

**T.C.
FIRAT ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
ENFEKSİYON HASTALIKLARI VE KLİNİK MİKROBİYOLOJİ
ANABİLİM DALI**

**GENİŞLEMİŞ SPEKTRUMLU BETA-LAKTAMAZ ÜRETEN
ESCHERICHIA COLI VE *KLEBSIELLA SPP.* SUŞLARININ
KARBAPENEM VE BETA-LAKTAMAZ İNHİBİTÖRLÜ
KOMBİNASYONLARA KARŞI DUYARLILIKLARININ ARAŞTIRILMASI**

UZMANLIK TEZİ

DR.PINAR (YÜCE) FIRAT

TEZ DANIŞMANI:DOÇ.DR.KUTBETTİN DEMİRDAĞ

ELAZIĞ/2005

DEKANLIK ONAYI

Prof.Dr.....

DEKAN

Bu tez Uzmanlık Tezi standartlarına uygun bulunmuştur.

.....

Prof. Dr. S. Sırrı KILIÇ

Enfeksiyon Hastalıkları ve Klinik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı Başkanı

Tez tarafımızdan okunmuş, kapsam ve kalite yönünden Uzmanlık Tezi olarak kabul edilmiştir.

.....

Danışman

Uzmanlık Sınav Jüri Üyeleri

.....

.....

.....

.....

.....

.....

Bu tez Fırat Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri(FÜBAP) tarafından 1115 numaralı Proje kapsamında desteklenmiştir.

TEŞEKKÜR

Eğitimimde büyük emekleri olan saygıdeğer hocalarım Prof. Dr. S.Sırrı Kılıç'a

Prof. Dr. Süleyman Felek'e, Prof. Dr. Ayhan Akbulut'a, tez çalışmamda yardımlarını esirgemeyen değerli hocam Doç. Dr. Ahmet Kalkan'a, tez danışmanım ve tez çalışmamda yardımlarını gördüğüm değerli hocam Doç. Dr. Kutbettin Demirdağ'a ve sevgili ağabeyim Yrd. Doç. Dr. İlhami Çelik'e, ihtisasım boyunca çalışma arkadaşlarım Yrd. Doç. Dr. Mehmet Özden, Uz. Dr. Aydın Özkan, Uz Dr. Türkan Kaygusuz, Uz. Dr. Mustafa Cihangiroğlu, Uz. Dr. Affan Denk, Dr. Erol Sevim, Dr.Nuran Akmirza İnci, Dr. Mehmet Çabalak, Dr. Arzu Aktaş Şenol, Dr. Gülден Eser Karlıdağ, Dr. Özlem Çağaşar ve Dr. Şafak Özer'e, Enfeksiyon Hastalıkları ve Klinik Mikrobiyoloji Kliniğinin değerli hemşirelerine ve personeline ve tez çalışmamda yardımlarını gördüğüm personel arkadaşlarım Mustafa Şeker ve Ahmet Altunbulat'a teşekkürlerimi sunuyorum.

Ayrıca eğitimimde desteklerini esirgemeyen ve varlıklarından her zaman güç aldığım sevgili anneme, babama, kardeşlerime ve yardım ve özverilerini esirgemeyen değerli eşim Mete Fırat'a teşekkürü bir borç bilirim.

İÇİNDEKİLER

	SAYFA NO
1. ÖZET	1
2. ABSTRACT	3
3. GİRİŞ	5
3.1. <i>Escherichia Coli</i>	7
3.2. <i>Klebsiella</i> Cinsi Bakteriler	9
3.3. Beta-Laktam Antibiyotikler ve Genişlemiş Spektrumlu Beta-Laktamazlar	12
3.3.1. Beta-Laktam Antibiyotikler	12
3.3.2. Beta-Laktam Antibiyotiklere Karşı Direnç Gelişimi	13
3.3.3. Beta-Laktamazlar	14
3.3.3.1 Grup A Beta-Laktamazlar	15
3.3.3.2 Grup B Beta-Laktamazlar	15
3.3.3.3 Grup C Beta-Laktamazlar	15
3.3.3.4 Grup D Beta-Laktamazlar	15
3.3.4. Genişlemiş Spektrumlu Beta-Laktamazlar'ın Genel Özellikleri	17
3.3.4.1. TEM ve SHV Kökenli Olanlar	19
3.3.4.2. TEM ve SHV Kökenli Olmayanlar	19
3.3.4.3. İnhibitör Dirençli Beta-Laktamazlar	20
3.3.4.4. İnhibitör Dirençli ve Geniş Spektrumlu Beta-Laktamazlar	21
3.3.5. Genişlemiş Spektrumlu Beta-Laktamazların Klinik Önemi ve Tedavi Yaklaşımları	22
3.3.5.1. Beta-Laktam-Laktamaz İnhibitörlerinin GSBL Üreten Mikroorganizmaların Neden Olduğu İnfeksiyonlardaki Etkinliği	25
3.3.6. GSBL Araştırma Yöntemleri	25
3.3.6.1. Sefalosporin Direnci	26
3.3.6.2. Çift Dik Sinerji Testi	26

3.3.6.3. Üç Boyutlu Test	27
3.3.6.4. Kombine Disk Metodu	27
3.3.6.5. E-Test	27
3.3.6.6. Mikrodilüsyon Testi	28
3.3.6.7. Polimeraz Zincir Reaksiyonu	28
3.3.6.8. Otomatize Sistemlerle GSBL Tanımlanması	28
3.4. Antibiyotikler ve Özellikleri	28
3.4.1. İmipenem	28
3.4.2. Meropenem	30
3.4.3. Amoksisilin-klavulanikasit	31
3.4.4. Sefoperazon-sulbaktam	32
3.4.5. Piperasilin-tazobaktam	33
4. GEREÇ VE YÖNTEM	35
4.1. Kültür, Bakteri Suşları ve Bakteri İdentifikasyonu	35
4.1.1. Kültür ve Bakteri İdentifikasyonunda Kullanılan Besiyerleri ve Kimyasal Testler	35
4.2. Antibiyotik Duyarlılık Testleri	40
4.2.1. Disk Difüzyon Testi	41
4.3. GSBL Saptanması	41
4.3.1. Çift Disk Sinerji Yöntemi	41
4.4. GSBL Üreten Bakterilerin Antibiyotik Duyarlılıklarının Araştırılması	42
4.5. İstatistiksel Değerlendirme:	45
5.BULGULAR	46
5.1. Cinsiyet ve Yaş Ortalaması	46
5.2. Örnekler	46
5.3. Antibiyotik Duyarlılık Oranları	48
5.4. Kliniklere Göre Antibiyotik Direncinin Karşılaştırılması	50
5.5. Suşların Duyarlılık Düzeyleri	50
5.5.1. İmipenemin MİK Düzeyleri	51

5.5.2. Meropenemin MİK Düzeyleri	52
5.5.3. Piperasilin-tazobaktamın MİK Düzeyleri	53
5.5.4. Sefaperazon-sulbaktamın MİK Düzeyleri	54
5.5.5. Amoksisilin-klavulanatın MİK Düzeyleri	55
6. TARTIŞMA	57
7.KAYNAKLAR	67
8. ÖZGEÇMİŞ	78

TABLOLAR LİSTESİ

TABLO ADI	AÇIKLAMA	SAYFA NO
Tablo 1	Klebsiellaların Önemli Biyokimyasal Özellikleri	11
Tablo 2	Beta- laktamazların karşılaştırmalı olarak sınıflandırılması	16
Tablo 3	Amblerin beta-laktamaz sınıflandırması	17
Tablo 4	Kullanılan Antibiyotikler için Duyarlılık Kriterleri	45
Tablo 5	GSBL üreten suşların soyutlandıkları klinik örnekler ve sayısal dağılımı	47
Tablo 6	Örneklerin geldiği klinikler ve sayısal dağılımları	48
Tablo 7	Çalışılan antibiyotiklere karşı duyarlı suş sayısı ve antibiyotiklerin duyarlılık oranları	49
Tablo 8	Kliniklere göre antibiyotik direncinin sayısal dağılımı	50
Tablo 9	Çalışılan antibiyotiklerin MİK ₅₀ - MİK ₉₀ değerleri ve MİK sınırları	56

