 duyarlılık sağlamaz, bu nedenle klasik yöntemler

uygulamada terk edilmemelidir. Mikroorganizmaların antimikrobiklere karşı gösterdiği direnç doğal (intrinsik) ve kazanılmış (kalıtsal) direnç diye iki ana bölümde ele alınabilir (Öztürk, 1997).

1.3.1. Doğal (İntrinsik) Direnç

Bir organizmanın yapısı nedeniyle dirençli oluşu anlamına gelir. Antimikrobik maddenin etkili olduğu hedef molekülün olmaması ve ilacın hedefe ulaşmasını önleyen doğal engeller bu tip dirençten sorumludur. İlaçların etkili olması için mikroorganizmanın aktif üreme döneminde olması gerekir. Bakteri sporları veya dormant haldeki mikobakteriler gibi inaktif mikroorganizmalar dirençli görülebilir, ama bunlardan oluşan yeni kökenler ilaçlara duyarlıdır. Bir çok gram-negatif bakteri vankomisin ve metisiline, enterokoklar sefalosporinlere duvar yapıları nedeniyle intrinsik direnç gösterirler. Zorunlu anaerob bakterilerde ilaç hücre içine giremediğinden aminoglikozidler etki göstermezler.

1.3.2. Kazanılmış (Kalıtsal) Direnç

Kazanılan bir direnç tipidir. Burada bakterilere antimikrobik madde ilk temasta etkilidir, fakat temas süresinde veya tekrarlanan tedaviler sırasında antimikrobik maddeye karşı direnç gelişir. Antimikrobiklere karşı gelişen direnç esas olarak bu yolla olmakta ve genetik değişim sonunda seleksiyonla dirençli kökenler ortaya çıkıp yayılmaktadır. Genetik direnç kromozom, plazmid, tranpozon kontrolü altındadır.

1.3. 2. 1. Kromozomal Direnç

Bu tip direnç kromozomda kendiliğinden (spontan) bir mutasyon sonucu oluşmaktadır. Kromozomal mutasyonla gelişen direnç başka türden bakterilere yayılmadığından ve mutasyona uğrayan bakterinin metabolizması da değişebiliyor üremesi kısıtlanabileceğinden dolayı plazmidle oluşan dirence göre daha seyrek görülür.

1.3. 2. 2. Plazmidlere Bağlı Direnç

Klinikte görülen direncin ana sorumlusudur. R-plazmidi denen direnç plazmidleri bir veya daha çok sayıda antibiyotiğe karşı direnç genlerini taşımaktadır. Normal barsak florasında anaerop koşullarda plazmid transferi inhibe edilir, bu nedenle normal barsak florası, R-plazmidlerine karşı en iyi savunma mekanizmasıdır.

1.3. 2. 3. Tranpozonlara Bağlı Direnç

Tranpozonlar bir DNA molekülünden diğerine (kromozomdan plazmide, plazmiden kromozoma) geçebilen DNA dizileridir, bağımsız olarak replike olamazlar. Ampisilin, kloramfenikol, kanamisin, tetrasiklinler ve trimetoprim karşı direnç gelişiminden sorumludur. Özellikle çok kısa sürede çoklu ilaç dirençli (multiple-drug resistance) kökenlerin ortaya çıkıp yayılışında tranpozonların rolü vardır. R-plazmidleri ve tranpozonların etkisiyle; antimikrobik maddeyi parçalayan enzim oluşturulması, hücre çeperi geçirgenliğinin bozulması, ilacın hücreden dışarı

atılması, ilacın ortamdan alınışının azalması, ilacın hücre içindeki etki yerine bağlanmasının azalması sonucu direnç gelişir.

1.4. Beta-Laktam Antibiyotikler

Beta laktamazlar, plazmide bağımlı genler veya kromozomal genlerce sentezlenebilir. Antimikrobiyal direnci Beta-laktam antibiyotikler yan etkilerinin azlığı ve bakterisid olmaları nedeniyle günümüzde en sık kullanılan antibiyotik grubudur. Bakterilerin peptidoglikan tabakasının sentezini bozarak etki ederler. Bakterilerin hücre duvarında yer alan peptidoglikan (mürein) tabakası mikroorganizmanın yapısını ve bütünlüğünü sağlar. Bu tabaka çapraz bağlanan kısa peptid zincirleri ile sağlamlaşır. Bu çapraz bağlantı N-asetil muramik asitin yapısında yer alan D-alanin D-alanin moleküllerinin transpeptidasyon reaksiyonu ile birleşmeleri sonucu oluşur. Transpeptidaz reaksiyonu oluşturan enzimlere penisilin bağlayan proteinler “PBP” adı verilir. Betalaktam antibiyotiklerin temel hedefi işte bu penisilin bağlayıcı proteinlerdir. Beta-laktam antibiyotiklerin yapısı ve uzaydaki konfigürasyonları D-alanin D-alanin molekülüne çok benzemektedir. Bu benzerlik beta-laktam antibiyotiklerin PBP ile reaksiyona girmelerini ve D-alanin D-alanin molekülünün yerini alarak transpeptidasyonu engellemelerini sağlar (Gür, 2002)

Hücre duvar yapısı bozulan bakteride ozmotik direnç kaybı ve ölüm meydana gelmektedir (Sarı, 2005). Beta-laktam antibiyotiklerin hedeflerine bağlanmaları ve etkinlik göstermeleri için GN bakterilerde porin (Outer Membran Protein, OMP) adı verilen içi su dolu protein kanalcıklarından geçmeleri, sitoplazmik membranla dış membran arasındaki periplazmik boşlukta yer alan beta-laktamazlardan etkilenmemeleri gerekmektedir (Kfoury, 2003). Gram-pozitif bakterilerde dış membran tabakası bulunmayıp, sitoplazmik kalın bir peptidoglikan tabakası

uzanmaktadır. Beta-laktamazlar bu tabakaya yapışık veya bakteri hücresi etrafında serbest olarak yer almaktadır (Opal ve ark., 2003). Gram pozitif bakterilerde, ilaç inaktivasyonu için gerekli enzim fazla olduğundan beta laktamazlar ekzoenzim olarak hücre membranından dışarıya salgılanır. Beta laktam antibiyotikler başlıca 5 grupta toplanırlar:

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

1-) Penisilinler: Penisilinlerin temel yapısı, bir tiazolidin halkası, bir betalaktam halkası ve bir yan zincirden oluşmaktadır (6 amino penisiloik asit).

Doğal penisilinler: Penisilin G, prokain penisilin G, kristalize penisilin G, benzatin penisilin G, penisilin V (Fenoksi metil penisilin)

Penisilinaza dayanıklı penisilinler: Metisilin, nafsilin, izaksazolil penisilin, kloksasilin, dikloksasilin, flukloksasilin, oksasilin

Aminopenisilinler: Ampisilin, amoksisilin, bakampisilin, siklasilin, episilin, pivampisilin

Pseudomonaslara etkili penisilinler: Karbenisilin, indanil karbenisilin (korindasilin), tikarsilin

Geniş spektrumlu pseudomonaslara etkili penisilinler: Azlosilin, mezlosilin, piperasilin

Amdinopenisilinler: Amdinosilin, pivamdiosilin

Beta-laktam inhibitörlü kombine penisilinler: Ampisilin/sulbaktam, amoksisilin/klavulonat, tikarsilin/klavulonat, piperasilin/tazobaktam

2-)Sefalosporinler: Beta-laktam halkası yanında penisilindeki 5 üyeli tiazolidin halkası yerine sefalosporinlerde 6 üyeli bir dihidrotiazin halkası bulunur.

Dihidrotiazin halkasında fazladan bulunan karbon atomu 3. pozisyonda da yeni yan dalların ilavesi ile daha değişik ve çok sayıda sefalosporinler elde edilmesine olanak sağlamıştır. Kronolojik esasa dayanan ve bakterilere karşı etki spektrumundaki gelişmeyi de yansıtması yönünden pratik değeri olan bir sınıflandırma şu şekildedir (Sarı, 2005).

1. kuşak sefalosporinler: Sefalotin, sefazolin, sefaloridin, sefaleksim, sefapirin, sefradin, sefadroksil, sefasetril, seftezol.

2. kuşak sefalosporinler: Sefuroksim, sefoksitin, sefamandol, sefonisid, sefonarid, sefaklor, sefotiam, sefmetazol, sefotetan.

3. kuşak sefalosporinler: Sefotaksim, seftizoksim, sefoperazon, seftriakson, moksolaktam, seftazidim, sefsulodin, sefmenoksim, sefpiramid

4. kuşak sefalosporinler: Sefepim, sefpirom Parenteral uygulanan 1. kuşak sefalosporinlerin etkinlikleri birbirine benzerdir. Yalnızca sefazolinin stafilokoklara etkinliği biraz daha az, GN etkinliği diğer 1. kuşak üyelerine göre biraz daha fazladır. Birinci kuşak sefalosporinlerden herhangi birisi in vitro antibiyotik duyarlılık testinde diğerlerinin yerine kullanılabilir.

İkinci kuşak sefalosporinler, 1. kuşağa göre stafilokok ve streptokoklara daha az, GN basillere ve anaeroblara daha fazla etkilidir. Sefoksitin, GN basillerin ürettiği bazı betalaktamazlara dirençlidir ve bazı *Enterobacteriaceae*'lar tarafından üretilen betalaktamazların oldukça etkili indükleyicisidir (Sarı, 2005).

Üçüncü kuşak sefalosporinler GN basillere karşı yaygın olarak kullanılan sefalosporinlerdir. *E.coli*, *Klebsiella spp.*, *Proteus mirabilis*, indol (+) *Proteus*, *Providencia* ve *Serratia*'ya karşı etkilidirler. İkinci kuşaktakilerden klinik yönden en önemli farkları, *P. aeruginosa* kökenlerine de etkili olmaları ve diğer GN basillere ve *Neisseria* türlerine karşı daha güçlü etkinlik göstermeleridir. Gram-pozitif koklara özellikle *S.aureus*'a karşı etkileri 1. kuşağa oranla çok zayıftır. Anaeroblara karşı etkileri değişik derecededir. Beyin omurilik sıvısına geçişleri 1. kuşağa göre iyidir (Harold, 1985).

3-)Monobaktamlar: Aztreonam ilk sentetik monobaktam antibiyotiktir. Betalaktam halkasına birleşik bir başka halka içermelerinden dolayı penisilin ve sefalosporinlerden ayrılırlar. Aztreonam, GN bakterilerde PBP3'e bağlanarak duvar sentezini bozar. Gram-pozitif bakterilerin PBP'sine bağlanamaz. Anaerob bakterilerin PBP'sine de düşük affinite gösterir. Bu yüzden etki alanı GN aerob bakteriler ile sınırlıdır. Aztreonam, parenteral uygulamadan sonra dokulara ve vücut sıvılarına çok iyi dağılır. *K. pneumoniae*, *H.influenzae*, *M.catarrhalis* gibi sık rastlanan GN patojenlere etkilidir (Sarı, 2005).

4-)Karbapenemler: Sefalosporinlerdeki bir çift bağ içeren 5 üyeli halka yapısında bir metilenin yerine bir sülfürün geçmesiyle diğer beta-laktam ajanlardan ayrılır. Karbapenemler *Streptomyces cattleya* tarafından üretilen bir bileşik olan tienamisin türevleridir. Beta-laktamların en geniş spektrumlu grubudur. Mikobakteriler, hücre duvarından yoksun organizmalar ve nadir nonfermentatifler ve *Aeromonas* dışında hemen her bakteriyel patojene etkilidir. Karbapenemler çok geniş spektrumlu antibakteriyel aktiviteye ve klinikte gözlenen bir çok beta-laktamaza karşı stabilizeye sahiptir. GSBL ve AmpC enzimini fazla miktarda üreten GN bakterilere karşı etkinliklerini korurlar (Livermore, 2000). Ancak sınıf B metallo-beta-laktamazlar dahil, karbapenemazlar bu antibiyotikleri hidroliz edebilmektedir. Çok geniş etki spektrumu, iyi klinik etkinliği, uygun güvenlik profili ile karbapenemler, ağır infeksiyonların başlangıç tedavisinde ilk tercih edilecek olan antibiyotikler içinde

oldukça değerlidir (Bonfiglio, 2002). Bu grupta İmipenem ve Meropenem bulunmaktadır. İmipenemin böbrekte enzimatik yıkıma uğraması ve metabolitinin nefrotoksik olmasından dolayı tek başına kullanılamaz. Bir dehidropeptidaz-1 (DHP-1) inhibitörü olan silastatin ile 1/1 oranında birleştirilerek pazarlanmaktadır. Silastatin sodyum, DHP-1'in kompetitif, reversibl ve özgül inhibitörüdür. Silastatinin antibakteriyel etkinliği ya da beta-laktamazlar üzerine etkisi yoktur. İmipenemin etkisini antagonize etmez (Endtz, 1997). Meropenem ise imipenemin aksine insan böbrek dehidropeptidaz I (DHP-1) enzimine karşı çok yüksek stabilite gösteren bir karbapenemdir. Klinik olarak önemli olan hemen tüm aerobik ve anaerobik bakterilere karşı son derece etkilidir. PBP2, hem imipenemin hem de meropenemin başlıca hedefidir. Ancak meropenem, *P.aeruginosa* ve *E.coli*'nin PBP2 ve 3'üne daha büyük bir afinite gösterir (Sarı, 2005). Meropenem, stafilokoklara ait enzimler ve GN bakterilerdeki karbapenemazlar hariç diğer tüm beta-laktamazların hidrolizine karşı dayanıklıdır. Karbapenemlerden imipenem, gram-pozitif organizmalara karşı daha etkili gözükürken meropenem, GN'lere özellikle de *P.aeruginosa*'ya daha etkilidir (Edwards, 1995).

1.4.1. Beta laktam Antibiyotikere Direnç Mekanizmaları

Beta laktam antibiyotiklerin hedef molekülünün penisilin bağlayan proteinler (PBP) olduğunu Spratt 1975'te tanımlamıştır. Beta laktam antibiyotikler kovalan bağlarla bu moleküllere bağlanarak peptidoglikan sentezini inhibe eder ve bakteri üremesini engellerler. Bakteri sitoplazmik membranında bulunan PBP' ler, peptidoglikan sentezinde görev yapan; transpeptidaz, karboksipeptidaz veya glikozil transferaz yapısında olabilen enzimlerdir. (Bush, 1986; Tanır, 1999).

Gram negatif bakteriler beta laktam antibiyotiklere karşı üç yolla direnç geliştirirler (Yorcangil, 1999; Siu, 2002).

- 1-Beta laktamaz enzimleri sentezleyip beta laktam antibiyotiklerini parçalayarak,
- 2-Dış membrandan geçebilmek için gereken kanalların daralması veya kanal sayılarının azalması,
- 3-Beta laktam antibiyotiklerin bağlanarak etkilerini gösterdikleri PBP yapısında değişiklik yaparak antibiyotiğin bağlanmasının engellenmesidir.

Beta laktamazlar, antibiyotikleri hedef bölgesine erişmeden beta laktam halkasını hidrolize ederek etkisiz hale getirirler (Jehl, 2004). Ayrıca, beta laktam halkasındaki amid bağlarını parçalarlar. Substratları olan antibiyotik ile karşılıklı etkileşim haline geçerek kompleks bir ara ürün oluştururlar. Daha sonra bu kompleks yapı, su ile hidrolize olur. Aktif enzim tekrar serbestleşir ve yeni beta laktam molekülleriyle etkileşime girer. Bu şekilde açığa çıkan beta laktam antibiyotiklerin asidik deriveleri etkisiz hale gelir ve antibakteriyel özelliklerini kaybederler (Bush, 1995; Siu, 2002). A, C ve D grubunda yer alan beta laktamazların aktif bölgelerinde serin aminoasidi bulunmaktadır. B grubundaki beta laktamazların aktif bölgesinde ise diğerlerinden farklı olarak çinko içeren enzimler bulunur (Tanır, 1999; Kfoury, 2003).

1.4.2. Beta Laktamazların Sınıflandırılması

Penisilinin geliştirilmesinden sonraki yirmi yıl içinde penisilinaz sentezleyen stafilokoklar tüm dünyada yayılmıştır. 1960'lerden sonra yarı sentetik penisilinler ve birinci kuşak sefalosporinlerin keşfedilmesi ile Gram negatif basillerde bulunan beta laktamazlar önemli bir direnç mekanizması haline gelmiştir. Beta laktam antibiyotiklerin yaygın kullanımı sonucu farklı substrat özgüllüğü gösteren çok çeşit ve sayıda beta laktamaz enzimi saptanmıştır.

Gram negatif basillerde bulunan beta laktamazların, 1978'ten sonra birçok yeni beta laktam antibiyotiğin kullanıma girmesi ile birlikte sayı ve çeşidinde ani bir artış gözlenmiştir (Bush, 2000; Gür, 2002). Bu durum göz önüne alınarak beta laktamazların gruplandırılması gerekli görülmüş birçok sınıflandırma şeması önerilmiştir. Nukleotid dizilerine dayalı moleküler düzeydeki sınıflamanın ilk temellerini 1980 yılında Ambler yapmıştır.