ŞEKİLLER LİSTESİ

ŞEKİL ADI	ACIKLAMA	SAYFA NO
Şekil 1	Beta-laktam halkası ve yan zincir (R)	13
Şekil 2	İmipenem'in kimyasal yapısı	29
Şekil 3	Meropenem'in kimyasal yapısı	31
Şekil 4	Amoksisilin ve klavulanik asit'in kimyasal yapısı	31
Şekil 5	Sefoperazon ve sulbaktam'ın kimyasal yapısı	32
Şekil 6	Piperasilin ve tazobaktamın kimyasal yapısı	34
Şekil 7	Çift disk sinerji yöntemi ile GSBL saptanması	42
Şekil 8	Mikrodilüsyon testi ,bulanıklığın izlenmesi ve MIC değerlerinin saptanması	44
Şekil 9	<i>E coli.</i> Suşlarında İmipenemin MİK Değerlerine Göre Sayısal Dağılımı	51
Şekil 10	<i>Klebsiella spp.</i> Suşlarında İmipenemin MİK Değerlerine Göre Sayısal Dağılımı	51
Şekil 11	<i>E coli.</i> Suşlarında Meropenemin MİK Değerlerine Göre Sayısal Dağılımı	52
Şekil 12	<i>Klebsiella spp.</i> Suşlarında Meropenemin MİK Değerlerine Göre Sayısal Dağılımı	52
Şekil 13	<i>E coli.</i> Suşlarında Piperasilin-tazobaktamın MİK Değerlerine Göre Sayısal Dağılımı	53
Şekil 14	<i>Klebsiella spp.</i> Suşlarında Piperasilin-tazobaktamın MİK Değerlerine Göre Sayısal Dağılımı	53

Şekil 15	<i>E coli.</i> Suşlarında Sefaperazon-sulbaktam'ın MİK Değerlerine Göre Sayısal Dağılımı	54
Şekil 16	<i>Klebsiella spp.</i> Suşlarında Sefaperazon-sulbaktam'ın MİK Değerlerine Göre Sayısal Dağılımı	54
Şekil 17	<i>E coli.</i> Suşlarında Amoksisilin-Klavulanat'ın MİK Değerlerine Göre Sayısal Dağılımı	55
Şekil 18	<i>Klebsiella spp.</i> Suşlarında Amoksisilin-Klavulanat'ın MİK Değerlerine Göre Sayısal Dağılımı	55

1.ÖZET

Genişlemiş Spektrumlu beta laktamazlar (GSBL) 1980'lerin ilk yıllarından itibaren gittikçe artan sıklıkla *Klebsiella* türleri ve *Escherichia coli* suşlarında en önemli sefalosprin direnci haline gelmiştir. GSBL' lerle ilgili en yaygın kaygı bu direncin ülkemizin de içinde bulunduğu geniş coğrafi bölgelerdeki hızlı yayılımıdır. GSBL suşlarına karşı etkin antibiyotik seçeneklerinin az olmasından dolayı GSBL suşlarının yol açtığı enfeksiyonların tedavisi önemli bir sağlık sorunu haline gelmiştir. Bununla birlikte beta-laktamaz inhibitörlü kombinasyonların *in vitro* testlerde duyarlı bulundukları takdirde GSBL üreten bakterilerin neden olduğu enfeksiyonların tedavisinde kullanılmaları önerilmektedir.

Bu çalışmada GSBL üreten *Klebsiella* ve *E. Coli* suşlarına karşı imipinem, meropenem, sefaperazon-sulbaktam, piperasilin-tazobaktam ve amoksisilin-klavulanatın *in vitro* etkinliğini saptamayı amaçladık. Çalışmaya 230'u *E. Coli*, 43'ü *K. pneumoniae*, 27'si *K. oxytoca* olarak tanımlanmış toplam 300 adet suş alındı. Suşlar Ocak 2003 ile Mayıs-2005 tarihleri arasında Fırat Tıp Merkezi polikliniklerine başvuran hastalar ve CDC (Centers for Diseases Control and Prevention) kriterlerine göre nozokomiyal enfeksiyonu tanısı alan hastalardan izole edildi. Suşların GSBL üretimi "Çift Disk Sinerji Testi " ile saptandı. Suşların çalışılan antibiyotiklere karşı duyarlılıkları National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS) önerilerine göre broth mikrodilüsyon yöntemi ile araştırıldı.

GSBL üreten *E. coli*, *K. pneumoniae* ve *K. oxytoca*'da imipinem ve meropeneme direnç saptanmadı. *E. coli*'de piperasilin-tazobaktam %75.2, sefoperazon-sulbaktam %72.6 ve amoksisilin-klavulanat %29.3 oranında duyarlı olarak saptandı. *K. pneumoniae*'da piperasilin-tazobaktam ve sefoperazon-sulbaktam duyarlılığı eşit olup %69.8 olarak saptandı. *K. oxytoca*'da ise piperasilin-tazobaktam duyarlılığı %55.8, sefoperazon-sulbaktam %40.7 olarak bulundu. *K. pneumoniae* ve *K. oxytoca*'nın Amoksisilin-klavulanat'a duyarlılığı sırasıyla %23.3 ve %18 olarak saptandı. Sonuç olarak beta-laktamaz inhibitörü içeren kombine antibiyotiklere *K. oxytoca* ve *K. pneumoniae* suşlarının duyarlılıklarının *E. coli* 'ye göre daha düşük olduğu görüldü. Onbir adet *E. coli*, 3 adet *K. pneumoniae* ve 1 adet *K. oxytoca* olmak üzere toplam onbeş suş her üç antibiyotiğe dirençli bulundu.

E. coli ve *Klebsiella spp.* suşlarında İmipenemin MİK_{50/90} değerleri 0.5/0.5 mcg/ml, meropenemin MİK_{50/90} değerleri ise 0.12/0.12 mcg/ml olarak saptandı. Piperasilin-tazobaktam ve sefoperazon-sulbaktam'ın *E.coli* için MİK_{50/90} değerleri 8/4-64/4 ve 8/8-64/64 mcg/ml, *Klebsiella spp.* için 16/4-128/4 ve 16/16-128/128 mcg/ml olarak saptandı ve MİK₅₀ değerleri duyarlılık sınırları içinde ölçülürken, MİK₉₀ değeri *klebsiella spp.*'de her iki antibiyotik için direnç sınırları içinde, *E. coli*'de ise piperasilin-tazobaktam için az hassas sınırında, sefoperazon-sulbaktam için dirençlilik sınırında ölçüldü. Amoksisilin-klavulanat'ın MİK_{50/90} değerleri *E. coli* için 16/8-64/32 mcg/ml, *Klebsiella spp.* için 32/16-128/64 mcg/ml olarak saptandı. Amoksisilin-klavulanat'ın hem MİK₅₀ hem de MİK₉₀ değerleri direnç sınırları içinde ölçüldü.

Sonuç olarak, GSBL üreten *E. coli* ve *K. Oxytoca*'da piperasilin-tazobaktam sefoperazon-sulbaktama göre *in vitro* olarak daha etkin bulunmuştur. *K. pneumoniae*'da ise her iki antibiyotiğin etkinliği eşit bulunmuştur. Bu iki antibiyotiğin komplike olmayan ve hayati önemi bulunmayan enfeksiyonların ampirik tedavisinde kullanımının daha uygun olacağını ve hayatı tehdit eden ciddi sistemik enfeksiyonlarda ise mutlaka duyarlılık testleri sonuçlarına göre kullanılması gerektiğini düşünmekteyiz. Amoksisilin-klavulanat bu etkenlere bağlı enfeksiyonların tedavisinde yeterli etkinlikten oldukça uzak görünmektedir. İmipenem ve meropenem GSBL üreten suşların tedavisinde güvenle kullanılabilecek ajanlardır.

Anahtar Kelimeler: GSBL, *E. Coli*, *Klebsiella spp.*, MİK, imipenem, meropenem, amoksisilin-klavulanat, sefoperazon-sulbaktam, piperasilin-tazobaktam.

2. ABSTRACT

Investigation of the Susceptibility of Extended Spectrum Beta-Lactamase Producing *Escherichia Coli* and *klebsiella Spp.* to Carbapenems and Beta-Lactamase Inhibitor Combinations

Extended Spectrum Beta Lactamases (ESBL) which are the most significant cephalosporin resistance among *Klebsiella* and *Escherichia coli* has been continuously increasing since from the first detection at early 1980's. The common concern about the ESBLs is the rapid spreading of the resistance in a wide geographic locations including our country . due to the fact that there is a limited number of alternative agents which are effective for ESBL strains, the therapy of the infection caused by ESBL strains is become a considerable health problem. Besides Beta-Lactamase inhibitor combinations are suggested as to be usable in the due to ESBL producing bacterias infections, whether they are found effective in *in vitro* tests.

In this study, it was aimed to determined *in vitro* activity of imipenem, meropenem, cefoperazone-sulbactam, piperacillin-tazobactam ve amoxicillin-clavulanic acid against to ESBL producing *Klebsiella* and *E.Coli* strains. A total of 300 strain, of which 230 *E.Coli*, 43 *K. pneumoniae* and 27 *K. oxytoca* were included in to the study. These strains were isolated from the impatients who had been visited Firat Medical Center's policlinics and who had been established nasocomial infection diagnosis according to CDC (Centers for Diseases Control and Prevention) criteria between January 2003 and May 2005. ESBL production of the strains were determined by using Double-Disk Synergy (DDST) Test . The susceptibility of the strains against to the studied antibiotics were investigated with broth microdilution metho to the recommendations of NCCLS (National Committee for Clinical Laboratory Standards).

Any resistance to imipenem and meropenem among ESBL producing bacterias of which are *E.Coli* and *Klebsiella Spp.* was not detected. Susceptibilities of *E.Coli* strains to piperacilin- tazobactam, cepherazon-sulbactam and amoxicillin-clavulanic acid were found as 75.2%, 72.6% and 29.3% , respectively. Piperacilin- tazobactam and cepherazon-sulbactam were determined as equally active as 69.8% to *K. pneumoniae* strains.

Susceptibilities of *K. oxytoca* strains to piperacillin-tazobactam and cephoperazon-sulbactam were found as 55.8% and 40.7%, orderly. The susceptibility of amoxicillin-clavulonic acid among *K. pneumoniae* and *K. oxytoca* strains was detected as 23.3% and 18%, respectively. Thus *E. coli* strain were observed as more susceptible to beta-lactamase inhibitor combinations than those of *Klebsiella* strains. Eleven *E. coli*, three *K. pneumoniae* and one *K. oxytoca* were found resistant to all three agents.

MIC_{50/90} values of imipenem among *E. coli* and *Klebsiella spp.* were determined as 0.5/0.5 mcg/ml, MIC_{50/90} values of meropenem of these pathogens were 0.12/0.12 mcg/ml. MIC_{50/90} values of piperacillin-tazobactam and cephoperazon-sulbactam of *E. coli* were found 8/4-64/4 ve 8/8-64/64 mcg/ml, of *Klebsiella spp.* 16/4-128/4 ve 16/16-128/128 mcg/ml, respectively. MIC₅₀ values of piperacillin-tazobactam and cephoperazon-sulbactam for both bacterial strains were observed in susceptibility breakpoints, whereas MIC₉₀ values of the both antibiotics in *Klebsiella* strains were determined in resistance limits. However, in *E. coli* strains, MIC₉₀ values of piperacillin-tazobactam were found in intermediate susceptibility but, MIC₉₀ values of cephoperazon-sulbactam were found in resistance limits. MIC_{50/90} values of amoxilin-clavulanic acid for *E. coli* strains were found 16/8-64/32 mcg/ml; for *Klebsiella spp.* were found 32/16-128/64 mcg/ml, orderly. Therefore, neither MIC₅₀ nor MIC₉₀ values of amoxilin-clavulanic acid were found in susceptibility breakpoints for both group of organism.

As a result, piperacillin-tazobactam was found relatively more active against to ESBL producing *E. coli* and *K. oxytoca* strains, than the cephoperazon-sulbactam. Both antibiotics were found equally sensitive in *K. pneumoniae* strains. We have commenced that these antibiotics could be more useful for empirically managements in non-complicated or non-life threatening infections. They might be used in life-threatening infections as long as the following susceptibility tests. Owing to the determined activity of amoxilin-clavulanic acid, it seems to be far away from the safely utilization in ESBL infections. Still imipenem and meropenem is remaining the most active antibiotics in the case of ESBL infections.

Key-Words: ESBL, imipenem, meropenem, cephoperazon-sulbactam, piperacillin-tazobactam, amoxilin-clavulanic acid

3.GİRİŞ

Antibiyotiklere karşı direnç gelişimi her geçen gün artmakta ve dirençli bakterilerin neden olduğu enfeksiyonlar morbidite ve mortaliteyi ciddi derecede arttırarak önemli bir sorun olarak karşımıza çıkmaktadır. Bakterilerin antibiyotiklere karşı oluşturdukları dirençte en sık kullandıkları mekanizmalardan biri, sentezlenen enzimler ile ilacın inaktive edilmesidir. Beta-laktam grubu antibiyotikleri hidroliz eden beta-laktamaz enzimleri bu tip dirence en iyi örnektir (1, 2). Başta *E. coli* olmak üzere bütün gram negatif bakterilerde sık olarak bulunan TEM-1 ve TEM-2 ve özellikle *Klebsiella* suşları tarafından sentezlenen SHV-1 en yaygın beta-laktamazlardır. Sayıları 600'e ulaşan beta-laktamazlardan yaklaşık yarısını oluşturan genişlemiş spektrumlu beta-laktamazlar (GSBL), çoğunlukla TEM-1, TEM-2 ve SHV beta-laktamazlarından bir veya birkaç aminoasit değişikliği ile oluşmuşlardır. Bunun yanında TEM veya SHV kökenli olmayan GSBL'ler de saptanmaktadır (3-6, 19).

GSBL'ler *Enterobacteriaceae* üyelerinin birçoğunda görülse de en sık *Klebsiella pneumoniae*, *Klebsiella oxytoca* ve *E. coli*' de saptanır (2, 7). GSBL enzimlerinin *Klebsiella* türlerinde yaygın olmalarının nedenlerinden biri bu organizmaların deri ve yüzeylerde diğer enterik bakterilere göre daha uzun süre canlı kalabilmeleridir (25).

GSBL'ler ilk kez 1980'li yıllarda beta-laktamazlara dayanıklı, genişlemiş spektrumlu sefalosporinlerin geliştirilmesinden kısa bir süre sonra tespit edilmeye başlanmış ve ilk GSBL enzimi 1983 yılında Almanya'da bir *K. pneumoniae* suşunda tanımlanmıştır (2). Bu tarihten sonra birçok ülkeden GSBL enzimlerini bildiren çalışmalar sıralanmış ve GSBL enzimleri yaklaşık 10 yıllık bir süre içinde tüm dünya için ciddi bir sağlık sorunu haline gelmiştir. Ülkemiz de dahil olmak üzere tüm dünyada görülme sıklıklarındaki bu hızlı artış, GSBL enzimleri ile ilgili başlıca kaygılardan biridir (25). Kromozomal kaynaklı GSBL üretimi bildirilmekle birlikte üretimin genellikle plazmid kaynaklı olması bakteriler arasındaki hızlı yayılımın en önemli nedenidir (2,5). GSBL üreten suşların çoğu hastane kökenli olup toplum kökenli suşlarda bu enzimlerin üretimi daha az görülmektedir. Özellikle beta-laktam antibiyotik kullanımının yaygın olduğu hastane ortamının selektif baskısı altında, GSBL

üreten bakteri kolonizasyonları görülmekte ve plazmidler aracılığıyla bakteriden bakteriye taşınarak nozokomiyal salgınlara neden olmaktadır (25).