Bugüne kadar en az 350' ye yakın beta-laktamaz enzimi tanımlanmıştır. 1980'de Ambler tarafından moleküler yapılarına göre 4 sınıfa ayrılmışlardır:

Tablo 1.2, Beta-laktamaz grupları ve genel özellikleri

Beta-laktamaz grubu	Alt grup	Molekül sınıfı	Özellik
1		C	Çoğunlukla gram-negatif bakterilerdeki kromozomal enzimler (ancak plazmidde de kodlanabilir)
2		A, D	Klavulanik asitle inhibe olmaz. Birçoğu klavulanik asitle inhibe olur. Stafilokok ve enterokoklardaki penisilinazlar
	2a	A	
	2b	A	Çoğunlukla gram-negatif bakterilerdeki geniş spektrumlu beta-laktamazlar (TEM-1, TEM-2, SHV-1)
	2be	A	Oksiiminosefalosporin ve monobaktamlara direnç oluşturan genişlemiş spektrumlu beta-laktamazlar (GSBL, ESBL)
	2br	A	İnhibitörlere dirençli TEM (IRT) beta-laktamazlar
	2c	A	bir tane SHV türevidir Karbenisilini hidroliz eden enzimler
	2d	D	Oksasilini hidroliz eden enzimler
	2e	A	Klavulanik asit ile inhibe olurlar. Klavulanik asit ile inhibe olan sefalosporinazlar
	2f	A	Karbapenemleri hidroliz eden, aktif bölgede serin içeren ve klavulanik asit ile inhibe olan enzimler
3	3a, 3b, 3c	B	Metallo-beta-laktamazlar.
4		?	Klavulanik asit ile inhibe olmazlar. Diğer gruplara girmeyen dizileri belirlenmemiş enzimler

Sınıf **A**, öncelikle penisilinleri hidrolize eder.

Sınıf **B**, karbapenemazlardan oluşan metallo- β -laktamazlardır.

Sınıf **C**, öncelikle sefalosporinazlardan oluşan, kromozomal AmpC geni tarafından kodlanması nedeniyle AmpC enzimler olarak da adlandırılan enzimlerdir.

Sınıf **D**, oksasilinazlardan oluşur.

1995 yılında Bush, Jacoby ve Mederios, biyokimyasal özellikleri ve substrat profillerine göre β -laktamazları 4 gruba ayırmışlardır (Tablo 3). Bugün için en geçerli kabul edilen sınıflama budur (Bush, 1995).

Grup 1: Bunların birçoğu kromozomal enzimlerdir ve indüklenebilme özelliğine sahiptirler. Moleküler sınıflamada sınıf C'de yer alırlar. Kromozomal AmpC enzimleri, ayrıca plazmid kontrolündeki FOX-1, LAT-1, MIR-1, BIL-1 beta-laktamazları da bu grupta yer almaktadır. Sefaloridin ve sefalotini penisilinden daha hızlı hidroliz ederler. Klavulanik asit ve sulbaktamdan etkilenmezler, buna karşın aztreonam ve kloksasilin tarafından inhibe edilirler. Karbapeneme karşı da duyarlıdırlar. Grup 1 enzimlerini kodlayan genler plazmidlerde de görülebilmekte ve Enterobacteriaceae arasında transmisyon yoluyla aktarılabilmektedir.

Salmonella dışında hemen tüm GN bakterilerde kromozomal grup 1 beta-laktamazlar bulunur. Ancak sentez miktarı açısından farklılıklar göstererek yüksek veya düşük düzeyde üretilebilir. *E.coli*, *P.mirabilis* ve *Shigella spp.*'de ampisilin ve dar spektrumlu sefalosporinlere karşı direnç oluşturmayacak kadar düşük düzeyde sentezlenen yapısal enzimler vardır. Buna karşın *E.coli* izolatlarının %2'sinde AmpC enzimlerinin aşırı sentezi sonucu yüksek düzeyde direnç oluşabilmektedir (Livermore, 1995). *Enterobacter spp.*, *P.aeruginosa*, *C. freundii*, *Serratia spp.*, *Morgenella morgani*, *Providencia stuartii* ve *Providencia rettgeri*'deki sentezlenen kromozomal beta-laktamazlar indüklenabilen türdür (Gür, 1997).

Normalde bakteri tarafından bu enzimler bir baskılayıcı mekanizma ile düşük düzeyde sentezlenirken ortama bir penisilin ya da sefalosporin eklendiğinde enzim sentezinde birkaç yüz kat artış olabilmektedir (Livermore,1995). Farklı beta-laktam antibiyotikler değişik oranlarda olmak üzere Grup 1 beta-laktamazları indükleyebilirler. Ancak, indükleyici beta-laktamın ortadan kalkmasıyla bakteri tekrar eski bazal beta-laktamaz sentezine geri döner. Bu yüzden bu mekanizma ile klinikte kalıcı bir direnç söz konusu olmaz. Esas sorun bu enzimleri doğal olarak fazla miktarda sentezleyen mutant suşlar nedeniyle oluşur. İndüklenabilir kromozomal beta-laktamaz taşıyan bu GN bakterilerde baskılanmış mutantlar bulunur. Bu baskılanmış mutantlarda beta-laktamaz enzimlerinin sentezi devamlı ve yüksek düzeyde olmaktadır.

Böyle bakterilerle oluşan infeksiyonların bir indükleyici antibiyotik ile tedavisi sırasında duyarlı bakterilerin ortadan kalkması, antibiyotik etkisine dirençli doğal mutantların ortamda çoğalması ile tedavi başarısızlıkları olabilmektedir. Bunun yanı sıra dirençli bakterilerin hastane mikroflorasına yerleşmesine bağlı olarak da hastane infeksiyonu epidemileri ortaya çıkabilmektedir (Livermore, 1995).

Grup 2: En geniş kategoriye oluşturan bu grup substrat profilindeki farklılık nedeniyle birkaç alt gruba ayrılmaktadır. Tümü moleküller sınıf olarak A ve D’de yer almaktadır. Bu beta-laktamazlar penisilinleri, sefalosporinleri, kloksasilini, karbenisilini, karbapenemleri ve monobaktamları hidroliz etmelerine göre 6 alt gruba ayrılırlar . 2b, 2be ve 2br alt grubunda bulunan TEM ve SHV grubu enzimler, sık soyutlanan türlerde yaygın olmaları ve plazmidlerce taşınmaları nedeniyle klinik açıdan önem taşımaktadırlar (Yuluğ, 1997).

2a: Bu alt grupta penisilini hidrolize eden, klavulanik asite duyarlı enzimler bulunmaktadır. *S. aureus*’un enzimleri bu gruptadır. Ayrıca *B. cereus* ’un kromozomal beta- laktamazları, *Citrobacter amalonaticus*, *Eikenella corrodens* ve *Fusobacterium nucleatum*’da tanımlanan enzimler de bu gruptadır (Bush, 1995).

2b: Hem penisilin hem sefalosporinleri hidrolize eden, klavulanik asit, sulbaktam ve tazobaktam gibi beta-laktamaz inhibitörlerine duyarlı beta-laktamazları içerirler (Gür, 1997)

Plazmid kontrolündeki “geniş spektrumlu” TEM-1, TEM-2 ve SHV-1 enzimleri bu gruptadır. Bu enzimlere ampisilin, karbenisilin, tikarsilin, sefalotin gibi beta-laktam antibiyotiklere direnç oluşturmaları nedeniyle geniş spektrumlu denilmiştir. TEM-1, TEM- 2 ve SHV-1 beta-laktamazları Enterobacteriaceae ailesinde yaygın olarak bulunur. Ayrıca OHİO-1 ve *H.influenzae*’da saptanan ROB-1

enzimini de içermektedir. TEM-1 betalaktamazı özellikle *E.coli* suşlarında ampisilin ve amoksisilin direncine neden olan mekanizmalar arasında en sık görülenidir. Ayrıca TEM-1 enzimi, diğer Enterobacteriaceae üyelerinde olduğu gibi *Haemophilus*, *Vibrio* ve *Neisseria* gibi diğer cinslerde de bulunur. SHV-1 özellikle *K.pneumoniae* suşlarında bulunur (Livermore, 1998).

2be: Oksiamino beta-laktamlar ve monobaktamlar gibi antibiyotiklerin yaygın kullanımı sonucunda TEM-1, TEM-2 ve SHV-1 gibi ana enzimlerden 1-4 aminoasit değişikliği ile genişlemiş spektrumlu beta-laktamlara (seftazidim, seftriakson, sefotaksim veya aztreonam) da etki eden yeni TEM- ve SHV- enzimleri gelişmiştir (Livermore, 1998). Bunlar grup 2be'de yer almakta ve genişlemiş-spektrumlu beta-laktamaz (GSBL) olarak adlandırılmaktadır. Sefoksitin, sefotetan ve klavulanik asit gibi beta-laktamaz inhibitörlerine duyarlıdır. Özellikle *Klebsiella* ve *E.coli* suşlarında yaygındır. Bu grupta yer alan enzimlerden biri de PER-1 enzimidir. Bu enzim ilk kez Türkiye'den izole edilen bakteriyel suşlarda saptanmıştır (Danel ve ark., 1995).

2br: Klavulanik asitten etkilenmeyen, geniş spektrumlu beta-laktamazlar bu gruba alınmıştır. TEM-30 dan TEM-36'ya kadar olan TEM enzimleri ve TRC-1 enzimi bu gruptadır.

2c: Bu grup içinde karbenisilini hidroliz eden, klavulanik asite duyarlı enzimler yer almaktadır. PSE-1, PSE-3, PSE-4 beta-laktamazları, *Aeromonas hydrophilia*'nın AER-1 enzimi, *M.catarrhalis*'in BRO-1 ve BRO-2 enzimleri, *V.cholerae*'nin SAR-1 enzimi de bu gruptadır.

2d: Bu grup, kloksasilini penisilinden daha hızlı hidroliz eden beta-laktamazları içermektedir. OXA enzimleri bu gruptadır. Bunlardan OXA-11 enzimi,

Türkiye’de izole edilen bir suşda saptanmıştır (Hall, 1993). Klavulanik asit ve sulbaktama dirençlidirler. Grup 2’nin diğer alt gruplarında bulunan tüm enzimler, moleküler sınıf A’da yer alırken, sadece bu alt grup moleküler sınıf D’de yer alır.

2e: Bu grupta yer alan beta-laktamazlar sefalosporinaz olmalarına karşın, grup 1’dekilerden farklı olarak klavulanik asitle inhibe olmaktadır. *B.fragilis*’in CepA enzimi, *B.uniformis* ve *B.vulgatus*’un kromozomal CblA ve CfxA, *E.coli*’den izole edilen FEC-1 ile *S.maltophilia*’nın L2 ve *Y.enterocolitica*’dan izole edilen Blal enzimleri bu grupta yer almaktadır (Bush, 1995).

2f: Bu grupta, *E.cloacae*’nın indüklenebilen IMI-1 enzimi, *E.cloacae*’nın kromozomal NMC-A enzimi ve *S.marcescens*’in Sme-1 enzimi yer almaktadır. Karbapenemleri hidroliz etmekte, klavulanik asit ile inhibe olmaktadır (Bush, 1995).

Grup 3 metallo- β -laktamazlar: B sınıfı olan bu β -laktamazlar, monobaktamlar hariç tüm β -laktamları ve karbapenemleri hidrolize ederler. Sıklıkla etki spektrumlarını genişletecek bir diğer enzimle birlikte üretilirler. Diğer enzimlerden farklı olarak aktif bölgelerinde serin yerine bir Zn⁺² iyonu bulunur. β -laktamaz inhibitörlerinden etkilenmezler fakat EDTA ile inaktive olurlar. 3 alt gruba bölünmüştür. 3a’da genellikle penisilinleri karbapenemlerden daha hızlı hidrolize eden IMP-1-8 ve VIM-1-3 enzimleri yer alır. 3b’de *Aeromonas*’ın gerçek karbapenemazları, 3c’de sadece *Legionella gormanii*’nin yüksek sefalosporinaz aktivitesi olan metalloenzimleri yer alır.

Grup 4: Bu grup, klavulanik asit ile pek de iyi inhibe olmayan küçük bir penisilinazlar grubundan oluşur. Biri dışında hepsi kromozomaldır. Yapıları henüz tam olarak saptanamamıştır ve molekül sınıfı henüz belirlenmemiştir. *A.faecalis*,

B.fragilis, *C. jejuni*'den izole edilen enzimler, *Clostridium butyricum*'un indüklenebilen enzimi, *E. coli*'nin plazmid kontrolündeki SAR-2 beta-laktamazı bu gruba sokulmuştur.

1.4.3. Beta Laktamazların İsimlendirilmesi

Beta laktamazların isimlendirilmesindeki farklı yaklaşımlar, bu enzimleri gördüklerinden daha karmaşık bir hale getirmiştir. Bazı enzimler tercih ettikleri genlerine göre (Amp-C, CepA), substratlara göre (CARB, FUR, IMP, OXA), biyokimyasal özelliklerine göre (SHV, NBC), suşlara göre (P99), izole edildikleri bakterilere göre (AER, PSE), izole edildikleri hasta isimlerine göre (TEM, ROB), izole edildikleri hastaneye ve eyaletlere göre ya da bulan kişilere göre isim almışlardır. Bunlardan bazıları geçerliliklerini yitirmiştir. örneğin SHV, sülfidril variabil'dan kısaltılmıştır, ancak daha sonra SHV-1 enziminin aktif bölgesinin sülfidril değil, serin hidroksil olduğu anlaşılmıştır. Yine bu şekilde, ilk kez *Pseudomonas*'dan izole edilmiş olan PSE enziminin artık Enterobakterilerde de bulunabildiği bilinmektedir. Son yıllarda büyük bir hızla artmakta olan TEM enziminden türeyen enzimlere ise CAZ (seftazidimaz), CTX (sefotaksimaz) veya IRT (inhibitor rezistan) gibi tanımlayıcı isimler verilmiş ve bir karmasaya yol açmıştır. Tavsiye ise, TEM'den köken alan tüm enzimlerin TEM 26, TEM 43 gibi numara ile belirtilmesidir (Bush, 1997; Thomson, 2000)

1.4.4. β -Laktamaz Enzimleriyle İlacın İnaktivasyonu

β -laktamlar, peptidoglikan sentezinde görevli olan transpeptidaz ve karboksipeptidazları inhibe edip, hücre duvar sentezini durdurarak etki gösterir (Bush, 1995). Ancak bakterisidal etkileri, bakteriyel otolizinlerin aktive olmasına bağlıdır (Medeiros, 2000). β -laktamazlar, β -laktamların etkisini siklik amid bağına parçalayarak yok eden enzimlerdir (Bush, 1995). β -laktam antibiyotiklere karşı klinikte görülen direncin en sık nedenidir. β -laktamaz genleri bakteri kromozomunda veya plazmid, tranpozon, integron gibi hareketli genetik elemanlarda bulunabilir. Günümüzde birçok gram-negatif, gram-pozitif bakteri türü ve mikobakterilerde substrat profili, moleküler yapı, inhibitörlere duyarlılık, hidrolitik etkinlik gibi özellikler açısından farklı 400'den fazla β -laktamaz tanımlanmıştır (Tenover ve ark., 2003). β -laktamaz enzimi üretimi, başta *Enterobacteriaceae* üyeleri olmak üzere birçok bakteri türünün en önemli direnç mekanizmalarından birisidir. Bunların yaklaşık 150 tanesi genişlemiş spektrumlu β -laktamazdır .