GSBL enzimleri ile ilgili bir diğer önemli problem ise bu enzimleri üreten mikroorganizmaların neden olduğu enfeksiyonların tedavisidir. GSBL'lerin tüm penisilinleri, 1., 2. ve 3. kuşak sefalosporinleri ve aztreonamı hidrolize etmeleri ve çoğu zaman değişik mekanizmalarla aminoglikozitler, kinolonlar, trimetoprim-sulfametoksazol gibi beta-laktam dışındaki antibiyotik gruplarına karşı direnç geliştirmeleri, GSBL taşıyan mikroorganizmaların neden olduğu enfeksiyonların tedavisinde uygulanacak tedavi seçeneklerini kısıtlamaktadır. Karbapenemler, GSBL üreten bakterilere karşı kullanılabilecek en etkili antibiyotik olma özelliklerini hala devam ettirmektedirler (8,10). Fakat pahalı olmaları ve sık kullanılmalarından dolayı ileride gelişmesi muhtemel karbapenem direncinin önlenmesi için alınacak tedbirlerden en önemlisi bu ajanlara alternatif tedavi seçeneklerinin geliştirilmesidir. Beta-laktam+beta laktamaz inhibitörü kombinasyonları GSBL taşıyan bakterilerle oluşan enfeksiyonların tedavisinde duyarlı bulundukları taktirde alternatif tedavi seçeneği olarak uygulanabilmektedirler. Sonuç olarak hem hızlı yayılma eğilimleri hem de tedavi seçeneklerinin kısıtlı olması GSBL üreten mikroorganizmaların neden olduğu enfeksiyonlarda mortalite ve morbiditeyi ciddi derecede arttırmakta ve tedavi maliyetleri üzerinde olumsuz sonuçlara neden olmaktadır (9).

Bu çalışmada; Fırat Üniversitesi Tıp Fakültesi Enfeksiyon Hastalıkları ve Klinik Mikrobiyoloji laboratuvarında, polikliniklerden ve Centers for Diseases Control and Prevention (CDC) kriterlerine göre hastane enfeksiyonu tanısı almış yatan hastalardan enfeksiyon etkeni olarak izole edilen ve *E. coli* ve *Klebsiella spp.* suşlarında Çift Disk Sinerji Testi (ÇDST) ile GSBL üretimi saptanmış; imipenem, meropenem ve duyarlı bulundukları taktirde karbapenemlere alternatif olarak kullanılabilecek sefaperazon-sulbaktam, piperasilin-tazobaktam ve amoksisilin-klavulanat duyarlılıklarının NCCLS kriterlerine uygun olarak mikrodilüsyon yöntemi ile incelenerek Minimum İnhibitör Konsantrasyonları (MİK) değerlerinin belirlenmesi amaçlanmıştır.

3.1. ESCHERICHIA COLI

Escherichia coli, ilk kez 1855 yılında Escherich adında bir araştırmacı tarafından infantların dışkılarından izole edilmiş ve *Bacterium coli* olarak adlandırılmıştır. Daha sonraları izole eden kişinin adı verilerek *Escherichia coli* olarak tanımlanmıştır (11, 12).

Enterobacteriaceae familyası içerisinde yer alan, kuşların ve memelilerin normal barsak florasında bulunan *E. coli*, 2-6 µm boyunda, 1-1.5 µm eninde, düz, uçları yuvarlak bir gram negatif basildir. Genellikle etraflarında bulunan kirpikleri aracılığıyla hareketli olmakla beraber hareketleri yavaştır. Bazı suşlarda kapsül veya mikrokapsül bulunmaktadır (11, 12).

Fakültatif anaerob olup 15-45 derecelerde üreyebilmekle birlikte optimal üreme ısıları 37 °C'dir. Ortalama pH 7-7.2'de, buyyon ve jeloz gibi genel besiyerlerinde kolayca ürerler. Buyyon ve peptonlu suda yoğun üreme gösterirler ve homojen bulanıklık yaparlar. Agarda genellikle 2-3 mm çapında parlak, düzgün kenarlı, konveks, gri-beyaz renkte S tipi koloniler yaparlar. Tekrarlanan pasajlarda ise kaba-mat ve granüler R tipi koloniler oluştururlar. Bazı kökenler, özellikle idrar yolu infeksiyonlarından soyutlananlar kanlı agarda hemoliz yapabilirler. Kapsüllü suşlar ise mukoid koloniler oluşturabilirler. Şekerleri ve diğer karbonhidratları asit ve gaz oluşturarak parçalarlar. Laktoza olan etkileri ve gaz oluşturması diğer barsak bakterilerinden özellikle *Salmonella* ve *Shigella*'lardan ayırımında önemli bir özelliktir. Bu nedenle pratikte laktoz negatif bakterilerden ayırt edilmesinde içinde laktoz ve bir ayıraç bulunan çeşitli besiyerleri kullanılır. İçinde laktoz ve eozin metilen mavisi bulunan EMB agarda ve içinde laktoz, sodyum sülfid, diyament füksin içeren Endo agarda mavi- siyah yeşilimsi parlaklık veren koloniler oluştururken McConkey ve *Salmonella-Shigella* (SS) agarda kırmızı koloniler oluştururlar (11, 12, 13).

E. coli bakterilerinin IMVIC olarak bilinen biyokimyasal özellikleri (Tryptofandan indol oluşturma, Metil kırmızısı testi, Voges Proskauer testi, sitratı kullanma) (+ + - -) olarak gösterilir. Ayrıca oksidaz negatif olup üreyi parçalayamazlar. Bazı kökenleri dışında Hidrojen sülfür oluşturamazlar, ancak sisteinli besiyerinde az miktarda H₂S yaptıkları saptanmıştır. Katalaz pozitif, potasyum siyanür testi olumsuzdur (11, 12).

E. coli dış etkilere oldukça dayanıklı bir bakteridir. 55 °C’de bir saat, 60 °C’ de 20-30 dakika, oda ısısında uzun süre canlı kalırlar. Soğuğa dirençli, dezenfektanlara karşı ise dirençsizdirler. *E. coli*’nin O (somatik), H (kirpik), K (kapsül) antijenleri bulunmaktadır. Basil, O antijenlerine göre gruplara, H ve K antijenleriyle de serovarlara ayrılır (11, 13). Hastane ortamında güç yaşayan bir bakteri olduğundan bu bakteriye bağlı hastane infeksiyonlarının çoğu endojendir ve barsak florasından köken almaktadır. Buna karşın son yıllarda çoğul dirençli suşlar hastane infeksiyonlarında izole edilmeye başlamıştır. İlk kez 1940 yılında *E. coli*’de beta-laktam direncine yol açan ve penisilnaz adı verilen enzimler elde edilmiştir (14). 1960’ların sonlarında ampisilin ve diğer aminopenisilinlere karşı *E.coli*’nin direnç geliştirmesi hastane enfeksiyonlarında büyük bir problem olmaya başlamıştır (15, 16). 1965 yılında ilk kez ampisiline dirençli *E. coli* suşları izole edilmiş ve direnci sağlayan beta-laktamaza TEM-1 adı verilmiştir (17). 1980’li yıllara kadar, kullanımda olan geniş spektrumlu beta-laktamların etkisine direnç yanıtı, geniş spektrumlu beta-laktamazlar olan TEM-1, onun varyantı TEM-2 ve SHV-1 olarak kalmıştır. SHV-1 *Klebsiella pneumoniae*’da genellikle kromozomal, *E.coli*’de ise genellikle plazmidik olarak bulunur. 1980’li yıllarda ise Gram-negatif bakteri infeksiyonları için oldukça fazla kullanılan yeni sefalosporinlere yada diğer deyimle genişlemiş spektrumlu sefalosporinlere (oksiiminosefalosporinler, üçüncü kuşak sefalosporinler) karşı genişlemiş spektrumlu beta-laktamazlar (GSBL)’in üretimi yanıtı gelmiştir. GSBL ilk kez 1983 yılında Almanya’da bir *K. pneumoniae* suşunda tanımlanan SHV-2 enzimidir (18). Bu enzim daha sonra *E.coli* ve diğer Enterobacteriaceae familyasında görülmüş olup sonra pek çok çeşitli GSBL enzimi tanımlanmıştır (19).

E. coli memelilerin ve kuşların normal barsak florasında bulunur. Burada diğer flora bakterileri ve organizma ile bir denge altında kaldığı sürece hastalık yapmaz. Normal koşullarda kokuşma (putrefaksiyon) ve mayalaşma (fermentasyon) dengesinin düzenlenmesinde ve besinlerin sindirilmesi ile ilgili bazı hususlarda yardımcı olur. Ancak *E. coli* suşları insanlar ve hayvanlar için patojen olup barsak hastalıklarına neden olur. Barsak kanalı dışına çıkıp diğer dokulara yerleşmeleri ve çeşitli klinik tablolara yol açmaları sık görülen durumlardır. Özellikle idrar yolları, safra kesesi, periton ve meninkslere ulaşan

E.coli bakterileri önemli hastalıklara yol açarlar. Organizmanın normal savunma gücünün azalması, örneğin yeni doğanlarda, yaşlılarda diğer hastalıkların terminal dönemlerinde, immünoşüpresyon durumlarında venöz ve üretra kateterizasyonlarından sonra koliform bakterilerin doku ve kana yayılması için gerekli koşullar ortaya çıkar (20).

E.coli'nin neden olduğu hastalıklar, gastrointestinal sistem (GİS) infeksiyonları ve diğer doku infeksiyonları olarak iki gruba ayırabiliriz. Daha çok diyare sendromu şeklinde ortaya çıkan GİS infeksiyonları, *E.coli*'nin özel "O" serovarları tarafından meydana getirilirler. Küçük çocuklarda ortaya çıkan ishaller daha çok hastane ve kreşlerde salgınlar şeklinde görülür. Büyükler çoğu kez hasta çocuklardan infekte olurlar. Bununla beraber turist ishali adı verilen bir ishalde de sorumlu etkenlerin enteropatojenik *E.coli* suşları olduğu bilinmektedir. Ağır ishal olgularında bu suşlar çocukların ince barsaklarında hatta duodenumda bol sayıda bulunmaktadır. Değişik mekanizmalarla ishale neden olan *E. coli*'lerin 6 tipi tanımlanmıştır (27-30).

1. Enterotoksijenik *E.coli*
2. Enterohemorajik *E.coli*
3. Enteroinvazif *E.coli*
4. Enteropatojenik *E.coli*
5. Enteroagregatif *E.coli*
6. Diffüz adezif *E.coli*

Normal barsak florasında bulunan *E.coli* suşları herhangi bir nedenle bulundukları yerin dışına başka dokulara geçme olanağını buldukları taktirde çeşitli ve bazen önemli infeksiyonların oluşmasına neden olabilirler. En çok üriner sistem, safra kesesi, meniksler, akciğer ve peritona ulaşan *E.coli* suşları bu organların süpüratif infeksiyonlarını meydana getirir. Bunların dışında prostatitler, çeşitli perineal abseler, daha az olmak üzere tonsillit, farenjit, sinüzit, otit, yara infeksiyonları gibi lokalize infeksiyonlara rastlanmaktadır (20).

3.2. KLEBSİELLA CİNSİ BAKTERİLER

Toprakta, sulara, insan ve hayvanların barsakları ile üst solunum yollarının normal florasında bulunurlar. *Enterobacteriaceae* ailesinin özelliklerini gösteren hareketsiz, sporsuz, çoğunlukla kapsüllü, 0.7- 1.5 x 2.0-

5.0 µm boyutlarında, bazen ikişer ikişer bazen kısa zincir oluşturan çomak şeklinde bakterilerdir. Gram negatif olup bakteriyolojik boyalarla iyi boyanırlar. Kapsül, organizmadan yeni ayrılan ve hastalık materyali içindeki bakterilerde açık seçik ve geniş olarak görülür. Kanlı, serumlu besiyerlerinde kapsüllerini saklı tutarlar. En iyi glikozlu besiyerlerinde kapsüllenirler (20).

Klebsiellalar tüm barsak bakterileri gibi genel kullanım besiyerlerinde kolayca ürerler. Ortalama pH: 7 ve optimal 37 °C üremeleri için en iyi ortamdır. Buyyon gibi sıvı besiyerlerinde homojen bir bulanıklık ve dipte müköz bir çöküntü yaparak ürerler. Katı besiyerlerindeki kolonileri tipik mukoid nitelikte, büyük, sarımtırak gri renkte ve akıcı kolonilerdir. Uygunsuz koşullarda S ve R kolonilerine dönüşebilirler. Aerop ve fakültatif anaerop olup ürediği ortama bol kapsül maddesi salarlar.

Başta glikoz olmak üzere mannitol, salisin, adonitol, inozitol ve sorbitolden, çoğu kez de laktoz ve sukrozdan gaz da yapmak suretiyle birçok şekerleri parçalarlar. Nişastadan gaz oluşturmaları önemli bir özelliktir. Hidrojen sülfür (H₂S) yapmazlar. Özellikle solunum sisteminden ayrılan bazı kökenler değişik biyokimyasal reaksiyonlar verebilirler. Klebsiellalar fenilalanini deamine etmezler. Az bir kısmı dışında jelatinaz, ornitin dekarboksilaz oluşturmazlar (Tablo – I) (20, 21).

Klebsiellalar ısıya dayanıksızdırlar ve nemli ısıda 55 °C’de yarım saatte ölürlər. Ancak kuruluğa karşı oldukça dirençli olup özellikle organik maddeler içinde kurutulursa aylarca canlı kalabilirler. Oda ısısında tutulan kültürlerde haftalarca, +4°C’de soğukta aylarca canlı kalırlar. Antibiyotiklere karşı oldukça dirençlidirler ve bu dirençleri *E.coli*’ninkinden fazladır. Hastane ortamından izole edilen kökenlerde dirençlilik düzeyi çok yüksektir. Klebsiellalarda lipopolisakkarit yapısında K antijenleri bulunmakta olup bu bakterilerin serolojik tiplendirilmeleri bu antijenlere göre yapılmıştır. Bugün K antijenine bağlı tiplendirme daha kolay olması ve bulundukları taktirde O antijenlerinin tepkimelerini engellemeleri yüzünden ön planda uygulanmaktadır. Bu antijenlere karşı elde edilmiş antiserumlarla lam ve tüp aglütinasyonları, kültür süzöntüsü ile presipitasyon ve Neufeld’in kapsül şişme reaksiyonları ile Klebsiellalar tiplendirilebilirler. Kapsül şişme reaksiyonunda aslında özgül serumlarla karşılaştırılan bakterilerin kapsül polisakkaritlerinde oluşan presipitasyon sonucunda kapsül periferinde opak bir çevre oluşmakta

olup kapsül şişmiş gibi görülmektedir. Bu deneylerle Klebsiellaların 82 K tipi antijeni gösterilmiştir (20).

Tablo 1: Klebsiellaların Önemli Biyokimyasal Özellikleri

	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	<i>Klebsiella ozaenae</i>	<i>Klebsiella rhinoscleromatis</i>	<i>Klebsiella oxytoca</i>	<i>Klebsiella Terrigena</i>	<i>Klebsiella planticola</i>
Metil kırmızısı	—	+	+	—	+	D
İndol	—			+	—	D
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	—	D	—	—	—	—
H ₂ S	—			—	—	—

(+): Olumlu, (-): Olumsuz, (D): Değişken, G:Gaz oluşturma

Klebsiellalar normal insanların %5’inin barsak ve üst solunum yolları florasında bulunurlar. Bakteriyel pnömonilerin yaklaşık %2’si bu bakteriler tarafından meydana getirilir. Akciğerlerde nekrozlar ve hemorajik konsolidasyonlarla seyreden ağır bir pnömونيye neden olurlar. Bunun dışında idrar yollarına, prostat, periton, meninksler, kulak ve sinüs boşlukları gibi organlara yerleşerek ve kana yayılarak çeşitli tipte ve ağırlıkta infeksiyonlara neden olurlar. Kapsülün patojenlikle ilişkisi kesin değildir. Klebsiellaların serbest bir toksini yoktur. Bununla beraber kültür süzüntüleri bazı hayvanlarda ölüme kadar götürebilen hemorajik lezyonlar yapmaktadırlar. Bazı klebsiellalarda enterotoksin saptanmıştır. Bazı bakteriler R plazmidlerini kolayca kabul eden ve bu şekilde antibiyotiklere karşı çoğul direnç kazanabilen bakterilerdir (20).