1.4.5 Genişlemiş-Spektrumlu β -Laktamazlar (GSBL'ler)

GSBL'ler geniş spektrumlu β -laktam antibiyotikleri hidrolize edebilmelerini sağlayan mutasyonları içerirken, mutasyonlarla oluşan aktif bölgelerindeki bu genişleme; GSBL'lerin β -laktamaz inhibitörlerine duyarlılıklarının da artmasına yol açmıştır. Klavulanik asit, sulbaktam ve tazobaktam gibi β -laktamaz inhibitörleri, GSBL etkisini bloke etmekte, bu yüzden de sıklıkla β -laktam/ β -laktamaz inhibitörü kombinasyonlarına duyarlıdırlar (Chanawong, 2001). GSBL'lerin büyük çoğunluğu TEM veya SHV enzimlerinden köken almıştır. TEM-1, TEM-2 ve SHV-1 enzimleri ampisilin, karbenisilin, tikarsilin, sefalotin gibi β -laktam antibiyotiklere direnç oluşturmaları nedeniyle geniş spektrumlu enzimlerdir. Bunlar penisilinler ve birinci kuşak sefalosporinleri etkin bir biçimde parçaladıkları halde geniş spektrumlu β -

laktamlara sınırlı etki gösterirler veya etkisizdirler. *Enterobacteriaceae* ailesinde yaygındırlar. Oksiimino β -laktamlar ve monobaktamlar gibi antibiyotiklerin yaygın kullanımı sonucunda TEM-1, TEM-2 ve SHV-1 ana enzimlerinin aktif bölgelerinden 1-7 aminoasit değişikliği ile oluşan GSBL'ler; sefuroksim, sefotaksim, seftriakson, seftizoksim, seftazidim, sefpirom ve sefepim gibi oksiimino sefalosporinleri benzilpenisiline eşit veya %10 daha fazla hidrolize edebilen, aktif bölgelerinde serin bulunan β -laktamaz enzimleridir. Buna karşın, bazı aminoasit değişiklikleri GSBL'lere farklı substrat özgülüğü sağlamaktadır. Örneğin; TEM-3, TEM-4, SHV-4, SHV-5 gibi bazı enzimlerin sefotaksim ve seftazidim için hidroliz hızları eşittir. Buna karşın, seftazidimaz fenotipi gösteren bazı β -laktamazlar seftazidimi diğer sefalosporinlere oranla daha hızlı hidrolize etmektedir. Sonuçta GSBL'ler köken aldıkları TEM-1, TEM-2 ve SHV-1 ana enzimlerinden farklı olarak oksiimino grubu sefalosporin ve monobaktamları hidroliz edebilmektedir. GSBL'ler karbapenemlere ve sefamisinlere (TEM-52, TEM-88 gibi bir iki enzim dışında) aktivite göstermemektedirler. Sefamisinlere etkili olmamaları GSBL'leri AmpC tipi β -laktamazlar dan ayıran önemli karakteristik özellikleridir (Stürenburg , 2003).

Bu enzimler biyokimyasal özelliklerin ön planda tutulduğu Bush-Jacoby-Medeiros sınıflamasında grup 2be, 2e ve 2d'de, Ambler sınıflamasında ise sınıf A ve D gruplarına sokulmaktadır (Akova, 2004; Pitout ve ark.,2003). Bu enzimlerin geniş spektrumlu sefalosporinlere karşı hidroliz hızı (V_{max}) ve bağlanma ilgileri (K_m) yüksek olduğundan direnç oluşturma yetenekleri de yüksektir. GSBL'lerin *Klebsiella*'larda yaygın olmasının nedeni kesin olarak belirlenememiştir. Ancak bu bakterilerde spontan mutasyonların daha sık geliştiği, vücut florasında buldukları için birbirlerine ve diğer bakterilere direnç aktarımını daha kolay 16 yapabildikleri ileri sürülmüştür. Bazen birbirinden tamamen farklı bölgelerde aynı zaman da aynı β -laktamaz ortaya çıkarken, bazen de bir bakteride birden çok β -laktamaz saptanabilmektedir. Farklı GSBL tipleri farklı direnç şekilleri oluşturabilmektedir (Akova, 2004).

Tüm TEM ve SHV derivesi GSBL'ler, genel aktivite paternini yansıtan antibiyogramlarla değerlendirilebilirler fakat rezistans seviyelerinde enzimler değişkendir ve farklı bileşiklere neden olurlar (Jacoby, 2001). Bazıları tüm yeni kuşak sefalosporinlere direnç oluştururken (TEM-3,4, SHV-4,5), bazıları (TEM-10 ve 26) seftazidim için daha yüksek Vmax değerine sahip olup “seftazidimaz fenotipi” göstermektedir. Bunların evrimsel ataları olan TEM-12 halen zayıftır ve genellikle seftazidim MİK'ini *Klebsiella* ve *E.coli* için sadece 4-8µg/ml artırır ve özellikle seftazidime porin defektli bir suşta büyük rezistans olmasına rağmen sefotaksim ve seftriakson MİK'lerini 0.06-0.25µg/ml civarında tutar. Bu ciddi sorunlar oluşturur. Hayvan deneyleri ve klinik veriler GSBL üreticilerinin, bu bileşiklerin MİK'leri 1-2µg/ml'ye ulaştığında bile aminotiazolil sefalosporinlere dirençli olduklarını göstermektedir (Katsanis, 1994).

GSBL enzimlerine karşı kullanılan inhibitör kombinasyonları her zaman etkili olmayabilir. Enzim çok miktarda sentezleniyorsa, birden fazla enzim varsa veya porin kaybına bağlı permeabilite azalmışsa direnç gözlenebilir. Sulbaktamın SHV türevi enzimlere karşı aktivitesinin olmadığı bilinmektedir. Sefamisinlerden sefotetan, sefoksitine tercih edilmelidir. Çünkü sefotetanın anti-Klebsiella aktivitesi daha yüksektir ve sefoksitinin porin eksikliği olan Klebsiella mutantlarını seleksiyona uğrattığı bilinmektedir (Saraçlı, 2001).

1.4.6. GSBL Tipleri

GSBL'ler iki gruba ayrılabilir.

1-TEM ve SHV türevleri

2-TEM ve SHV dışı GSBL'ler

TEM ve SHV türevi enzimler, TEM-1, TEM-2, SHV-1 gibi enzimlerden nokta mutasyonu ile köken almış, geniş spektrumlu beta laktamları hidrolize edebilen enzimlerdir (Bush,1986; Jehl,2004).

Son zamanlarda beta laktamazların sayısının oldukça arttığı ve klinik açıdan önemli yeni enzim tiplerinin tanımlandığı gözlemlenmektedir. Günümüzde SHV türü beta laktamazların sayısı 60'ı, TEM türevi beta laktamazların sayısı 130'u geçmiştir (Akova, 2004).

1.4.6.1.CTX-M Grubu

İlk CTX-M beta laktamaz 1989 yılında Almanya'da *E.coli*'de bildirilmiş, o tarihten bugüne kadar *Salmonella spp.* başta olmak üzere bir çok *Enterobacteriaceae* türünde saptanmış ve 1995 yılından itibaren büyük bir artış göstermiştir. Günümüzde CTX-M ailesinde 40 enzim bulunmaktadır. CTX-M-14, CTX-M-3, CTX-M-2 bu grupta en yaygın olan enzimlerdir. Bu enzimler hem insanlarda hem de sağlıklı hayvanlarda izole edilmişlerdir. Yayılmaları hem plazmid hem de hareketli genetik elementlere bağlıdır. CTX-M enzimleri çoğunlukla hastane infeksiyonlarından izole edilen mikroorganizmalarda bulunmaktadır, ancak SHV ve TEM enzimlerinden farklı olarak *Vibrio cholerae*, tifo dışı *Salmonella* ve *Shigella spp.* gibi toplumdaki infeksiyon etkenlerinde de bildirilmektedir (Akova, 2004).

Son yıllarda GSBL'lerin arasına yeni bir grup katılmıştır. CTX-M olarak tanımlanan bu grup beta laktamazlar substrat olarak sefotaksimi tercih etmektedir. Seftazidimi bir miktar hidroliz etmekle birlikte klinikte dirence yol açacak kadar önemli değildir. Bu enzimlerin önemli bir özelliği de bunlara karşı tazobaktamın

inhibitör etkisinin klavulonik asit ve sulbaktama göre fazla olmasıdır (Sturenburg, 2003).

1.4.6.2.SHV Grubu

SHV grubu enzimlerin öncüsü olan SHV- 1 enzimi en sık *K.pneumoniae*'da bulunmaktadır ve bu türde plazmid kökenli ampisilin direncinin %20'sine sebep olmaktadır. SHV türü enzimlerin geniş spektrumlu ilk türevi 1983 yılında bulunmuş ve SHV- 2 olarak tanımlanmıştır. SHV grubu enzimler *K.pneumoniae*'dan başka *Citrobacter diversus*, *E.coli* ve *P.aeruginosa*'da bildirilmiştir (Sturenburg, 2003).

1.4.6.3.TEM Grubu

TEM grubu beta laktamazlar, *E.coli* ve *K.pneumoniae* başta olmak üzere *Enterobacter aerogenes*, *M.morganii*, *Proteus mirabilis*, *Proteus rettgeri* ve *Salmonella spp.* gibi *Enterobacteriaceae* üyelerinde sık bulunmaktadır ve daha nadir olarak *P.aeruginosa*'da bildirilmiştir (Philippon ve ark., 2002).

TEM-1 Gram negatif bakterilerde en sık bulunan enzimdir ve ampisiline dirençli *Escherichia coli*'lerin %90'ında dirençten bu enzim sorumludur. TEM-1 ve onun kimyasal benzeri TEM-2 enzimleri dar spektrumlu enzimlerdir; penisilin ve birinci kuşak sefalosporinleri hidrolize edebilir ancak oksimino-sefalosporinlere karşı aktiviteleri yoktur. GSBL fenotipi gösteren ilk TEM türevi TEM-3'tür ve 1987 yılında bildirilmiştir. O günden başlayarak TEM grubu beta laktamazların sayısı ve

çeşidinde büyük bir artış gözlenmiştir. TEM enziminde oluşan aminoasit değişiklikleri sonucunda GSBL'lerin fenotiplerinde önemli değişiklikler olmakta, örneğin belirli oksiiimino-sefalosporinleri hidroliz etme özellikleri veya izoelektrik noktaları değişebilmektedir (Philippon ve ark., 2002).

1.4.6.4.OXA Grubu

OXA grubu enzimler Ambler grup D'de yer alan ve daha çok *P.aeruginosa*'da bulunan GSBL'lerdir. Bu enzimlerin OXA-1'den OXA-10'a kadar olanları dar spektrumlu enzimlerdir. TEM ve SHV türevlerinde olduğu gibi aminoasit dizilerindeki nokta mutasyonları sonucu oksiiimino-sefalosporinleri hidroliz edebilen geniş spektrumlu enzimler haline gelmişlerdir (Rahal, 2000).

Geniş spektrumlu OXA enzimlerinden ilki OXA- 11 enzimidir ve Türkiye'de izole edilen bir *P.aeruginosa* suşunda bulunmuştur. Daha sonra yine dünyada ilk kez OXA- 14, OXA-15, OXA-16, OXA-17 beta laktamazları Türkiye'de izole edilen *P.aeruginosa* suşlarında tanımlanmıştır (Bradford, 1997). Bu enzim genlerinin çoğunluğu plazmid, transpozon veya integron kontrolindedir. OXA enzimleri içinde OXA-20, OXA-23, OXA-24 gibi yeni tanımlanan enzimler karbapenemaz aktivitesi göstermektedir, bunlar GSBL değildir (Thomson,1992).

1.4.6.5.İnhibitörlere Dirençli Beta Laktamazlar

İnhibitörlere dirençli olan beta laktamazların üçüncü kuşak sefalosporinleri hidrolize edememelerine rağmen TEM ve SHV türü enzimlerden köken aldıkları için GSBL'lerle birlikte ele alınmaktadırlar. Beta laktamaz inhibitörlerinin klinikte kullanılmaya başlandıktan sonra 1997 yılından itibaren bazı amoksisilin-klavulonik aside dirençli *E.coli*'ler bildirilmeye başlanmıştır.

Günümüzde inhibitörlere dirençli enzimlerin (IRT) sayısı 22 civarındadır. IRT'ler en sık olarak *E.coli* de bulunmakla birlikte *K.pneumoniae*, *K.oxytoca*, *Proteus mirabilis* ve *Citrobacter freundii*'de de bildirilmektedir (Thomson, 2000; Gür, 2004).

1.4.6.6.Diğer GSBL'ler

Son yıllarda TEM, SHV, OXA veya CTXM gibi beta laktamazlardan köken almamış genişlemiş spektrumlu bazı enzimler bildirilmeye başlanmıştır. Bu enzimlerden biri de PER-1 enzimidir. Bu enzim *Pseudomonas aeruginosa* suşunda bulunmuş kromozomal bir enzim olarak bildirilmiş ve ilk kez Fransa'da bir Türk hastadan izole edilmiştir.

Kısa bir süre sonra Türkiye'de 14 *P.aeruginosa* suşunda bulunan GSBL'nin PER-1 olduğu belirlenmiş ve ilk kez plazmid kontrolünde olduğu gösterilmiştir. Daha sonra İstanbul'da *Salmonella spp*'lerde de gösterilmiştir. izolatların seftazidime çok dirençli olmasına karşın piperasilin için daha düşük bir direnç göstermesi PER-1 enzimi içeren *P.aeruginosa*'nın en belirgin özelliğidir. Bu enzimler klavulonik asit

ve tazobaktama duyarlıdır. VEB-1 enzimi ilk kez Vietnam'da bir *E.coli* suşundan daha sonra Tayland'da bir *P.aeruginosa* suşundan elde edilmiştir (Bradford, 2001; Gür, 2004). PER-1, PER-2, VEB-1, CME-1, TLA-1 enzimleri %50 homoloji göstermektedir ve oksimino-sefalosporinlere özellikle seftazidime ve aztreonama etkilidirler. CME-1 enzimi bir *Chryseobacterium meningosepticum* suşundan, TLA-1 bir *E.coli* suşundan elde edilmiştir. (Chanawong ve ark., 2004)

1.4.7. GSBL'lerin Klinik Önemi

GSBL pozitif bakteriler başlıca sepsis, üriner sistem infeksiyonu ve solunum yolu infeksiyonlarına neden olur. GSBL'nin laboratuvarlarca gerektiği ölçüde rapor edilememesi nedeniyle klinisyenler GSBL'nin öneminin farkında değildir. GSBL'nin aynı veya farklı cins bakterilere taşınabilmesi özellikle yoğun bakım ünitelerinde salgınlara neden olabilir. GSBL pozitif suşlarla gelişen infeksiyonlarda komplikasyon riski ve mortalite oranı yüksektir. GSBL pozitif suşlar üçüncü ve dördüncü kuşak sefalosporinlere in vitro duyarlı olsa bile tedavide başarısızlık görülebilir (Paterson ve ark., 2005). GSBL pozitif *K.pneumoniae*'ye bağlı 32 bakterimik olguda sefalosporin etkinliğini araştırmıştır.

Sefalosporinlere orta düzeyde duyarlı bakterilerle gelişen dört olguda sefalosporin tedavisi başarısız olurken, in vitro olarak sefalosporinlere duyarlı görünen suşlarla infekte olguların 15/28 (%58)'inde tedavi başarısızlığı, 11 olguda tedavi değişikliği ve dört olguda ölüm gözlenmiştir (Leblebicioğlu,2004).

GSBL sentezleyen *K.pneumoniae* ve *E.coli* suşları bir çok antibiyotiğe dirençli olduklarından bunlarla gelişen infeksiyonlarda tedavi seçenekleri kısıtlıdır.

Bu tip infeksiyonlarda antibiyotiklerin etkinliğini araştıran kontrollü, randomize araştırmalar yoktur ve yapılması da güçtür (Gür, 2000; Paterson, 2000).

Yakın zamanda yayınlanan çok merkezli prospektif bir çalışmada, GSBL sentezleyen *K.pneumoniae* ile gelişen bakterimilerde antibiyotik seçiminin çok önemli olduğu ve bakteriminin başlangıcından itibaren ilk beş gün içinde uygulanan karbapenemin in vitro olarak aktif görünen diğer antibiyotiklere kıyasla mortaliteyi önemli oranda azalttığı bulunmuştur (Paterson, 2000). Diğer retrospektif bir araştırmada ise GSBL üreten *K.pneumoniae* ve *E.coli* bakterimilerinde sefalosporin kullanıldığında tedavi başarısının düşük olduğu ve en etkili antibiyotiklerin siprofloksasin ve karbapenemler olduğu gözlenmiştir. Buna karşın amprik tedaviye uygun antibiyotik ile başlanmasa bile duyarlılık test sonuçlarına göre uygun antibiyotiğe geçildiğinde mortalitede bir fark olmadığı gözlenmiştir (Kang, 1994).

1.4.8. GSBL Üreten Bakterilerle Gelişen İnfeksiyonlarda Risk Faktörleri

Çeşitli kontrollü çalışmalar, GSBL üretimine ilişkin birbirinden bağımsız bazı risk faktörlerinin olduğunu göstermiştir. En sık belirlenmiş olan risk faktörleri, uzun süreli hastanede kalma, yoğun bakım ünitesinde yatma veya daha önceden de hastanede kalma ve çok antibiyotik (özellikle uzun süreli geniş spektrumlu sefalosporin) kullanımınıdır. Bir çok çalışmada daha önceden üçüncü kuşak sefalosporin kullanımını bağımsız risk faktörü olarak saptanmıştır. Yakın zamanda yapılan bir çalışmada üçüncü kuşak sefalosporin ve/veya aminoglikozid kullanımının GSBL üreten suşla kolonizasyon ve infeksiyon için yaklaşık 18 kat risk taşıdığı gösterilmiştir. Transplantasyon hastaları, onkoloji hastaları, yanıklı olgular ve yenidoğanlar GSBL için risk altındadır. Sık tanımlanan diğer risk faktörleri

entübasyon ve mekanik ventilasyon, santral venöz, arteriyel veya üriner katater bulunması, acil intraabdominal cerrahi ya da ve kalp yetmezliğidir (Quinn, 1994).