Üst solunum yolu ve barsak florasında bulunabilen Klebsiellaların bulundukları yerde uygun koşulların oluşması veya yerlerini değiştirerek diğer organ ve sistemlere geçmeleri halinde, bir çok hastalığa neden olurlar. Son zamanlarda özellikle hastane ortamlarında antibiyotiklere karşı direnç kazanmış kökenlerin hastane infeksiyonlarına neden olmaları bu bakterilerin önemini artırmıştır. Gram-negatif bakteri infeksiyonlarında genişlemiş spektrumlu sefalosporinlerin (oksiiminosefalosporinler, üçüncü kuşak sefalosporinler) oldukça fazla kullanılması genişlemiş spektrumlu beta-laktamazlar (GSBL)' in üretilmesine neden olmuştur. GSBL ilk kez 1983 yılında Almanya'da bir *Klebsiella pneumoniae* suşunda tanımlanmış ve SHV-2 adı verilmiştir (18).

Klebsiellaların neden olduğu pnömoniler bakteriyel pnömonilerin %2'sini oluşturur. Daha çok iki yaşından küçük ve 40 yaşından büyük kimselerde görülür. Çeşitli nedenlerle vücut direncinin kırılması, viruslara bağlı olanlar başta olmak üzere çeşitli üst solunum yolu infeksiyonları hazırlayıcı faktör olarak etki yaparlar. Klebsiellara bağlı idrar yolu infeksiyonları özellikle hastane ortamında artış göstermektedir. Piyelit, piyelonefrit ve sistit şeklinde ortaya çıkan bu tip infeksiyonlar tedaviye oldukça direnç göstermektedirler. Klebsiellalar, bu hastalıkların dışında ve daha az olmak üzere prostatit, otitis media, sinüzit, kolesistit, peritonit, anjin, menenjit ve daha az olmak üzere sepsis, karaciğer apsesi ve çeşitli organ hastalıkları yaparlar (20).

3.3. Beta-Laktam Antibiyotikler ve Genişlemiş Spektrumlu Beta-Laktamazlar

3.3.1. Beta-Laktam Antibiyotikler

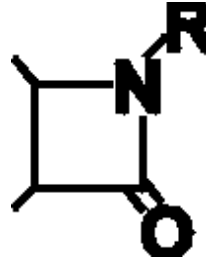
Tıp alanında kullanılmaya başlanan ilk antibiyotiklerden olan penisilinlerin keşfinden 60 yılı aşkın süre geçmesine rağmen beta laktam antibiyotikler, günümüzde pek çok hastalığın sağaltımında vazgeçilemezliğini korumaktadır. Beta-laktamlar, tüm dünyada en çok kullanılan antibiyotiklerdir (22). Ökaryotik organizmalara karşı olan düşük yan etki insidansı, tüm yaş gruplarında uygulanabilmeleri ve neredeyse tüm bakteriyel kökenli infeksiyonlarda kullanılabilmesi, üstün etkinlikleri, geniş spektrum ve güçlü bakterisit etkilerinin olması bu yoğun tercihin altında yatan sadece birkaç

nedendir. Ancak bu yaygın kullanıma paralel olarak bakterilerin de yeni direnç mekanizmaları geliştirdiği ve gerek toplum gerekse hastane kökenli etkenlerde beta-laktam antibiyotiklere direnç oranlarının giderek arttığı gözlenmektedir.

Beta-laktam antibiyotikler başlıca 5 grupta toplanabilir. Bunlar;

- a. Penisilinler
- b. Sefalosporinler
- c. Monobaktamlar
- d. Karbapenemler
- e. Beta-laktamaz inhibitörleri

Beta-laktam antibiyotiklerin ortak özellikleri, yapılarında beta-laktam adı verilen 4 atomlu bir yapı taşımalarıdır (Şekil 1). Her grup beta-laktam antibiyotiğin özelliği bu halkaya bağlanan yan zincire (R zinciri) göre belirlenir.



Şekil 1. Beta-laktam halkası ve yan zincir (R).

Tüm beta-laktam antibiyotikler, bakterilerin stoplazmik membranı üzerinde bulunan ve bakteri hücre duvarında peptidoglikan sentezinden sorumlu olan, aynı zamanda Penisilin Bağlayıcı Protein (PBP) adı verilen proteinlere bağlanarak etkilerini gösterirler. Antibiyotik, bu moleküle bağlandıktan sonra bakterinin hücre duvar sentezi gerçekleştirilememekte ve bakteri osmotik şartlar altında yapısını devam ettiremeyerek veya bölünme esnasında gerekli olan sentezin yapılamaması sonucu parçalanarak ölmektedir (23).

3.3.2. Beta-Laktam Antibiyotiklere Karşı Direnç Gelişimi

Bakteriler arasında beta-laktam ajanlara karşı direnç geliştirmek için 4 temel yol vardır.

- a. Dış membrandan geçmek için gereken kanalların (porinler) daralması veya bazı kanalların sayısının azalması (örnek: *Pseudomonas aeruginosa*'da Opr-D ve Opr-M porinlerinde down-regülasyon ile

Amp-C de-represe mutant suşlarda karbapenem direncinin sağlanması)
(23, 24).

b. Periplazmik boşlukta yerleşmiş olan bazı pompa sistemleri sayesinde içeri

girmiş olan antibiyotiğin aktif olarak dışarı pompalanması. (örnek: *Pseudomonas aeruginosa*'da Mex-A ve Mex-B efflux sistemleri)
(23,24).

c. Beta-Laktamların bağlanarak etkinliklerini gösterdikleri PBP yapısında değişiklik yaparak (konformasyonel değişim) antibiyotiğin bağlanmasının

engellenmesi veya azaltılması (örnek: *Staphylococcus aureus* suşlarının

penisilin direnci) (23).

d. Beta-laktam antibiyotikleri parçalayan beta-laktamaz enzimlerinin üretimi (genel beta-laktam direnci, hemen-hemen tüm bakteri türlerinde).

3.3.3. Beta-Laktamazlar

Beta-laktamazlar, beta-laktam halkasının amid bağlarını parçalayarak bu antibiyotikleri etkisiz hale getiren enzimlerdir. Bu enzimlerin genetik temeli kromozomlar, plazmidler veya transpozonlardır (23,25).

Beta-laktamazların tarihsel gelişimine bakıldığında, penisilin mucidi olan Dr. Alexander Fleming tarafından ilk beta-laktamaz belirtilmiştir. Daha sonra, üretilen her yeni antibiyotiğin kullanıma girişinin ardından değişen zaman süreçleri içinde o antibiyotiği hidrolize eden yeni enzimler ortaya çıkmış ve tanımlanmıştır. Bu gün bilinen 600 civarında klinik olarak farklı değer taşıyan, beta-laktamaz enzimi bulunmaktadır. Beta-laktamaz enzimleri bazı özellikleri göz önüne alınarak çeşitli sınıflandırmalara tabi tutulmuştur. Ambler, beta-laktamazları aminoasit ve nükleotit dizilerine (Moleküler Sınıflama), Sykes ve Richmond, izoelektrik noktalarına, Bush ise biyokimyasal (substrat profili) özelliklerine göre sınıflandırmışlardır. Günümüzde A, B, C ve D olmak üzere temelde 4 çeşit beta-laktamaz enzimi bulunmaktadır (23,25).

3.3.3.1 Grup A: Aktif bölgesinde serin aminoasiti taşırlar. Öncelikli olarak penisilinleri hidrolize ederler. Gram olumsuz bakterilerde çok sık rastlanan TEM-1 tipi enzimler bu grubun en iyi örnekleridir (23,25).

3.3.3.2 Grup B: Aktivasyon için çinko veya bakır gibi divalan katyonlara gereksinim duyan metallo enzimlerdir. Klasik inhibitörlere dirençli olan bu enzimler, EDTA ve merkaptobileşikler gibi metal şelatörleri ile inhibe olurlar. Son 10 yılda plazmidlerle aktarılabılır hale geldikleri saptanmış olduğundan insan sağlığı açısından ciddi bir tehdit olarak ortaya çıkmıştır. Karbapenemler başta olmak üzere hemen-hemen tüm beta-laktam antibiyotiği hidrolize edebilme potansiyelleri vardır. Ülkemizde henüz çok az sayıda tanınmasına rağmen, izole edilen suşların hemen-hemen tüm beta-laktam antibiyotiğe karşı dirençli olduğu bildirilmiştir (26).

3.3.3.3 Grup C: Yine aktif bölgelerinde serin taşıyan beta-laktamazlardır. Esas olarak sefalosporinaz aktiviteleri vardır (23,25).

3.3.3.4 Grup D: Oksasilini hidrolize eden enzimlerdir. Jacoby sınıflandırması ile 1995 yılında Bush'un yaptığı listeye eklenmiştir (23,25).

Beta-laktamaz enzimlerinin kısaca sınıflandırılması ve karşılaştırılması Tablo 2'de

Tablo 2. Beta- laktamazların karşılaştırmalı olarak sınıflandırılması

Bush, Jacoby, Medeiros	Sykes ve Richmond	Ambler'in Moleküler Sınıflaması	İnhibe Olan Antibiyotik	İnhibitör		Temsilci Enzimler
				Klav.	EDTA	
1	Ia,Ib,Id	C	SS	-	-	Gm (-) bakterilerin kromozomal ve plazmid kökenli AmpC enzimleri (MIR-1,BIL-1, MOX-1..vb.)
2a		A	Pen	+	-	Gm (+) bakterilerin penisilnazları (NSP-1 (P), S. aureus (P)..vb.)
2b	III	A	Pen, SS	+	-	TEM-1SHV- 1..vb
2be	IV	A	Pen, SS Mbact	+	-	TEM-3..29, TEM- 42..43.60., 61 (P), SHV- 2.K-1..
2br		A	Pen	+	-	TEM-30..41..59
2c	II,V	A	Pen Crb	+	-	PSE-1, PSE-3, PSE-4 ROB-1, OHIO- 1, LXA-1.. OXA-1-21, PSE-2
2d	V	D	Pen Cloks	+	-	
2e	Ic	A	SS	+	-	P. vulgarisin indüklenebilir sefalosporinazı
2f		A	Pen SS Car	+	-	E. cloaca'nın NMC-A ve Serratia'nın Sme-1 enzimi X.
3		B	CAR ve tüm B-lac	-	+	malphtilia'nın L1ve B. Fragilis'in Cer- A enzimi
4		?	Pen	-	?	P. cepacia'nın penisilnazları

Kısaltmalar: Pen: Penisilin, SS: Sefalosporin, Mbact: Monobaktam, Crb: Karbenisilin, Cloks: Kloksasilin

Ambler'in moleküler sınıflandırılması günümüzde daha çok kullanılmaktadır. Tablo 3' de gösterilmiştir.

Tablo 3. Amblerin beta-laktamaz sınıflandırması**Beta-Laktamazların Sınıflandırılması**

Ambler'in genetik sınıflaması	Grup	Enzim Tipleri	Hidroliz-Spektrum Özellikleri	Organizma	Yerleşim
A	2b	Dar spektrumlu beta-laktamazlar TEM-1, TEM-2, SHV-1	Amino ve karboksi penisilinler. Klavulanat duyarlı	Enterobacteriaceae P. aeruginosa (+)	Plazmid ve Kromozomal aracılı
A	2be	Geniş spektrumlu beta-laktamazlar TEM-3..29..42., SHV-2..12..	Geniş spektrumlu beta-laktamlar Klavulanat duyarlı	Enterobacteriaceae K. pneumoniae (++) P. aeruginosa (+)	Plazmid aracılı
A	2br	İnhibitör dirençli beta-laktamazlar TEM-30, TEM-41,44,45,51..	Amino ve karboksi penisilinler. Klavulanat dirençli	Enterobacteriaceae E. coli (++)	Plazmid aracılı
A	-	İnh. Dirençli ve geniş spektrumlu beta-laktamazlar SHV-10, TEM-33,15..	Geniş spektrumlu beta-laktamlar Klavulanat dirençli	E. coli	Plazmid aracılı
A	-	Karbapenemazlar NmcA, Sme-1, IMI-1..	Karbapenemler ve aztreonam Klavulanat duyarlı	E. cloaca S. mercenscens	Kromozomal
B	3	Karbapenemazlar IMP-1	Geniş spektrumlu beta-laktamlar, karbapenemler Klavulanat dirençli	Enterobacteriaceae P. aeruginosa	Plazmid ve kromozom aracılı
D	2d	OXA-11...21	Penisilinler, kloksasilin Klavulanat dirençli	Enterobacteriaceae P. aeruginosa	Plazmid aracılı
C	1	Plazmid aracılı sefalosporinazlar: MIR-1, MOX-1, CMY-1..5, .. FOX-1, LAT-1,	Sefamisinler, oksimnasefalosporinler, ve aztreonam, Klavulanat dirençli (MOX-1 Hariç)	Enterobacteriaceae K. pneumoniae (++)	Plazmid aracılı

Tablolardan anlaşılacağı üzere, beta-laktamazlar için çeşitli enzim sınıflamaları geliştirilmiştir. Bu enzimlerin klinik önemleri ve antibiyotik tedavi protokolleri değişkendir. Son 20 yılda özellikle hastane ortamlarında Gram olumsuz bakteriler arasında hızla yayılan, hasta sağlığı ve tedavi maliyetleri açısından ciddi olumsuzlukların gelişmesine neden olan genişlemiş spektrumlu beta-laktamazlar, A grubu enzimlerdendir.

3.3.4. Genişlemiş Spektrumlu Beta-Laktamazlar'ın Genel Özellikleri

Bin dokuz yüz yetmişli yılların sonu ve 1980'li yılların başında 3. kuşak sefalosporinler kullanıma girdiğinde, Gram olumsuz enterik çomaklar içinde bu antibiyotikleri hidrolize edebilecek plazmid bağlantılı herhangi bir beta-laktamaz enzimi yoktu. İlk olarak 1983 yılında Almanya'da bir *Klebsiella*

pneumoniae suşunda seftazidim ve sefotaksimi belirgin değerlerde hidrolize eden ilk GSBL enzimi tanımlandığında bunun klasik SHV-1 beta-laktamazın bir mutant formu olduğu anlaşıldı. Bundan dolayı, yeni bulunan bu enzime SHV-2 beta-laktamaz adı verildi. Bunu Fransa'dan diğer bir mutant enzim bildirisi takip etti. Bu yeni bulunan enzim ise TEM-2 beta-laktamazdan genetik olarak sadece İki aminoasit farklıydı (23, 25). Bu tarihlerden sonra birçok ülkeden genişlemiş spektrumlu beta-laktamaz enzimlerini bildiren çalışmalar sıralandı. GSBL enzimleri yaklaşık 10 yıllık bir süre içinde tüm dünya için ciddi bir sağlık sorunu haline geldi (31,32).

Bulunuşundan günümüze kadar GSBL'lerin sayısında ve çeşidinde hızlı bir artış dikkati çekmiştir. Bu enzimler enterik çomaklarda sınırlı kalmayarak *pseudomonas* ve *acinetobacter* gibi non-fermentatif etkenlere de yayılmışlardır (33). Bunun yanında, sadece bu tip bakteriler tarafından üretilen özel GSBL'ler bildirilmiştir (34). Ülkemizde 1992 yılından beri GSBL'ler araştırılmakta ve bildirilmektedir (35-37).

TEM ve SHV tip beta-laktamazların mutant formu olan genişlemiş spektrumlu beta-laktamazlar, orijinal enzimlerin aksine geniş spektrumlu sefalosporinleri, aztreonamı ve diğer tüm penisilinleri hidrolize ederler. Ancak sefamisinler bu kuralın dışında kalır (24).

GSBL enzimlerinin yayılımı hakkında bir çok epidemiyolojik çalışma vardır. İngiltere, İspanya, Portekiz, İtalya Yunanistan, ABD, Kuzey Afrika, Güney Amerika, Japonya ve Çin başta olmak üzere hemen-hemen tüm uzak doğu ülkelerinde tespit edilmiştir (6). Predominant tipler coğrafi olarak değişiklik göstermektedir. Mesela; SHV-2 ve SHV-5 Almanya'da, SHV-3, SHV-4 ve TEM-3 Fransa'da, ve SHV-5 ise Yunanistan'da daha yaygın enzimlerdir (38). Türkiye de dahil olarak uluslar arası en yaygın tip SHV-2'dir (6).