1.4.9. GSBL'lerin Laboratuvar Tanı Yöntemleri

Enterobacteriaceae'lerde GSBL üretme prevalansında artış, klinik izolatlarda bu enzimlerin varlığını kesin olarak tayin edecek laboratuvar yöntemlerine büyük ihtiyaç duyulmasına yol açmıştır. Bununla birlikte hem MİK saptanması, hem de disk difüzyon yöntemlerinin *K.pneumoniae* ve *E.coli*'nin tüm suşlarındaki GSBL'yi saptamada başarısız oldukları ortaya konmuştur (Dolapçı, 2005). GSBL ürettiği halde MİK yükselmekle birlikte CLSI standartlarına göre "dirençli" sınıra ulaşmayabilir ve GSBL araştırılmamış ise bu izolatlar geniş spektrumlu β -laktamlara duyarlı olarak bildirilir ve sonuçta özellikle bakteremi olgularında fatal sonuçlanır (Stürenburg, 2003). Bunun nedenlerinden biri inokulum etkisine bağlı olabilir. GSBL üreten bazı bakteriler rutin duyarlılık testlerinde kullanılan 10⁵ cfu/ml bakteri yoğunluğunda duyarlı görünmelerine karşın, inokulum 10⁷ veya 10⁸ cfu/ml'ye çıktığında, ki bir çok infeksiyonda bakteri yoğunluğu bu düzeye çıkabilmektedir, dirençli görünebilir (Stürenburg, 2003).

GSBL'lerin rutin laboratuvarlarda tanımlanmalarının gerekliliği tartışmalı olsa da yukarıdaki nedenlere bakıldığında klinik mikrobiyoloji laboratuvarlarında rutin olarak GSBL saptama yöntemleri uygulanmalı ve sonuçlar buna göre yorumlanmalıdır. GSBL saptama yöntemleri, tarama ve doğrulama testleri olarak iki kısımda incelenebilir. Disk difüzyon ve dilüsyon tarama testlerinde CLSI'nın önerdiği gibi farklı geniş spektrumlu β - laktamlar kullanılarak testin duyarlılığı belirgin ölçüde arttırılır. Tablo 1. 2' de CLSI tarafından tarama testi olarak önerilen inhibisyon zonu ve MİK sınırları gösterilmiştir.

Fenotipik doğrulama testleri klavulanik asit ve indikatör sefalosporin ve/veya monobaktam arasındaki sinerjinin gösterilmesi temeline dayanmaktadır. Bu testler GSBL'leri β -laktamaz inhibitörlerinden etkilenmeyen AmpC tipi enzimlerden ayırmaktadır. Doğrulama amacıyla sık olarak kullanılan yöntemler arasında; klavulanik asit içeren kombinasyon diskleri, çift disk sinerji testi, MİK'in saptandığı dilüsyon yöntemleri, E-testin GSBLstripleri ile MİK saptanması sayılabilir.

Tablo 1. 3,CLSI 2010 Önerilerine Göre Enrerobacteriaceae Türleri İçin Rapor Edilen Bazı Antibiyotiklerin Zon Çapları ve MIC Değerleri

Antibiyotikler	Zon Çapları			MIC Değerleri		
	S	I	R	S	I	R
Piperacillin	≥ 21	18-20	≤ 17	≤ 16	32-64	≥ 128
Ticarcillin-clavuanic acid	≥ 20	15-19	≤ 14	$\leq 16/2$	32/2- 64/2	$\geq 128/2$
Piperacillin-tazobactam	≥ 21	18-20	≤ 17	$\leq 16/4$	32/4- 64/4	$\geq 128/4$
Ceftazidim	≥ 21	18-20-	≤ 17	≤ 8	16	≥ 32
Cefriaxone	≥ 26 ≥ 23	23-25 20-22	≤ 22 ≤ 19	≤ 1 ≤ 1	2 2	≥ 4 ≥ 4
Cefepim	≥ 18	15-17	≤ 14	≤ 8	16	≥ 32
Aztreonam	21	18-20	≤ 17	≤ 4	8	≥ 16
İmipenem	≥ 16	14-15	≤ 13	≤ 4	8	≥ 16
Meropenem	≥ 16	14-15	≤ 13	≤ 4	8	≥ 16
Gentamicin	≥ 15	-	≤ 12	≤ 4	8	≥ 16
Amoxicillin-clavulanic acid	≥ 18	14-17	≤ 13	$\leq 8/4$	16/8	$\geq 32/16$
Ampicillin-sulbactam	≥ 15	12-14	≤ 11	$\leq 8/4$	16/8	$\geq 32/16$
Piperacillin-tazobactam	≥ 21	18-20	≤ 17	$\leq 16/4$	32/4 64/64	$\geq 128/4$
Ticarcillin-clavulanate	≥ 20	15-19	≤ 14	$\leq 16/2$	32/2 64/2	$\geq 128/2$
Tobramycin	≥ 15	-	≤ 12	≤ 4	8	≥ 16
Amikacin	≥ 17	-	≤ 14	≤ 16	32	≥ 64
Ciprofloxacin	≥ 21	16-20	≤ 15	≤ 1	2	≥ 4
Levofloxacin	≥ 17	14-16	≤ 13	≤ 2	4	≥ 8
Trimethoprim-sulfamethoxazole	≥ 16	11-15	≤ 10	$\leq 2/38$	-	$\geq 4/76$

CLSI'e göre, indikatör β -laktam 1 μ g/ml, konsantrasyonda olacak şekilde hazırlanan mikrodilüsyon plakları tarama amacıyla kullanılır.

1. Kombinasyon Disklerinin Kullanımı : Bu amaçla sefotaksim (30 μ g) ve seftazidim (30 μ g) disklerine 10 μ g klavulanik asit eklenir. Standart yoğunlukta bakteri yayılan Mueller-Hinton agar (MHA) plaklarına klavulanik asit içeren ve içermeyen sefotaksim ve seftazidim diskleri yerleştirilir. İnhibisyon zonları ölçüldüğünde klavulanik asit içeren, içermeyenlere göre ≥ 5 mm daha genişse izolat GSBL pozitifdir (Gülay, 2001; Akova, 2004).

2. Çift Disk Sinerji Testi : Plağın ortasına amoksisilin-klavulanik asit diski (AMC; 20/10 μ g) ile etrafına disk merkezleri arasındaki uzaklık 25 mm olacak şekilde CAZ, CRO, CTX, ATM veya POD diskleri yerleştirilir. İnkübasyondan sonra sefalosporin veya ATM etrafındaki inhibisyon zonunun AMC diskine doğru genişlemesi veya arada bakterinin üremediği bir sinerji alanının bulunması GSBL varlığını gösterir.

Kolay, rutin ve ucuz olması avantajlarıdır. Dezavantajı ise, izolatın ürettiği enzim miktarına veya tipine göre diskler arası uzaklığın standardizasyonunun olmamasıdır ve yorumu subjektiftir. SHV-2 taşıyan izolatlarda yanlış negatif sonuç vermektedir. *S.maltophilia*'da da yanlış pozitiflik görülmektedir.

3. Sulandırım Yöntemleri: β -laktamaz inhibitörleri varlığında sefalosporin direnç düzeylerindeki azalmanın gösterilmesi için standart mikrodilüsyon yöntemi de kullanılabilir. Klavulanik asit varlığında MİK değerlerinde 8 kat azalma GSBL pozitifliğini gösterir.

4. E-Test GSBL Stripleri: Yine klavulanik asit varlığında MİK değerlerinde azalmayı gösterir. Striplerin bir ucunda seftazidim veya sefotaksim, diğer ucunda klavulanik asitle kombinasyon şekli hazırlanır. Kombine kısmında MİK değerlerinde 8 kat azalma GSBL pozitifliğini gösterir. Bazen MİK değerlerinin okunmasına engel olabilen“fantom zon” GSBL göstergesi olarak kabul edilir. Enzimatik aktivitesi düşük olan GSBL’leri saptamada güçlük bulunması ve maliyetinin yüksek olması rutin kullanımını kısıtlamaktadır (Gülay, 2004).

5. Diğer Fenotipik Yöntemler: Klavulanik asit, konsantrasyonu 4µg/ml olacak şekilde MHA içine katılabilir. Klavulanik asit içeren ve içermeyen MHA’ların zon çapları ölçülerek klavulanik asit varlığındaki genişleme değerlendirilir. Bir diğer yöntem de Thomson ve Sanders’in bildirdiği üç boyutlu testtir. Ancak teknik olarak güçtür. Bunların dışında otomatize sistemlerin GSBL saptama programlarında bulunmaktadır. Örnek olarak Vitek-2 (bioMerieux), Walk Away (Dade Behring) ve Phoenix (Becton Dickinson) verilebilir. Yapılan bir çalışmada Phoenix GSBL üreten tüm suşları saptarken, Vitek-2, %81 oranında saptamıştır. Ancak otomatize sistemlerle GSBL saptanmasında sorun olabileceği unutulmamalıdır. Bu fenotipik yöntemlerin hiçbirinin duyarlılık ve özgüllüğü %100 değildir. Moleküler yöntemler rutin için uygun değildir. Enzimin kesin olarak tanımlanması sadece dizi analizi ile mümkün olmaktadır.(Gülay, 2004).

2. MATERYAL VE METOD

2.1.Örnek Toplama

Afyon Kocatepe Üniversitesi Araştırma ve Uygulama Hastanesi Mikrobiyoloji Laboratuvarına Şubat 2010-Aralık 2010 tarihleri arasında gelen kan, idrar, balgam, trakeal aspirat, kateter, sonda ucu ve yara yeri gibi klinik örnekler alınarak inceleme yapılmıştır.

2.2. Örneklerin Seçilmesi

İdrardan, kandan, yara yerinden, kateterden, trakeal aspirattan ve balgamdan örnekler alınmış uygun besiyerlerine ekilmiştir. İdrar EMB (Oxoid CM0069) ve kanlı agara(Oxoid CM 0055) diğer örnekler ise kanlı agar. EMB agar, çikolata agar ve SDA(Oxoid CM 0041) agara ekildikten sonra 37°C'lık etüve 24 saat boyunca inkübasyona bırakılmıştır. Kolonilerin koloni morfolojileri ve koloni sayıları incelenmiştir. Laktoz pozitif mukoid koloniler şüpheli kabul edilmiştir.

Laboratuara gelen özellikle idrar kültürlerinde koloni sayısı 5000'den fazla olan örnekler değerlendirmeye alınmış ve bu örneklerin gram boyamaları yapılarak gram (-) basil oldukları görülmüştür.

2.3. İdentifikasyon

Şüpheli koloniler IMVIC testine alınmışlardır. TSI (Oxoid CM0277, UK) agara, ürelî agara (Christensen agar base, Oxoid CM0053) ekilerek adlandırılma yapılmıştır. TSI (Oxoid CM0277, UK) agara iğne öze yardımıyla alınan saf koloni, besiyerinin dik kısmına batırılarak ekilmiş, yatık kısmının yüzeyine de zikzaklar çizilerek ekim yapılmıştır. Sonuçlar 37°C’ da bir gün inkübasyonda bekletildikten sonra değerlendirilmiştir. TSI besiyeri bakterilerin glikoz, laktoz ve sukroz üzerindeki etkilerini ve H₂S oluşturup oluşturmadıklarını belirlemeye yöneliktir. Glikozu fermente edip, laktozu ve sükrozu parçalayamayan bakteriler dipte sarı, yatık alanda kırmızı renk oluştururlar.

Dipte ve yatık alanda sarı renk oluşmuşsa, bakterinin laktozu veya sükrozu ya da her ikisini de fermente edebildiği anlaşılır. Fermantasyon esnasında gaz oluşturması besiyerinin içinde gaz kabarcıkları ya da besiyerinin parçalanmasının görülmesi ile anlaşılır (Koneman,1997; Günalp ve ark., 2003). IMVIC test grubu; Indol, Metil Kırmızısı, Voges Proskauer ve Sitrat testlerinden oluşur, iğne öze yardımıyla alınan şüpheli bakteri kolonisi İndol testi için triptofanlı besiyerine (Oxoid CM87) ekilmiştir. Daha sonra Metil Kırmızısı ve Voges Proskauer testleri için de glikoz fosfatlı besiyerlerine ve Sitrat (Oxoid BO0379) besiyerine ekilmiştir. İndol testinde, bir gece 37°C’daki inkübasyon sonunda bakteri triptofonaz enzim aktivitesine sahipse Kovaks ayırıcı damlatıldığında (2ml’ye 5 damla) indol halkası oluşturur. Halka kırmızı renkteyse indol testi pozitif, sarı renkteyse negatif olarak değerlendirilmiştir. *Klebsiella* türleri için indol testi negatiftir (Gunalp ve ark., 2003). Metil kırmızısı testinde bakteriler glukoz fosfatlı besiyerinde 48 saatlik inkubasyon sonunda glukozu kullanarak, karışık asit fermantasyon son ürünleri nedeniyle pH 4.5’un altında asit oluşturduysa besiyerine metil kırmızısı damlatıldığında (2,5ml’ye 5 damla) besiyerinin rengi kırmızıya döner. Besiyeri kırmızı ise pozitif, sarı kalmışsa negatif olarak değerlendirilmiştir. metil kırmızısı testi *Klebsiella* türleri için negatiftir (Günalp ve ark., 2003). Voges-Proskauer testinde glikoz fosfatlı

besiyerinde 48 saatlik inkubasyon sonunda glukoz fosfattan asetil metil karbinol oluşturmussa alfa-naftol (2,5ml'ye 6 damla) ve potasyum hidroksit (2damla) damlatıldığında besiyeri yaklaşık 20 dakika sonra kırmızıya dönüşür. Kırmızı pozitif, sarı renkte kalmışsa negatif değerlendirilmiştir. Voges Proskauer testi *Klebsiella* türleri için pozitifdir (Güenalp ve ark., 2003). Sitrat testinde bakterinin karbon kaynağı olarak sitratı kullanıp kullanmadığına bakılmaktadır. Besiyeri içinde bromtimal mavisi bulunmaktadır. Besiyerinin yeşilden maviye dönmesi bakterinin sitratı kullanması anlamına gelir ve test pozitifdir.

İzole edilen bakteriler üreli (Christensen agar base, Oxoid CM0053) agara ekilmişlerdir. İğne öze yardımıyla alınan saf koloni besiyerine dik bir şekilde tek bir hatta batırılıp çekilmiş 37°C'de bir günlük inkubasyon sonucunda besiyeri değerlendirilmiştir. Değerlendirme yapılmadan önce besiyeri üzerine 2-3 damla kadar kovaks ayırıcı damlatılmıştır. Bu besiyeri bakterilerin hareket özelliklerini, ornitini kullanmalarını test etmektedir. Ayrıca damlatılan kovaks ayırıcı ile indol testi yapmaktadır (Ewing, 1986).

2.4. Antibiyotik Duyarlılık Testi

Klebsiella suşlarının antibiyotik duyarlılıkları Kirby Bauer Disk Diffüzyon Tekniği ile CLSI kriterleri esas alınarak incelenmiştir. CLSI'a göre *Enterobacteriaceae* ailesi için önerilen Grup A ve Grup B antibiyotikler (tablo 5) dikkate alınmıştır. Antibiyogramlar için besiyerleri; 22 g toz Mueller Hinton Agar (MHA, Oxoid CM0337) 1000 ml' ye distile su ile tamamlanıp 121 °C ' de 15 dakika otoklavlanarak 12 mm' lik plaklara 20'şer ml dağıtılmıştır. Bakterilerin 0,5 McFarland eseline uygun süspansiyonları hazırlanmış ve plaklara ekimleri yapılmıştır. Ekilen plaklara trimetoprim/sulfametoksazol (SXT, 1,25/23,75 µg), sulbaktam/ampisillin (SAM,

10/10 µg), amoksisilin/klavulanikasit (AMC, 10/20 µg), siprofloksasin (CIP, 5 µg), aztreonam (ATM, 30 µg), seftriakson (CRO, 30 µg), seftazidim (CAZ, 30 µg), sefepim (FEP, 30 µg) gentamisin (CN, 10 µg), amikasin (AK, 30 µg), piperasillin/tazobaktam (TZP, 10/1:110 µg), imipenem (IMP, 10 µg) (Oxoid UK) antibiyotik diskleri yerleştirilmiştir. 37°C’ da 18 saat inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyon sonunda zon çapları ölçülerek aşağıdaki CLSI kriterlerine göre duyarlı (S), orta duyarlı (I), dirençli (R) olarak değerlendirilmiştir .CLSI önerilerine göre *Enterobacteriaceae* ailesi için kullanılan Grup A ve Grup B antibiyotikler aşağıda gösterilmiştir.(Tablo2.1)

Tablo 2.1, CLSI Önerilerine Göre Enterobacteriaceae Türleri için Rapor Edilen Antimikrobiyal Ajanlar

Grup A Antibiyotikler	Grup B Antibiyotikler
	Cefepime, Cefotetan
	Cefoxitin, Cefotaxime
	Ceftriaxone, Ciprofloxacin
	Levofloxacin, Cefuroxime
Ampicillin	İmipenem, Meropenem, Ertapenem
Cefazolin	Piperacillin, Amikacin
Gentamicin	Trimethoprim-sulfamethoxazole
Tobramiyicin	Amoxicillin-clavulanic acid
	Ticarcillin-clavuanic acid
	Ampicilin-sulbactam
	Piperacillin-tazobactam

2.5. Çift Disk Sinerji Testi

0,5 McFarland’ a uygun süspansiyonlar hazırlanmış ve bakteriler mueller hinton agar (Oxoid CM0337)’ a ekilmiştir. Plağın ortasına amoksisilin/klavulanikasit (1/2, 30 µg), etrafına bir disk merkezinden diğer disk merkezine uzaklığı 30 mm olacak şekilde, aztreonam (30 µg), seftazidim (30 µg), seftriakson (30 µg), sefotaksim (30

μg) diskleri yerleştirilmiştir. Zon çaplarının küçük olduğu dirençli suşlarda CLSI kriterlerine uygun olarak diskler arası uzaklık 25 mm, 20 mm, 15 mm olacak şekilde yaklaştırılarak test tekrarlanmıştır. Daha sonra plaklar 37°C 'de 18 saat inkubasyona bırakılmıştır. Inkubasyon sonunda zon çapları ölçülerek amoksisilin/klavulanikasit (1/2, 30 μg) ve diğer antibiyotik diskleri arasında bakterinin üremediği bir sinerji alanı oluşturan plaklar GSBL pozitif kabul edilmiştir. Christopher ve ark., 2003).

2.6. Petri Kutularının Hazırlanması

Çalışmada, 9 cm çapındaki steril petri kutuları kullanılmıştır. Mueller Hinton Agar besiyeri otoklavda sterilizasyonu yapılarak petri kutularına ortalama 25-30 ml civarında ve besiyeri kalınlığı 4 mm' yi gecmeyecek şekilde dokulmuştur. Katılaşmış 1 gece oda ısısında bekletilen plaklar, sterilizasyon kontrolü yapılarak ureme olmayanlar kullanılmaya kadar $+4^{\circ}\text{C}$ ' da buzdolabında bekletilmiştir. Hazırlanan plaklar 2 haftalık süre içinde kullanılmıştır.

2.7. Disklerin Yerleştirilmesi

Ekim için hazırlanmış sıvı besiyerindeki bakteri suş kütülerinden 0.2 ml alınarak Mueller Hinton agarlı besiyeri plaklarına konarak drigalski özesi yardımıyla yayılmıştır. Sıvı kültürün katı besiyeri yüzeyine homojen olarak yayılması için petri kutusu döndürülerek yayılma sağlanmıştır. Yüzeyin kuruması için 10-15 dakika oda ısısında bekledikten sonra antibiyotik diskleri her bir plağa 6 adet olmak üzere yerleştirilmiştir (Gürler, 1989).

2.8. Petri Kutularının İnkübe Edilmesi, İnhibisyon Zonlarının Ölçülmesi ve Değerlendirilmesi

Petri kutuları 37°C’ da 1 gece inkübe edilmiştir. Petri kutuları inkubasyondan sonra aydınlık bir ortamda incelenmiştir. İnhibisyon zon çapı, zonun bir kenarından çemberin çapı doğrultusunda diğer kenarına kadar olan mesafe bir cetvel ile mm olarak ölçülmüştür. Zon çapları değerlendirilmesinde CLSI kriterleri esas alınmıştır (Karatay, 1994; Akyıldız, 1998).

2.9. GSBL Deneyi

GSBL enzimlerinin klavulanik aside duyarlı olmaları sebebiyle bu enzimi taşıyan suşların tespiti için Coudron ve ark. tarafından önerilen çift disk sinerji testi yöntemi uygulanmıştır. Bu yöntemde göre, CLSI’ nin disk difuzyon yönteminde önerdiği inokulum miktarı 0.2 ml kullanılmıştır (Coudron, 1997). *K.pneumoniae* suslarının katı besiyerindeki kültüründen 5 ml Nutrient Broth bulunan cam deney tüplerine ekim yapılarak, 37°C’ da 4 saat inkübe edilmiştir. Petri kutularına 4 mm kalınlığında dökülmüş Mueller-Hinton agar kullanılmıştır. Agar yüzeyine Mac Farland 0.5 tupu yoğunluğundaki bakteri süspansiyonu inokule edilmiştir. Suşların yayıldığı Mueller Hinton agarın ortasına yerleştirilen 30 µg’lık amoxicilin clavulonic acid diskinden 20’ser mm’ lik uzağa 30 µg’ lık ceftazidim, cefotaxim, ceftriaxon diskleri esit acılarla dizilmiştir. Plaklar 18-20 saat süreyle 35 °C’ da inkubasyona bırakılmıştır. İnkübe edilen besiyerleri incelendiğinde ceftazidim, cefotaxim, ceftriaxon’a ait inhibisyon zonlarının klavulanik asit diski karşısında bozularak genişlemesi ya da iki inhibisyon zonu arasındaki bakteri üreyen alanda üreme olmayan bir bölgenin görülmesi veya başka bir deyişle, klavulanik asit’in diğer antibiyotikler ile sinerjik etki göstermesi o suşun GSBL ürettiğine işaret etmektedir (Akyıldız, 1998). CLSI, *E.coli*, *K.pneumoniae*, *K.oxytoca* izolatlarında GSBL üretiminin taranması ve

doğrulanması için standartlar geliştirmiştir. CLSI önerilerine göre; disk difüzyon veya dilüsyon yöntemleriyle sefotaksim, seftriakson, seftazidim, aztreonam veya sefpodoksime karşı duyarlılığın azaldığının saptanması halinde doğrulama testleri uygulanmalıdır. inhibisyon zonlarının daraldığı veya MİK değerlerinin yükseldiği durumlarda doğrulama testleri yapılmaktadır.

3. BULGULAR

Çalışmamızda 1 Şubat- 30 Kasım 2010 tarihleri arasında mikrobiyoloji laboratuvarına gelen klinik örnekler incelenmeye alınmıştır. Laboratuvarımıza çeşitli kliniklerden gelen örneklerden toplam 100 *Klebsiella* suşu izole edilmiştir. Bu suşların 98 tanesi (%98) *K. Pneumoniae*, 2 tanesi (%2) tanesi *K.oxytoca* olarak tanımlanmıştır ve klinikere göre dağılımı incelendiğinde Anestezi Yoğun Bakım Ünitesi 44 (%44), Pediatri 16 (%16), Dahiliye 14 (%14), Göğüs 7 (%7), Genel cerrahi 6 (%6), Beyin cerrahi 7 (%7), Acil 4 (%4), Nefrooji 2 (%2) tane şeklindedir.

İncelenen 100 *Klebsiella* suşundan 55 (%55) tanesinde GSBL pozitifliği saptanmıştır. GSBL pozitif suşların 53 tanesi (% 96.3) *K. Pneumoniae*, 2 tanesi (% 3.6) *K.oxytoca* olarak tanımlanmıştır. GSBL pozitifliğinin kliniklere göre dağılımı incelendiğinde ise Göğüs Hastalıkları kliniğinden gelen örneklerden tespit edilen 7 *Klebsiella* izolatının 2'si GSBL pozitifliği saptanan *Klebsiella oxytoca* suşu olmak üzere, toplam 5 tane (%71.4) GSBL pozitif suş saptanmıştır. Acil'den gelen 4 örneğin 2'sinde (%50), Beyin Cerrahisinden gelen 7 örneğin 5'inde (%71.4) ,Dahiliyeden gelen 14 örneğin 9'unda (%64.2), Genel Cerrahiden gelen 6 örnekten 2'sinde (%33.3), Pediatriyen gelen 16 örnekten 8' inde (%50), Anestezi Yoğun Bakımdan gelen 44 örnekten 24'ünde (%54.5) GSBL varlığı gözlenmiştir.

Tablo 3.1. Kliniklere Göre GSBL Pozitifliği Dağılımı

	GSBL Pozitif	GSBL Negatif	Toplam
Anestezi Y.B.	24	20	44
Göğüs H.	5	2	7
Acil	2	2	4
Beyin C.	5	2	7
Dahiliye	9	5	14
Genel C.	2	4	6
Pediyatri	8	8	16

İncelemeye aldığımız 27 tane trakeal aspirat örneğinin 17 tanesi GSBL pozitif, 4 tane balgam örneğinin 1 tanesi GSBL pozitif, 36 tane kan örneğinin 22 tanesi GSBL pozitif, 12 tane yara örneğinin 7 tanesi GSBL pozitif, 6 tane katater ucu örneğinin 2 tanesi GSBL pozitif ve 15 tane idrar örneğinin 6 tanesi GSBL pozitif olarak saptanmıştır.. Çalışmamızda çeşitli kliniklerden gelen toplam 100 örnek incelenmiş ve 55 tanesi (% 55) GSBL pozitif olarak değerlendirilmiştir.

Tablo 3.2. Klinik Örneklerle Göre GSBL Pozitifliğinin Dağılımı

	GSBL Pozitif	GSBL Negatif	Toplam
Trakeal Aspirat	17	10	27
Balgam	1	3	4
Kan	22	14	36
Yara	7	5	12
Katater ucu	2	4	6
İdrar	6	9	15

Çalışmamızda Klebsiella suşlarının aminoglikozid direnç oranlarını ve GSBL pozitifliğine göre dağılımını incelediğimizde; incelediğimiz toplam 99 suştan 31 (%)

31) tanesinde ve bunlar içinde 55 GSBL pozitif suşun ise 25 tanesinde gentamisin direnci saptanmıştır. Çalışılan 99 suştan 55 tanesinde GSBL pozitifliği ve GSBL pozitif suşlardan 2 tanesinde (%2) amikasin direnci, çalışılan 43 suştan 29 tanesinde GSBL pozitifliği ve GSBL pozitif suşlardan 17 tanesinde (%39.5) tobramisin direnci saptanmıştır.

Tablo 3.3, Aminoglikozid Direncinin GSBL Pozitif ve Negatif Örneklerle Göre Dağılımı

	Amikasin direnci	Gentamisin direnci	Tobramisin direnci
GSBL(+)	2	25	17
GSBL(-)	-	6	-
Toplam	2	31	17

Karbapenem direnci açısından değerlendirecek olursak 52 Klebsiella suşunun toplam 16 tanesinde (% 30,7), GSBL pozitifliği saptadığımız 26 suşun ise 12 tanesinde (% 46.1) ertapenem direnci, 99 Klebsiella suşunun toplam 23 tanesinde (% 23.3), GSBL pozitif 55 suşun ise 19 tanesinde (% 34.5) imipenem direnci, 98 Klebsiella suşundan 23 tanesinde (% 23.4), GSBL pozitif 55 suşun 19 tanesinde (% 34.5) meropenem direnci gözlenmiştir..

Tablo 3. 4, Karbapenem Direncinin GSBL Pozitif ve Negatif Hastalara Göre Dağılımı

	GSBL(+)	GSBL(-)	Toplam
Ertapenem	12	4	16
Meropenem	19	4	23
İmipenem	19	4	23

Çalışmaya aldığımız 99 *Klebsiella* suşundan 56 (% 56) tanesinde GSBL Pozitifliği saptadığımız 55 suşun 47 tanesinde (% 85.4) piperasilintazobaktam direnci, 28 *Klebsiella* suşundan 16 tanesinde (%57.1), GSBL pozitifliği saptadığımız 15 suşun tamamında ampicillinsulbaktam direnci saptanmıştır.

100 *Klebsiella* suşundan 2 tanesi GSBL pozitifliği saptanan *K.oxytoca* suşudur ve bu iki suş meropenem, imipenem, ertapenem, gentamisin, amikasin ve tobramisinede duyarlı bulunmuştur.

Örneklerimizi kinolon direnci açısından değerlendirecek olursak 97 *Klebsiella* suşundan 17 tanesinde (% 17) 54 GSBL pozitif suşun ise 15 tanesinde (% 27.7) levofloksasin direnci, 45 *Klebsiella* suşundan 13 tanesinde (% 28.8) GSBL pozitif 28 suşun 12 tanesinde (%42.8) ciprofloksasin direnci saptanmıştır.

Çalıştığımız *Klebsiella* suşlarının CLSI önerilerine göre Grup A ve Grup B antibiyotikere duyarlılıklarını incelediğimizde en duyarlı antibiyotikler sırasıyla levofloksasin (% 72), imipenem (%70) olarak değerlendirilmiştir (Tablo3.5)

Tablo 3. 5, Klebsiella İzolatlarının Grup A ve Grup B Antibiyotiklerine Duyarlılıkları

	Duyarlı	Orta duyarlı	Dirençli	Total
Ampicillin	5(%9.4)	2	46	53
Cefazolin	21(%39.6)	-	32	53
Gentamicin	66(%66)	2	31	100
Tobramycin	23(%53)	3	17	43
Piperacillintazobaktam	40(%40)	3	56	99
Cefoxitin	33(%62.2)	-	20	53
Ceftriaxone	36(%36.7)	2	60	98
Cefepime	41(%38)	8	51	100
Ertapenem	30(%57.6)	6	16	52
İmipenem	70(%70)	6	23	99
Meropenem	68(%69)	7	23	98
Levofloksasin	72(%74.2)	8	17	97
Trimethoprimsulfa.	68(%68)	-	31	99
Piperacillin	-	2	25	27
Ticarcillin	-	-	27	27
Ciprofloksasin	30(%66)	2	13	45

Tablo 3. 6. CLSI Önerilerine Göre Grup A ve Grup B Antibiyotiklerine Direncin GSBL Pozitifliğine Göre Dağılımı

Antibiyotikler	GSBL Pozitif			GSBL Negatif			Top.
	S	I	R	S	I	R	
Ampicillin	2(%)	-	24(%92)	3(%11)	2(%7)	22(%81)	53
Cefazolin	4(%15)	-	22(%84)	17(%62)	-	10(%37)	53
Tobramycin	9(%31)	3(%10)	17(%58)	14(%100)	-	-	43
Gentamicin	28(%50)	2(%3)	25(%45)	38(%86)	-	6(%13)	99
Piperacillintazobaktam	6(%10)	2(%3)	47(%85)	33(%77)	1(%2)	9(%9)	99
Cefoxitin	10(%3)	-	16(%61)	23(%85)	-	4(%14)	53
Ceftriaxone	3(%5)	2(%3.6)	50(%90)	32(%76)	-	10(%23)	98
Cefepime	5(%9)	8(%14)	42(%76)	36(%80)	-	9(%20)	100
Levofloksasin	31(%5)	8(%14)	15(%27)	41(%95)	-	2(%4)	97
Trimethoprim sulfâ.	31(%5)	-	24(%43)	37(%84)	-	7(%15)	99
Piperacillin	-	-	15(%10)	-	2(%16)	10(%83)	27
Ticarcillin	-	-	15(%100)	-	-	12(%100)	27
Ciprofloksasin	14(%50)	2(%7)	12(%42)	16(%94)	-	1(%5)	45

GSBL üreten 55 ve GSBL üretmeyen 45 *K. pneumoniae* suşu içinde çalışılan 27 suşun tümü ticarcilline dirençli bulunmuştur. Piperacilline ise 27 suştan yalnızca GSBL üretmeyen 2 tanesinde ortaduyarlılık tespit edilmiştir. 25 tanesinde ise direnç

saptanmıştır. GSBL üreten suşların gentamicine karşı direnç oranı % 45 iken üretmeyenlerin % 13 olduğu, bu oranlar ampicillin için % 92'ye karşı % 81 olarak belirlenmiştir.

GSBL üreten suşların sırası ile ticarcillin, piperacillin, ampicillin ceftriaxone, piperacillintazobaktam karşı daha yüksek oranda direnç gösterdikleri, üretmeyen suşların ise sırası ile ticarcillin, piperacillin, ampicillin, cefazolin ceftriaxona karşı daha yüksek oranda direnç gösterdikleri görülmüştür.

4. TARTIŞMA

GSBL'ler ilk olarak Avrupa'dan, daha sonra artan oranda dünyada diğer bölgelerden bildirilmiştir. Pek çok patojen gram-negatif bakteride tespit edilse de GSBL enzimleri en yüksek oranda *K.pneumoniae* izolatlarında görülmektedir (Jacoby,1991). Üçüncü kuşak sefalosporinlerin aşırı kullanımı, GSBL için seçici etki oluşturmakta ve bu enzimleri üreten suşların yatan hastaların solunum ve gastrointestinal sistemlerinde kolonizasyonunu hızlandırmaktadır. Yoğun beta-laktam antibiyotik kullanımı, invaziv girişimler, kateterizasyon, geniş yanıklar ve büyük cerrahi müdahaleler, GSBL pozitif suşlarla gelişen bakteremi veya sepsis olguları için başlıca risk faktörleridir (Lautenbach 2001). Son yıllarda hastane epidemilerinde GSBL üreten *Klebsiella spp.* ve *E.coli*'ler gözlenmeye başlanmıştır. Türkiye'de GSBL sentezleyen izolatlar ilk kez 1992 yılında bildirilmiştir (Gür, 2004)

GSBL varlığına ilişkin veriler yıldan yıla, ülkeden ülkeye, bir ülkenin çeşitli bölgelerinde hatta hastaneden hastaneye farklılık göstermektedir (Löker ve ark., 2001). Ayrıca GSBL tipleri de bölgeden bölgeye değişmektedir. Örneğin Avrupa'da *Klebsiella* suşlarının GSBL'leri genellikle SHV-5 tipi iken ABD'de TEM-10 ve TEM-12 daha yaygın olarak görülmektedir (Aydoğan, 2000).

Abacıoğlu ve ark.(2003), yenidoğan ünitesinde 34 hasta arasında gözlenen salgında etiyolojik ajan olarak GSBL oluşturan *K.pneumoniae* soyutlamışlardır. Gültekin (1999), benzer şekilde Trakya Üniversitesi Hastanesi Yenidoğan Ünitesinde gelişen epidemiden de GSBL üreten *K.pneumoniae* sorumlu tutulmuştur. Ultrasonda kullanılan jelden yayılan SHV-

5 ve TEM-1 kökenli *K.pneumoniae* epidemisi bu bakterinin kolay ve hızlı yayıldığını göstermektedir .

Löker ve ark.(2001), yurt dışında yapılan çalışmalarda GSBL pozitifliğini % 13.2 olarak bulmuşlar, *K.pneumoniae*'de % 42.6, *K.oxytoca*'da % 11.1 olduğunu bildirmişlerdir. Yurdumuzda yapılan bazı çalışmalarda Bülüç ve ark.,(2000), *K.pneumoniae*'de % 48, *K.oxytoca*'da % 40 oranında GSBL bulduklarını bildirmişlerdir. Anđ-Küçükler ve ark.,(2002), *Klebsiella* suşunda biri *K.pneumoniae*, biri *K.oxytoca* olmak üzere iki suşta GSBL saptamışlardır. Alıcı ve ark.,(2002) *K.pneumoniae* suşlarında GSBL pozitifliği çift disk sinerji yöntemiyle %78, E-test ile%85 olarak bulmuşlardır. Kandemir ve ark.(2002). Altoparlak ve ark., (2002), *Klebsiella* suşlarında GSBL pozitifliğini % 14 ve % 33.3 olarak bildirmişlerdir.

Ülkemizde bu konu ile ilgili olarak çeşitli merkezlerde yapılan çalışmalarda farklı oranlar elde edilmiştir. Tünger ve ark.(1998), çalışmalarında hastane infeksiyonu tanısı konan ve yoğun bakım hastalarından izole edilen *Klebsiella* suşlarında GSBL aktivitesini ÇDST yöntemiyle %49.3 olarak bulmuşlardır.

Çetinkaya ve ark. (2005), Hastane kaynaklı 68 suşun 13 (% 19)'ünde GSBL saptamıştır. Bu 13 suşun dokuzu idrar, üçü balgam, biri vajinal materyalden izole edilmiş, sekizi *K.pneumoniae*, ikisi *Klebsiella* spp., üçü *K.oxytoca* olarak belirlemiştir.

Bizim çalışmamızda ise izole edilen 2 *K.oxytoca* ve 98 *K.pneumonia* suşunda % 55 oranında GSBL pozitifliği saptanmıştır. Göğüs Hastalıkları ve Beyin Cerrahi servislerinden laboratuvarımıza gelen 7' şer örneğin 5' er tanesinde GSBL pozitifliği ve % 71.4 oranla bu servisleri GSBL pozitifliği en yüksek olan servisler olarak değerlendirilmiştir. Klinik örnekleri incelendiğinde en yüksek GSBL pozitifliği olan örneği 36 örnekten 22 tanesinde GSBL pozitifliğiyle kan örnekleri olarak değerlendirilmiştir.

Klebsiella'larda yapılan antibiyotik çalışmalarına bakıldığında ilaç etkinliklerinde farklılık görülmektedir. Rennie ve ark. (2003), amikasin ve karbapenemlerin *Klebsiella* spp.'ye etkisinin mükemmel olduğunu, Hoban ve ark.(2003); Cesur ve ark.(2002), karbapenemlerin *Klebsiella* spp. İçin %100'e varan etkinliğe sahip olduğunu bildirmişlerdir. Tünger ve ark.(1999), en etkin antibiyotiği siprofloksasin (% 93) olarak saptamışlardır. Fındık ve ark.(2001) *K.pneumoniae*'ya en etkin antibiyotiği meropenem (%100) olarak saptamışlar ve sefepim, siprofloksasin, gentamisin, amikasin, seftazidimin etkinliklerini % 91, % 79, % 68, % 65, % 26 olarak bildirmişlerdir. Ayrıca Musa-Aisien ve ark.(2003) *Klebsiella* suşlarına gentamisin veseftriakson etkinliğinin yeterli düzeyde olduğunu bildirmiştir.

Aminoglikozidler kimyasal olarak oldukça stabil, geniş antibakteriyel spektruma sahip, yıllardır kullanılmakta olan, hızlı bakterisid ve beta-laktam antibiyotiklerle sinerjistik etkili antibiyotiklerdir. Günde tek doz kullanılabilmeleri, uygulama kolaylığının yanında yan etki insidansını da azaltmaktadır (Mıstık, 2000) Aminoglikozid antibiyotikler Gram-negatif bakterilerin etken olduğu ciddi infeksiyonların tedavisinde sıklıkla tercih edilmektedirler. Ancak, aminoglikozid antibiyotiklerin Gramnegatif bakteri infeksiyonlarına karşı yaygın kullanımının olduğu yerlerde, mikroorganizmaların modifiye edici enzimleri yoluyla meydana getirilen direnç nedeniyle tedavide klinik başarı sızlıklar yaşanmaktadır (Leblebicioğlu, 1998)

Çalışmamızda; aminoglikozid grubu antibiyotiklerden amikacin direnci GSBL üreten suşlarda % 3.6, tobramycin direnci GSBL üreten suşlarda % 58,

ve gentamicin direnci ise GSBL üreten suşlarda % 45, GSBL üretmeyen suşlarda % 13 oranında tespit edilmiştir

Bütün izolatlar değerlendirildiğinde 99 Klebsiella suşundan 2 tanesinde (% 2) AK direnci, 99 Klebsiella suşundan 31 tanesinde (% 31) GN direnci ve 43 Klebsiella suşundan 17 tanesinde (% 39.5) TOB direnci tespit edilmiştir.

Yurt dışında yapılan bazı çalışmalara göre Kim ve ark.(2002), çeşitli klinik materyallerden izole ettikleri, GSBL üreten suşların amikacine direncini % 9.1, GSBL üretmeyen suşlar arasındaki amikacin direncini % (0) olarak gözlemişlerdir.

Finkelstein ve ark. (1998), üriner sistemden izole edilen *Klebsiella* suşlarında gentamicin direncini % 10 olarak tespit etmişlerdir.

Shehabi ve ark. (2000), 3 yıl ara ile üriner sistem ve diğer klinik materyallerden izole ettikleri *Klebsiella* spp. suşlarının 1994 yılında amikacin direncini % 8 bulurken 1997 yılında bu direnci % 16 olarak görmüşlerdir.

Babini ve Livermore (2000), GSBL üreten *K. pneumoniae* suşlarının % 61'ini amikacine, % 72'sini gentamicine dirençli olarak bulmuşlardır. Villages ve ark. (2004), yaptıkları bir çalışmada GSBL üreten *K. Pneumoniae* suşlarının amikacine direncini % 48.1 olarak gözlemişlerdir. Kim ve ark. (2005), GSBL pozitif *Klebsiella* spp. cinsi bakterilerin streptomycin, gentamicin ve amikacin dirençlerini sıra ile % 52, % 48 ve % 30 ESBL negatif olanların dirençlerini ise % 17, % 50 ve % 33 olarak belirlemişlerdir.

Yurdumuzda yapılan çalışmalara göre ise H.Ü. Tıp Fakültesi Hastanesinde yapılan bir çalışmada gram negatif bakterilerin gentamicin direnci % 54 olarak tespit edilirken, amikacin direnci % 0.9 gibi çok küçük oranda gözlenmiştir (Akalin ve ark. 1988). Ay ve ark. (2003), çalışmalarında *Klebsiella* spp. suşlarının amikacin direncini % 20, gentamicin direncini ise % 30 olarak belirlemişlerdir.

. Günseren ve ark. (1999), GSBL üreten suşların amikacin direncini % 58.7 olarak belirlerken GSBL üretmeyen suşların amikacin direncini % 34.6 olarak belirlemişlerdir. Leblebicioğlu ve ark. (2002) 16 merkezden alınan, GSBL varlığı tespit edilen *K. Pneumoniae* suşlarının amikacine direncinin % 54 olduğu sonucuna varmışlardır.

Karatay (1994), yaptığı çalışmada muayene materyallerinden izole ettiği *Klebsiella pneumoniae* susları üzerinde en etkili aminoglikozidin amikacin olduğunu, gentamicine % 54 ve streptomycine ise % 63 oranında direnç tespit etmişlerdir.

Küçükateş ve Kocazeybek (2002), *K. pneumoniae* suşlarının gentamicin direncini % 71.9 ve amikacin direncini % 59.4 olarak tespit etmişlerdir. Aksaray ve ark. (2000), *Klebsiella* spp. suslarının gentamicin direncini % 65.9 ve amikacin direncini ise % 46.8 olarak ortaya koymuşlardır.

Aminoglikozid grubu antibiyotiklere karşı *K. pneumoniae* suşlarının gösterdikleri direnç, yapılan diğer çalışmalardan elde edilen sonuçlardan daha düşük bulunmuştur. Ayrıca GSBL üreten suşların amikacine gösterdikleri direnç çok düşük orandadır .

Çalışmamızda, sefalosporin grubu antibiyotiklerden ceftazidim direnci GSBL üreten suşlar için % 83 GSBL üretemeyen suslar için ise % 20 olarak belirlenmiştir. Ceftriaxona GSBL üreten suşların % 90'ı, GSBL üretemeyen suşların ise % 23'ü dirençli bulunmuştur.

Ay ve ark. (2003), çalışmalarında üriner sistem ve diğer klinik materyallerden izole ettikleri *K. pneumoniae* suşlarına karşı oluşan ceftazidim direncini % 5 ve ceftriaxon direncini ise % 20 oranında bulmuşlardır. Shehabi ve ark. (2000) çeşitli klinik örneklerden izole ettikleri *K. Pneumoniae* suşlarının cefotaxim direncini 1994 yılında % 29, 3 yıl sonra % 30 olarak, ceftriaxon direncini 1994 yılında %33, 1997 yılında %40, ceftazidim direncini 1994 yılında % 29, 3 yıl sonra % 80 olarak tespit etmişler cefotaxim ve ceftriaxon dirençleri çok değişmezken ceftazidim direncinin yüksek oranda arttığı sonucuna varmışlardır.

Babypadmini ve Appalarja (2004), üriner sistemden izole ettikleri GSBL üreten *K. pneumoniae* suşlarının ceftazidime karşı direncini ise % 86 ve ceftriaxona karşı direncini % 88 bulmuşlardır.

Direnç oranlarının çok değişik ve her geçen yıl bu oranların artmasının sefalosporinlerin yanlış kullanımından kaynaklandığı bildirilmiştir (Ulutürk ve ark. 2000).

Ulutürk ve ark. (2000), idrar yolu enfeksiyonlu hastalardan izole ettikleri *K. pneumoniae* suşlarının hemen hemen tümünün ampicilline direnç gösterdiğini saptamışlardır. Rahman ve ark. (2004)'da, *K. pneumoniae* suşlarının % 95.5'inin ampicilline dirençli olduklarını gözlemişlerdir. Finkelstein ve ark. (1998), üriner sistem enfeksiyonlarından izole ettikleri *Klebsiella* spp. suşlarının ampicillin direncini % 93 olarak ortaya koymuşlardır.

Ay ve ark. (2003), gram negatif bakteriler ile yaptıkları çalışmada *Klebsiella* türlerinin ampicillin direncini % 91 oranında belirlemişlerdir.

Kim ve ark. (2002), GSBL pozitif *K. pneumoniae* suslarının ampicillin direncini % 97.7, GSBL negatif suslarını ise % 98.3 olarak saptarken, Borer ve ark. (2002), GSBL üreten Enterobacteriaceae familyası üyesi bakterilerin ampicillin direncini %100 olarak bulmuşlardır. Kim ve ark. (2005) GSBL üreten *Klebsiella* spp. suşlarının ampicillin direncini % 85, GSBL üretemeyen susların ampicillin direncinin ise % 100 olduğunu saptamışlardır.

Poirel ve ark. (2004), İstanbul Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesinden izole edilen *K. pneumoniae* suslarından identifiye ettikleri OXA-48 tipi beta-laktamaz enziminin penicillinler tarafından hidrolize edildiğini saptamışlardır. Penicillin ve ampicilline karşı direncin yüksek olmasının nedeni; R faktörleri tarafından kodlanan penisilinaz enziminin bu antibiyotikleri inhibe etmesinden kaynaklandığı sanılmaktadır (Sawai 1973).

Karbapenemler ise kullanımda olan antibiyotikler arasında bilinen en geniş antibakteriyel etki spektrumuna sahip antibiyotiklerdendir. Antimikrobiyel aktivite ve kullanım alanlarına göre üç gruba ayrılmaktadır. Grup 1 içinde yer alan ertapenem diğerlerinden farklı olarak non-fermantatif çomaklara etkileri sınırlı olup toplum kökenli infeksiyonlarda da kullanılabilir. Ertapenem, 1 β metil karbapenem yapısındadır. Kimyasal yapısındaki farklılığından dolayı plazma proteinlerine yüksek oranda bağlanabilir ve yarılanma ömrü yaklaşık 4.5 saat sürmektedir. Bu da günde tek doz kullanım kolaylığını getirmektedir. Hastaneye yatması gerekmeyen hastalarda ayaktan parenteral antibiyotik tedavi (APAT) uygulamasında iyi bir alternatif olabilir (Saba ve ark., 2008).

Ertapenemin Gram-negatif ve Gram-pozitif bakteriler ile anaeroplara dahil geniş bir etki spektrumu bulunmaktadır. Ancak anyonik karakteri, lipofilik ve yüksek molekül ağırlığı özelliğinden dolayı bakterinin OprD porininden girmez. Bundan dolayı hem *Pseudomonas*'lara hem de *Acinetobacter* gibi nonfermantatif bakterilere etkinliği yoktur veya düşüktür. Bakterinin hedef moleküldeki değişiklikler ertapenem direncinde önemli rol oynar. Penisilin bağlayan proteinlerdeki değişiklik sonucu oluşan metisiline dirençli stafilokok türlerine etkisizdir. Ertapenem metallo- β -laktamaz ve bazı diğer karbapenemazlar hariç geniş spektrumlu β -laktamaz (GSBL) ve ampC tipi β -laktamaz üretenler de dahil olmak üzere betalaktamaz üreten Gram-negatif bakterilere oldukça etkili bulunmuştur (Lee ve ark., 2008).

GSBL salgılayan Gram-negatif etkenlere yönelik ertapenemin duyarlılığının incelendiği pek çok in vitro çalışma olmakla beraber; yapılan klinik çalışmalarda Gesser ve ark. (2003), *Enterobacteriaceae* ailesi etkenlerinin neden olduğu ciddi infeksiyonlarda ertapenemin klinik yanıtlarını toplamışlar ve ertapenemin komplike üriner infeksiyonlarda %91, derin doku infeksiyonlarında %85, toplum kökenli pnömonilerde %95 oranında klinik başarı elde edildiğini rapor etmişlerdir. Lye ve ark. (2008), çoklu ilaç dirençli 47 olgunun (%79 GSBL-pozitif) ertapenem ile yapılan tedavisinde %96 klinik cevap almışlardır.

Ülkemizde yapılan çalışmalarda Kiremitci ve ark. (2008), yaptıkları çalışmada GSBL-pozitif bakterilerde %2.5 oranında ertapenem direnci bildirilmiştir. Gür ve ark.(2009) yaptıkları HITIT 2 çalışmasına göre GSBL-pozitif *E. coli* ve *K. pneumoniae*'da piperasilin-tazobaktam %28 ve % 38 oranında direnç saptanmıştır. GSBL-pozitif bakterilerde özellikle kinolonlara karşı yüksek direnç oranları görülmektedir (Nordmann ve ark., 2009).

Bizim çalışmada ise % 30.7 ertapenem, % 23 meropenem, % 23 meropenem,% 56 piperacillintazobactam direnci belirlenmiştir. Artan karbapenem direncini KPC üretimine bağlanılabilir.

Son zamanlarda *Klebsiella pneumoniae* karbapenamaz (KPC) salgılayan mikroorganizmalar gerek sınırlı tedavi seçenekleri gerekse infeksiyon kontrol önlemleri açısından tehdit oluşturmaktadır. Her ne kadar KPC üretimi rutin antibiyogram testlerinde saptanamıyorsa da karbapenem $MIK \geq 2 \mu l$ olduğu durumlarda şüphelenmek gerekmektedir. Ancak bu suşlar karbapenemlere her zaman dirençli görülmeyebilir. Rutin antibiyogramda karbapeneme duyarlı görülürken geniş spektrumlu sefalosporinlerle beraber ertapenem orta duyarlı veya dirençli görüldüğü zaman KPC'den şüphelenmek gerekmektedir (Nordmann ve ark., 2009).

Sonuç olarak, ertapenem geniş etki spektrumu olması, günde tek doz uygulanım kolaylığı, IV kullanım yanında IM uygulanabilmesi ve yan etkilerini düşük olması, maliyet-etkin olması nedeniyle avantajlı bir konuma sahiptir. İmipenem ve meropenem kullanımına bağlı oluşan karbapenem dirençli nonfermantatif patojenlerin azaltılmasında avantaj sağlayabilir. Her ne kadar in vitro çalışmalarda etkin görülmesine karşın daha geniş in vivo çalışmalara ihtiyaç vardır. Yapılan in vitro çalışmalarda oldukça antibiyotikler de olduğu gibi antibiyogram sonucuna göre ve akılcı kullanılması elimizdeki gücün kısa sürede tükenmemesini sağlayacaktır.

5. SONUÇ

Klebsiella'lar sağlıklı bireylerin nazofarenks ve barsağında % 5 oranında kolonize olarak bulunurlar. Antibakteriyel ilaç kulanımı ve hospitalizasyon Klebsiella taşıyıcılığını arttırmaktadır. Klebsiella infeksiyonlarına genelde ortamda kolonize olmuş suşlar kaynak oluşturmaktadır (Erdem, 1999; Abbott ve ark.,2003). Antibiyotiklere direncin ortaya çıkmasında en önemli etken hastanelerdeki yoğun antibiyotik kullanımıdır. Bu nedenle hastanelerde ve özellikle hastane infeksiyonlarının sık görüldüğü yoğun bakım ünitelerinde kullanılacak antibiyotiklerin seçiminde o hastanede sık izole edilen hastane infeksiyonu etkeni bakterilerin antibiyotik duyarlılıklarının bilinmesi önemlidir (Fındık ve ark., 2001). Direnç genleri, enterik bakteriler arasında kolaylıkla aktarılabilmektedir.

Yapılan alışmalar GSBL kodlayan genin *K.pneumoniae* suşlarından *E.coli* suşlarına kolayca aktarıldığını göstermiştir. Direncin yoğun antibiyotik kullanımı ile ilişkili olması ve ortaya çıkan direncin Gram negatif çomaklar arasında kolaylıkla aktarılıyor olması, dirençli suşların izlenmesinin önemini ortaya koymaktadır(zkan ve ark., 2002).

Araştırmamızda hastanemiz içindeki çeşitli kliniklerden gelen örnekleri inceleyerek Klebsiella türlerinin GSBL pozitifliğini saptamayı amaçladık. Buna göre tüm kliniklerden gelen 100 örnek incelenerek %55 oranında GSBL pozitifliği gözlemledik. Araştırmamızda elde ettiğimiz GSBL oranı hastane enfeksiyonlu hastalarda görülen GSBL oranlarıyla uyumlu olduğu gözlenmiştir.. Araştırmamızda diğer bir amacımızda GSBL pozitifliği ile antibiyotik direnci arasındaki ilişkiyi tespit etmektir. Buna göre GSBL üreten izolatların diğer antibiyotiklerde daha dirençli olduğu gözlenmiştir.

Klebsiella'ların özelliği çoklu antibiyotik direncine sahip olmalarıdır (Erdem,2001). Klebsiella suşlarında geniş spektrumlu sefalosporinlere karşı plazmid kaynaklı direnç saptanmaktadır. Bu direnç genişlemiş spektrumlu beta-laktamaz (GSBL) üretimine bağlıdır. GSBL oluşturan suşlar hastane enfeksiyonu epidemilerine neden olabilmelerinden ve taşıdıkları direnç plazmidleri türler arasında da transfer edilebildiğinden daha da önem kazanmaktadırlar.

GSBL'nin özellikle hastane enfeksiyonlarında önemi artmaktadır. Bu da tedavide zamanı ve maliyeti artırmaktadır. Ayrıca sağlık çalışanlarının iş gücü kaybına neden olmaktadır. Bunun yanı sıra daha da önemlisi hastane enfeksiyonları ölümlerine sonlanabilmektedir. GSBL üreten suşlarla oluşan hastane ve toplum kökenli enfeksiyonları önlemek, yayılmasını engellemek, tedavi maliyetini düşürüp morbitide ve mortaliteyi azaltacak şekilde yeniden düzenlemek çok önemlidir. Bunun için en başta bakterinin ürettiği GSBL enziminin doğru olarak saptanması gereklidir.

Sonuç olarak, enfeksiyonları önleme çalışmalarında, enfeksiyona neden olan mikroorganizmanın antibiyotik duyarlılık testlerinin yapılması GSBL varlığının belirlenmesi gibi daha ayrıntılı çalışmaların yararlı olacaktır.

ÖZET

Klebsiella pneumoniae izolatları ; üriner sistem enfeksiyonları, üst solunum yolu enfeksiyonları ve hastane enfeksiyonlarının önemli bir ajanıdır. Çalışmamızda; Şubat 2010 – Aralık 2010 tarihleri arasında, Afyonkocatepe Üniversitesi Tıp Fakültesi Mikrobiyoloji Laboratuvarı Bakteriyoloji Bölümüne çeşitli kliniklerden gönderilen ve enfeksiyon şüpheli hastalardan alınan idrar.balgam.trekeal aspirat,katater ucu ve yara örneklerinden toplam 98 adet *K. Pneumoniae* ve 2 *K.oxytoca* suşu izole edilmiş ve bazı antibiyotiklere karşı direnç durumları ve Genişlemiş Spektrumlu Beta Laktamaz (GSBL) üreten suş sayıları belirlenmiştir.

İncelenen tüm suşlar ticarcillin (%100) ve Piperacilline (%92.5) dirençli bulunmuştur.

Aminoglikozid grubu antibiyotiklerden Amikacine GSBL üreten suşlarda %2 direnç gözlenmiş, GSBL üretmeyen suşlarda ise direnç gözlenmemiştir, Tobramycine GSBL üreten suşlar %58 oranında dirençli iken GSBL üretmeyen suşlarda direnç gözlenmemiştir ve Gentamicine GSBL üreten suşların %45, GSBL üretmeyen suşların ise %13 oranında dirençli oldukları görülmüştür.

Sefalosporin grubu antibiyotiklerden Cefazidime GSBL üreten suşların %83,GSBL üretmeyen suşların %20, Ceftriaxona GSBL üreten suşların %90 GSBL üretmeyen suşların %23 oranında dirençli oldukları görülmüştür.

Karbapenem grubu antibiyotiklerden Ertapeneme GSBL üreten suşlarda %46,GSBL üretmeyen suşlarda %15, İmipenem ve Meropeneme GSBL üreten suşların % 34 , GSBL üretmeyen suşların %9 oranında dirençli oldukları görülmüştür.

Çalışmamızda incelenen *Klebsiella* suşlarının % 55 oranında GSBL varlığı tespit edilmiştir. En fazla örnek Anestezi Yoğun Bakım Ünitesinden (%44) gelmiş, en fazla GSBL pozitifliği ise Göğüs Hastalıkları servisi ve Beyin Cerrahisinden (%71) gelen örneklerde tespit edilmiştir.En yüksek GSBL tespit ettiğimiz klinik örnek ise trakeal aspirat olmuştur.

GSBL üreten suşlarda diğer antibiyotiklere direnç oranındada artış olduğu sonucuna varılmıştır. Dolayısıyla bu tip suşların özellikle yoğun bakım ünitelerinde düzenli izlenmesi ve kontrol önlemlerinin alınması gerekmektedir.

Anahtar kelimeler: *Klebsiella pneumoniae*, Genişlemiş Spektrumlu β -Laktamazlar, antimikrobiyal duyarlılık

SUMMARY

Klebsiella pneumoniae isolates are a major causative agent of urinary system infections, upper respiratory tract infections and nosocomial infections. In our study, from urine, mucus, tracheal aspirates, catheter tip and wound samples, sended to Afyon Kocatepe University Medical Faculty Microbiology Department between February 2010 – December 2010 from various clinics and from people with the risk of infection, totally 98 *K. pneumoniae* and 2 *K. oxytoca* are isolated and their resistance to some antibiotics and the number of strains producing Extended Spectrum Beta Lactamase (ESBL) is determined.

Examined all strains are found to be resistant to ticarcillin (100%) and Piperacilline (92.5%).

For Aminoglycoside antibiotics, GSBL producing strains, , were 2% resistance to Amikacine and GSBL producing strains were 58% resistance to Tobramycine, whereas the strains that does not produce GSBL had no resistance, to these antibiotics; but for Gentamicine, in GSBL producing strains 45% and non produce in 13% resistance were detected.

For Sefalosporin antibiotics in GSBL producing strains, were 83%, resistant to Cefazidime and the strains that do not produce GSBL were 20% resistant. For Ceftriaxona the resistance rote in GSBL producers were 90%, but in non produce is 23% resistance.

For Carbapenemes, in GSBL producing strains, were resistant to ertapenem 46%, strains that do not produce GSBL were 15% resistant.

Also for, Imipenem and Meropenem GSBL producing strains were 34% resistant to both antibiotics, but the ratio in non produce is were only 9% resistance.

In this study, 55% GSBL existence was detected in *Klebsiella* strains. The most common samples were enrolled from Anesthesia Intense Care Unit (44%), and the highest GSBL positivity was determined on the samples from Chest Diseases and Neurosurgery wards (71%). And the highest GSBL isolate containing clinic sample was tracheal aspirate.

It is concluded that the *Klebsiella* strains that produce GSBL, have much more resistance to antibiotics than the other isolates. Therefore such kind of strains must be monitored carefully, particularly in intensive care units and the precautions for prevention had to be implemented.

Keywords: *Klebsiella pneumoniae*, Extended Spectrum β -Lactamases, antimicrobial sensitivity

KAYNAKLAR

- Abacıoğlu YH, Aslani MM, Göluy Z, İnan S, Yuluğ N.(1993). Resistotyping and plasmid profile analysis of multiply resistant *Klebsiella pneumoniae* strains isolated during a nosocomial outbreak. *İnfeksiyon Dergisi*, 9:63-68.
- Abbott SL. (2003). *Klebsiella, Enterobacter, Citrobacter, Serratia, Plesiomonas and other Enterobacteriaceae*, "Murray PR, Baron EJ, Pfaller MA, Tenover JC, Tenover FC (eds): *Manual of Clinical Microbiology*, 8th ed." .684-700.
- Akalın H.(2000) Çoğul dirençli gram negatif bakteriler. *Hastane İnfeksiyonları Dergisi*, 7: 269-287.
- Akçam FZ, Gönen İ, Kaya O, Yaylı G.(2004). Hastane infeksiyonu etkeni enterobakterilerde betalaktam antibiyotiklere duyarlılık ve ESBL sıklığının araştırılması. *SDÜ Tıp Fakültesi Dergisi* , 11: 6–9.
- Akova M.(2004). Dikkat :genişlemiş spektrumlu beta laktamaz (GSBL) var! *ANKEM Derg.*, 18(ek 2): 98-103
- Akyıldız R, Özsoy MF, Altunay H, Koçak N, Çavuşlu Ş, Yenen OŞ.(2000). *Klebsiella pneumoniae* suşlarında genişlemiş spektrumlu beta-laktamaz sıklığı ve beta-laktam antibiyotik direncinin araştırılması. *Klimik Dergisi*, 2: 53 – 55.
- Altıparlak Ü, Özbek A. (2002). Üriner sistem infeksiyonlarından izole edilen bakterilerin çeşitli antibiyotiklere duyarlılıkları, *Türk Mikrobiyol Cem Derg* ,32:167-173
- Anđ Küçükler M, Küçükbaşmacı Ö, Tekin M, Akbulut D, Büyükbaba- Boral Ö, Anđ Ö.(2002). Üropatojen *Klebsiella* suşlarının serotiplendirilmesi, siderofor sentezi, serum direnci ve genişlemiş spektrum beta-laktamaz tayini, *Türk Mikrobiyol Cem Derg* 32(3-4):265-269.
- Aydemir H, Yalçı A, Pişkin N, Gürbüz Y, Türkyılmaz R.(2006). *Escherichia coli* ve *Klebsiella pneumoniae* suşlarının ESBL üretme ve antibiyotik direnç oranları. *Klimik Dergisi* , 19: 63-8.
- Aydoğan H, Başustaoğlu A.(2000). Nozokomiyal patojen olarak *Klebsiella* türlerinin mikrobiyolojik, klinik ve epidemiyolojik özellikleri. *Hastane İnfeksiyonları Dergisi* , 4: 135-143.

- Baskın H.(2005). Mikroorganizmanın çevreye uyumu ve biyofilm: “Quorum Sensing” (Çoğunluğu Algılama). XII. Türk Klinik Mikrobiyoloji ve İnfeksiyon Hastalıkları Kongresi. *Klinik Dergisi* , 18(Özel Sayı): 9-10.
- Bilgehan H.(1992). *Enterobacteriaceae. Klinik Mikrobiyolojik Tanı*. İzmir: Barış Yayınları. Fakülteler Kitabevi ,425-451.
- Bilgehan H.(2004). “*Klinik mikrobiyolojik tanı*”, 4.baskı Barış Yayınları Fakülte Kitabevi İzmir
- Bush K, Sykes RB.(1986). Methodology for the study of beta lactamases. *Antimicrob Agent Chemother*. 30(1): 6-10
- Bush K, Jacoby GA, Mederios AA.(1995). A functional classification scheme for beta lactamases and its correlation with molecular structure. *Antimicrob Agent Chemother*. 39: 1211-1233.
- Bush K.(2000). The evolution of beta lactamases. *Mikrobiyol Bult*. 34: 7-21.
- Bülüş M, Gürol Y, Bal Ç.(2003).Genişlemiş spektrumlu beta laktamaz oranları: 2000-2002, *Türk Mikrobiyol Cem Derg* ,33(1):31-34.
- Bonfiglio G, Russo G, Nicoletti G.(2002). Recent developments in carbapenems. *Expert Opin Investig Drugs*., 11(4): 529-544.
- Bradford PA, Urban C, Mriano N, Projan SJ, Rahal JJ, Bush K.(1997). Imipenem resistance in *Klebsiella pneumoniae* is associated with the combination of ACT-1, a plasmid-mediated AmpC β -lactamase, and the loss of an outer membrane protein. *Antimicrob Agents Chemother* , 41: 563-569.
- Cesur S, Albayrak F, Özdemir D, Kolcu Z, Tekeli E.(2002). Hastanede yatan hastaların idrar örneklerinden izole edilen Gram negatif çomakların antibiyotiklere duyarlılıkları, *Türk Mikrobiyol Cem Derg* ,32(3- 4):174-6.
- Chambers HF. Penicillins. In: Mandell GL, Bennett JE, Dolin R..(2005). *Principles and Practice of Infectious Diseases*. Sixth edition, Pennsylvania: Elsevier Churchill Livingstone , 281-293.
- Chanawong A, M'Zali FH, Heritage J, Lulitanond A.(2001). Hawkey PM. SHV-12, SHV-5, SHV-2a and VEB-1 extended-spectrum beta-lactamases in Gram negative bacteria isolated in a university hospital in Thailand. *J Antimicrob Chemother*, 48: 839-852.

- Coudron P.E., Moland E.S., Sanders C.C. (1997). Occurrence and detection of extended-spectrum beta-lactamases in members of family *Enterobacteriaceae* at a Veterans Medical Center. *J. Clin. Microbiol.*, 35(10):2593-2597.
- Combe ML, Sesboue R, Martin JP.(1994). Electrophoretic transfer from polyacrylamide gel to nitrocellulose sheets: A new method to characterize multilocus enzyme genotypes of *Klebsiella* strains. *Appl Environ Microbiol*, 60: 26-30.
- Çetinkaya Z, Çiftçi İ. H, Aktepe O. C, Şafak B, Altındış M.(2005). Klinik örneklerden izole edilen *Klebsiella* izolatlarının antibiyotiklere duyarlılıkları. *ANKEM Derg*, 19: 1- 4.
- Danel F, Hall LMC, Gür D, Akalın HE, Livermore DM.(1995). Transferable production of PER-1 beta-lactamase in *Pseudomonas aeruginosa*. *J Antimicrob Chemother*, 35: 281-294.
- Di Martino P, Bertin Y, Girardeau P, Livrelli V, Joly B.(1995). Darfeuille-Michaud A. Molecular characterization and adhesive properties of CF29K, an adhesin of *Klebsiella pneumoniae* strains involved in nosocomial infections. *Infect Immun*, 63: 4336-44.
- Dizbay M, Karakuş R, Arman D.(2004). Hastane infeksiyonu etkeni gram-negatif bakterilerde genişlemiş spektrumlu beta-laktamaz varlığının saptanması. *Hastane İnfeksiyonları Dergisi*, 8: 40-5.
- Dolapçı İ.(2005) Genişlemiş spektrumlu beta-laktamazlar: Klinik mikrobiyoloji laboratuvarı, tedavi ve enfeksiyon kontrolündeki rolleri. *Mikrobiyoloji Bülteni*, 39; 229-40.
- Edwards JR.(1995). Meropenem: a microbiological overview. *J Antimicrob Chemother*, 36(Suppl A): 1-17. 20.
- Endtz HP, Dijk WC, Verbrugh HA and Mustin Study Group.(1997). Comparative in vitro activity of meropenem against selected pathogens from hospitalized patients in the Netherlands. *J Antimicrob Chemother*, 39: 149-56.
- Erdem B.(1999). *Enterobacteriaceae. Temel ve Klinik Mikrobiyoloji*. Ankara. Güneş Kitabevi, 471-480.

- Esen Ş.(2004). GSBL'lerin epidemiyolojik özellikleri. Yeni Yeniden Gündeme Gelen İnfeksiyonlar *Genişlemiş Spektrumlu Beta-Laktamazlar Derg* Bilimsel Tıp Yayınevi. Ankara, 28-34.
- Fındık D, Tuncer Ş, Ural O, Arslan U.(2001). Hastane infeksiyonu etkeni olan gram-negatif bakterilerin çeşitli antibiyotiklere duyarlılıkları, *İnfeksiyon Derg* ,15(4):489-93.
- Gouby A, Neowirth C, Bourg G, Bouziges N, Charles-Nurit MJ et al.(1994). Epidemiological study by pulsed-field gel electrophoresis of an outbreak of extended-spectrum beta-lactamase producing *Klebsiella pneumoniae* in a geriatric hospital. *J Clin Microbiol* , 32: 301-305.
- Gülây Z.(2001), "Antibiyotiklere direnç mekanizmaları ve çözüm önerileri: Beta laktamlara ve Karbapenemlere direnç", *Hastane İnfeksiyonları Dergisi*, 5: 210-229 .
- Gültekin M, Ögünç D, Günseren F, Çolak D, Kırbaş İ, Mamıkoğlu L.(1999). Hastane infeksiyonu etkeni *Klebsiella pneumoniae* ve *Escherichia coli* suşlarının genişlemiş spektrumlu β - laktamaz ve antibiyotik duyarlılık özelliklerinin araştırılması. *İnfeksiyon Dergisi* , 13: 515-20.
- Günalp A., Yılmaz A.Y., Pınar A.(2003). "Tıbbi Mikrobiyoloji Laboratuvar Eğitim Kitabı" Hacettepe Üniversitesi Hastanesi Basımevi Ankara.
- Gür D.(2004).GSBL'lerin genel özellikleri ve GSBL tipleri: genişlemiş spektrumlu beta laktamazlar, yeni ve yeniden gündeme gelen infeksiyonlar.Bilimsel Tıp Yayınevi Ankara, s. 5-12-15.
- Gür D.(1997). Hastane infeksiyonlarında önem kazanan gram-negatif bakterilerde antibiyotiklere direnç mekanizmaları. *Hastane İnfek Derg*, 1: 38-45.
- Gür D.(2000). Hastane infeksiyonları ve antimikrobiyal ajanlara çoğul dirençli gram-negatif bakteriler. *Hastane İnfeksiyonları Dergisi*, 4:218-225.
- Gürler N., Sarpel C., Töreci K., Çetin E.T.(1989). 'Muayene maddelerinden izole edilen *S.aureus* suşlarının kemoterapötiklere duyarlılığı. *ANKEM Derg*.
- Hall LMC, Livermore DM, Gür D, Akova M, Akalın HE.(1993). OXA-11, an extended spectrum variant of OXA-10 (PSE-) beta-lactamase from *Pseudomonas aeruginosa*. *Antimicrob Agents Chemother* , 37: 1637-44.

- Harold C, Neu MD.(1985). Relation of structural properties of beta-lactam antibiotics to antibacterial activity. Am J Med .(Suppl 2A):2-13.
- HobanDJ, BiedenbachDJ, MutnickAH, Jones RN.(2003). Pathogen of occurrence and susceptibility patterns associated with pneumonia in hospitalized patients in North America: Results of the SENTRY Antimicrobial Surveillance Study (2000),*Diagn Microbiol InfectDis* ,45(4):279-85.
- Işık F.(2007). Kan kültürlerinden izole edilen *Klebsiella pneumoniae* suşlarında genişlemiş spektrumlu beta laktamaz saptanmasında üç yöntemin karşılaştırılması ve antimikrobiyal duyarlılıklarının araştırılması.Uzmanlık tezi. Selçuk Üniversitesi Meram Tıp Fakültesi Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji AD. Konya.
- Jacoby GA.(1990) Carreras I. Activities of beta-lactam antibiotics against *Escherichia coli* strains producing extended-spectrum beta-lactamases. Antimicrob Agents Chemother ,34: 858- 860.
- Jacoby GA, Medeiros AA.(1991). More extended spectrum beta-lactamases. Antimicrob Agents Chemother ,35:1697-1704.
- Jehl F, Chomar M, Weber M, Gerard A.(2004). Antibiyotik Duyarlılık Testinden Receteye, Biomerieux Yayınları
- Kang CI, Kim SH, Park WB , Lee KD, Kim HB, Kim EC, Oh MD, Chloë KW. (2004). Bloodstream infections due to extended-spectrum β -lactamase-producing *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae*: risk factors for mortality and treatment outcome, with special emphasis on antimicrobial therapy. Antimicrobial Agents and Chemotherapy , 48: 4574–4581.
- Karatay S. (1994). Hastanede yatan hastalardan izole edilen *Klebsiella* cinsi bakterilerde aminoglikozid direnci ve plazmid izolasyonu. Yüksek Lisans Tezi, İstanbul Üniv. Sağlık Bil. Enst. Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji A.B.D., İstanbul.
- Katsanis GP, Spargo J, Ferraro MJ, Sutton L, Jacoby GA.(1994). Detection of *Klebsiella pneumoniae* and *Escherichia coli* strains with extended-spectrum β -lactamases. J Clin Microbiol, 32:691–696.
- Kfoury JNS, Araj GF. (2003).Recent developments in beta lactamases and extended spectrum beta lactamases. BMJ. 327: 1209-1913.
- Kim, M.N., Ryu, J., Kim, Y.S: (2002). Clinical implications of extended-spectrum beta-lactamase-producing *Klebsiella pneumoniae* bacteraemia. J. Hosp. Infect. 52:99-106.

- Kiremitçi A, Dinleyici EC, Erben N et al.(2008) : In vitro activity of ertapenem and other carbapenems against extended spectrum beta-lactamase producing *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae* clinical isolates in a tertiary care center in Turkey, *Expert Opin Pharmacother* , 9(9):1441-1449.
- Kuzucu Ç, Kabakçioğlu M, Özışık A, Ezen FO, Acar NS.(1999). Nozokomiyal gram-negatif bakterilerde genişlemiş spektrumlu ve kromozomal beta laktamaz varlığının saptanması. *Flora* ,4: 102-106.
- Lautenbach E, Patel JB, BilkerWB, Edelstein PH, Fishman NO.(2001). Extended-spectrum betalactamase- producing *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae*: risk factors for infection and impact of resistance on outcomes. *Clin Infect Dis*,32:1162-1168.
- Leblebicioğlu H.(2004). *GSBL'lerin Klinik Önemi ve Tedavi Yaklaşımları*. Yeni Yeniden Gündeme Gelen İnfeksiyonlar. Genişlemiş Spektrumlu β -Laktamazlar. Bilimsel Tıp Yayınevi. Ankara, 31-34
- Leblebicioğlu H, Şencan i, Eroğlu C, Sünbül M, Esen , Günaydın M.(1998). Gram-negatif bakterilerde aminoglikozid direnç mekanizmaları. *Klinik Derg* , 11(2): 50-2
- Lee SC, Huang SS, Lee CW, Fung CP, Lee N, Shien WB, Siu LK.(2007). Comparative antimicrobial susceptibility of aerobic and facultative bacteria from community-acquired bacteremia to ertapenem in Taiwan. *BMC Infect Dis*.,7:79.
- Livermore DM.(1995). Beta-lactamases in laboratory and clinical resistance. *Clin Microbial Rev* , 8: 557-584.
- Livermore DM.(1998). Beta-lactamase mediated resistance and opportunities for its control. *J Antimicrob Chemother* , 41(Suppl D): 24-41.
- Livermore DM, Woodford N.(2000). Carbapenemases: a problem in waiting? *Curr Opin Microbiol* ,3: 489-495.
- Löker K, Beşirbellioğlu B, Kısa Ö, Aydoğan H, Dizer U, Pahsa A.(2001). Hastane infeksiyonlardan izole edilen *Klebsiella pneumoniae*, *Escherichia coli*, izolatlarında genişlemiş spektrumlu beta-laktamaz sıklığının saptanması ve izoelektrik fokuslama yöntemi ile tiplendirilmesi. *İnfeksiyon Dergisi*,15:319-324.

- Lye DC, Wijaya L, Chan J, Teng CP, Leo YS(2008). Ertapenem for treatment of extended-spectrum beta-lactamase producing and multidrug-resistant Gram-negative bacteraemia *Ann Acad Med Singapore* , 37: 831-4.
- Medeiros AA.(1997). Evolution and dissemination of beta-lactamases accelerated by generations of beta-lactam antibiotics. *Clin Infect Dis*,24: 19-45.
- Medeiros AA.(2000). Cooperative evolution of mechanisms of beta lactam resistance. *Clin Microbiol Infect.* 6 (s3): 3-5.
- Mıstık R.(2000). Aminoglikozid antibiyotikler ve günde tek doz kullanımları. *Klimik Derg* , 13(2): 43-45.
- M Souli, I Galani, H.(2008). Giamarellou Emergence of Extensively Drug-Resistant and Pandrug-Resistant Gram-Negative Bacilli in Europe *EUROSURVEILLANCE* ,13(47): 19-45
- Musa-Aisien AS, Ibdin OM, Ukah G, Akpede GO.(2003). Prevalence and antimicrobial sensitivity pattern in urinary tract infection in febrile under-5s at a children's emergency unit in Nigeria, *Ann Trop Paediatr* , 23(1):39-45.
- Opal SM, Medeiros AA(2005)İ. Molecular mechanisms of antibiotic resistance in bacteria. In: Mandell GL, Bennett JE, Dolin R (eds). Principles and Practice of Infectious Diseases. Sixth edition, Pennsylvania: Elsevier Churchill Livingstone Inc,253-270.
- Öngen B.(2003). Hastanede sorunlu mikroorganizmalar. Gram-negatif bakteriler. 3. Sterilizasyon ve Dezenfeksiyon Kongresi Samsun; 1-9.
- Öztürk R.(1997). Antibiyotiklerin etki mekanizmaları, antimikrobik ilaçlara karşı direnç gelişmesi ve günümüzde direnç durumu. İ.Ü. Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Sürekli Tıp Eğitimi Etkinlikleri, Pratikte Antibiyotik Kullanımı Simpozyumu İstanbul ; 27-51.
- Paterson DL, Ko WC, Gottberg AV et al.(2004). Antibiotic therapy for *K.pneumoniae* bacteremia:Implications of extended-spectrum β -lactamases. *Clin Infect Dis* ,39:31-7.
- Paterson DL, Bonomo RA.(2005). Extended-spectrum β -lactamases: a clinical update. *Clinical Microbiology Reviews*, 18: 657-86.
- Pekşen Y.(1993). Hastane infeksiyonlarının epidemiyolojisi. İnfeksiyon Hastalıkları *Klimik Dergisi* , 6: 100-1.

- Philippon A, Arlet G, Jacoby GA.(2002) Plasmid-determined AmpC-type β -lactamases. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 46:1-11.
- Pitout JDD, Reisbig MD, Venter EC, Church DL, Hanson ND. (2003). Modification of double disk test for the detection of *Enterobacteriaceae* producing extended spectrum and AmpC beta lactamases. *J Clin Microbiol.* 41 (8): 3933-3935
- Podscun R, Ullmann U. (1998). *Klebsiella spp.* as nosocomial pathogens: Epidemiology, taxonomy, typing methods and pathogenicity factors. *Clin Microbiol Rev* ; 11: 589-603.
- Rahal JJ. (2000). Extended-spectrum beta lactamases:how big is the problem? *Clin Microbiol Infect.* 6 (2): 2-6
- Rennie RP, Jones RN, Mutrich AH: (2003). Occurrence and antimicrobial susceptibility patterns of pathogens isolated from skin and soft tissue infections: Report from the Sentry Antimicrobial Surveillance Program (United States and Canada, 2000), *Diagn Microbiol Infect Dis*; 45(4):287-93.
- Saba R, Usluer G.(2008). Ertapenem *FLORA* ; 13(ek5): 3-19
- Saraçlı M. A. (2001) Küçük karaaslan A, Başustaoglu A, Özyurt M, Aydoğan H. GATA Hastanesin’de izole edilen *Escherichia coli* ve *Klebsiella* suşlarında genişlemiş spektrumlu beta-laktamaz (GSBL) pozitifliği. *İnfeksiyon Dergisi* ; 15 : 87-91.
- Sarı H.(2005). Karbapenemlere dirençli gram-negatif basil izolatlarında imipenem-EDTA / meropenem-EDTA disk yöntemi ve modifiye hodge testi ile metallo-beta- laktamaz varlığının araştırılması. Uzmanlık tezi, İstanbul.
- Siu LK. (2002).Antibiotics:action and resistance in gram negative bacteria. *J Microbiol Immunol Infect.*, 35: 1-11.
- Sturenburg E, Mack D.(2003). Extended-spectrum beta-lactamases: implications for the clinical microbiology laboratory, therapy, and infection control. *J Infect.*, 47 (4): 273-95.
- Tanır G, Gol N.(1999). Antibiyotik direnci. *KLİMİK Derg.* 12 (2): 47-54 .
- Tenover FC, Raney PM, Williams PP, Rasheed JK, Biddle JW, Oliver A, Fridkin SK, Jevitt L, McGowan JE.(2003). Evaluation of the NCCLS extended-spectrum

betalactamase confirmation methods for *Escherichia coli* with isolates collected during Project ICARE. *J Clinical Microbiol.*, 41 (7): 3142-3146

Thomson KS, Sanders CC. (1992). Detection of extended spectrum beta lactamases in members of the family *Enterobacteriaceae*: comparison of the double-disk and three-dimensional tests. *Antimicrob Agent Chemother.*, 36 (9): 1877-1882

Thomson KS, Moland ES. (2000). Version (2000) the new beta lactamases of gram negative bacteria at the dawn of the new millenium. *Microbes and Infection.* 2: 1225-1235.

Töreci K, "Topçu AW, Söyletir G, Doğanay M.(2002).*İnfeksiyon Hastalıkları ve Mikrobiyolojisi*,s. 1575-1579.

Tünger Ö, Özbakkaloğlu B, Dinç G, Sürücüoğlu S, Sivrel AA, Baykal D.(1999). Celal Bayar Üniversitesi Hastanesinde 1998 yılı hastane inleksiyonları sürveyans sonuçları, *infeksiyon Dergisi*, 13(3):359-364.

Tünger A, Hilmioğlu S, Dibek MA, Çavuşoğlu C, Aktaş L, Özkan F, Özinel MA(1998). Hastane infeksiyonu etkeni olarak soyutlanan *Klebsiella pneumonia* ve *Escherichia coli* kökenlerinde genişlemiş spektrumlu β -laktamaz sıklığı. *İnfeksiyon Dergisi* ,12:165-168.

Yuluğ N.(1997). Beta-laktamazlar ve klinik açıdan önemi. *ANKEM Derg* , 11: 205-7.

Quinn JP.(1994). Clinical significance of extended-spectrum β -lactamases. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* ,13:39-42.