GSBL enzimlerinin, başta *K. pneumoniae* olmak üzere kökeni, *Enterobacteriaceae* ailesidir (23,39). Özellikle hastane kökenli *K. pneumoniae* infeksiyonlarında GSBL ciddi bir sorun olarak karşımıza çıkmaktadır (9,22,40). Genişlemiş spektrumlu beta-laktamaz fenotipleri ülkeler, şehirler ve hatta hastaneler arasında dahi farklılık gösterebilmektedir (25).

GSBL enzimleri hakkında duyulan başlıca kaygılardan biri, ülkemiz de dahil olmak üzere tüm dünyada görülme sıklığındaki hızlı bir artıştır (23,25).

Klebsiella pneumoniae suşlarının hastanın derisinde olabildiğinden daha uzun süre yaşayabilmesi, GSBL enzimlerinin *klebsiella*'larda neden fazla gözlemlendiğinin önde gelen nedenidir (25). Plazmidlerle aktarım, direncin hızlı yayılımında başlıca öneme sahiptir (2,38).

Bazı yazarlar tarafından GSBL enzimleri 6 ana başlık altında incelenmiştir (33). Bunlar;

3.3.4.1. TEM ve SHV kökenli olanlar

3.3.4.2. TEM ve SHV kökenli olmayanlar

3.3.4.3. İnhibitör dirençli beta-laktamazlar

3.3.4.4. İnhibitör dirençli ve geniş spektrumlu beta-laktamazlar

3.3.4.5. Karbapenemazlar

3.3.4.6. Plazmid aracılı sefalosporinazlar (sefamisinazlar)

3.3.4.1. TEM ve SHV kökenli olanlar

GSBL enzimleri esas olarak TEM ve SHV türü enzimlerden 1 ila 4 aminoasit değişikliği ile oluşurlar. Bu gün için aminoasit dizilimi tanımlanmış TEM kökenli 66, SHV kökenli 12 çeşit GSBL enzimi mevcuttur. TEM ve SHV tip GSBL enzimleri, klavulanat, sulbaktam ve tazobaktam gibi beta-laktamaz inhibitörlerine duyarlı olabilmektedir. Ancak bu inhibitörlerden en etkinini klavulanat'dır. Sulbaktamın ise oldukça sınırlı bir etkinliği olabilmektedir. TEM ve SHV tip GSBL enzimlerinin klinik olarak önemli özelliklerinden biri de çok hızlı yayılabilme yetenekleridir. Dolayısıyla bu enzimler, hastanelerde ciddi problemlere neden olmaktadır (25).

3.3.4.2. TEM ve SHV Dışı GSBL Enzimleri

Bu enzimler plazmid kaynaklı olmalarının yanında klavulanata da dirençlidirler. Moleküler sınıflamada A grubuna dahil edilen bu enzimler MEN-1, MEN-2, CTX-M1, CTX-M2, PER-1, PER-2, VEB-1 ve TOHO-1'dir. Ülkemizin de içinde bulunduğu, özellikle Avrupa kökenli çalışmalardan bildirilen TEM ve SHV dışı GSBL enzimlerinden, PER-1 dışındakiler için yeteri kadar çalışma olmadığından hakkındaki bilgi sınırlıdır.

TEM ve SHV dışı GSBL enzimlerini 4 grupta toplamak mümkündür (33).

a. MEN-1 (CTX-M1) ve CTX-M2,

- b. PER-1 ve PER-2,
- c. TOHO-1,
- d. VEB-1.

OXA Tipi Beta-Laktamazların Genişlemiş Spektrumlu Mutant Enzimleri

D grubu enzimlerden olan ve plazmidlerle aktarılan OXA tipi beta-laktamazlar, Gram olumsuz bakterilerde pek sık olmasa da görülmektedir. OXA-1'den OXA-21'e kadar tiplere ayrılmıştır (25). Bu enzimi üreten bakteriler genellikle geniş spektrumlu sefalosporinlere, monobaktamlara ve karbapenemlere karşı duyarlıdırlar. Tipler arasında etkinlik bakımından değişkenlik bulunabilir. Sadece aşırı üretildiklerinde 3. kuşak sefalosporinlere ve aztreonama karşı yavaş bir direnç gelişimine neden olabilirler. Seftazidim, ve sefamisin'lere ise kesinlikle duyarlı kabul edilirler (38). Ancak, son yıllarda OXA beta-laktamazların, 3. kuşak sefalosporinleri (normal düzeylerde dahi sentezlendiklerinde) oldukça hızlı bir şekilde hidrolize edebilen mutant formlarının bulunduğu bildirilmiştir. İlk tanımlanan mutant GSBL OXA enzimi bir *Pseudomonas aeruginosa* suşunda ve bir Türk hastanesinde izole edilmiş bu mutant enzime OXA-11 adı verilmiştir (41). Aminoasit dizilimleri incelendiğinde GSBL mutant OXA enzimlerinden OXA-15'in OXA-2'den; diğerlerinin ise OXA-10'dan köken aldığı gözlemlenmiştir (42). Bu enzimler, klavulanat ve sulbaktam gibi beta-laktamaz inhibitörlerinden etkilenmemektedirler.

3.3.4.3. İnhibitör Dirençli Geniş Spektrumlu Beta-Laktamazlar

Beta-laktamaz inhibitörleri klinikte kullanılmaya başlandığında bu antibiyotiklere karşı hemen hiç direnç gözlenmezken, 1997 yılından itibaren bazı amoksisilin-klavulanik asite dirençli *E. coli*' ler bildirilmeye başlanmıştır (43). Nükleotid dizilerinin incelenmesi sonucu TEM beta-laktamazlarındaki mutasyonlar sonucu GSBL'lerde olduğu gibi yeni beta-laktamaz inhibitörlerine dirençli varyantların (IRT BL) oluştuğu belirlenmiştir. TEM-50 ve TEM-68 gibi nadir örnekler dışında IRT' ler 3. kuşak sefalosporinleri hidroliz etmemektedir, buna karşın TEM veya SHV türü enzimlerden köken aldıkları için GSBL' ler ile birlikte ele alınmaktadır (44,45). Bu enzimler önceleri IRT (inhibitör rezistan TEM) olarak isimlendirilmiş, ancak daha sonra köken

aldıkları TEM yada SHV' de sıralamaya girmiştir. Örneğin IRT-1 TEM-31, IRT-2 TEM-44, IRT-3 TEM-32, IRT-14 TEM-45 olarak yeniden numaralanmıştır. Günümüzde inhibitörlere dirençli enzimlerin sayısı 22 civarındadır. IRT'ler en sık olarak *E. coli*'de bulunmakla birlikte *K. Pneumoniae*, *Klebsiella oxytoca*, *P.mirabilis* ve *Citrobacter freundii*' de de bildirilmektedir. İnhibitörlere dirençli TEM türevleri klavulanik asit ve sulbaktam ve bunların klinik kullanımda olan kombinasyonlarına dirençli, tazobaktam ve piperasilin-tazobaktam kombinasyonuna duyarlıdır (45).

3.3.4.4. Plazmid Aracılı Sefalosporinazlar (Sefamisinazlar)

GSBL'nin dışında incelenen bu enzimlerin ilk ortaya çıkışı 1980'li yılların sonuna rastlar. Bu enzimlerin ortak özelliklerinin başında klavulanat, sulbaktam veya tazobaktam ile inhibe olmamaları gelmektedir (19). Tüm sefalosporinler, monobaktamlar ve sefamisin'ler bu enzimler tarafından etkin bir şekilde hidrolize edilmektedir. *Enterobacteriaceae* ailesinin değişik üyeleri ve *P. aeruginosa* gibi non-fermentatif etkenler tarafından üretilen bu enzimlerin şimdiye kadar tanımlanmış olanları şunlardır: Amp-C, MIR-1, MOX-1 (Beta-laktamaz duyarlı), FEC-1, FOX-1, CMY-1,2, LAT-1, BIL-1. Bu enzimler, rutin uygulamalar esnasında GSBL'ler den sefamisin direnci ve inhibitör duyarsızlığı veya inhibitör sinerjizminin görülmemesi ile ayırt edilebilir (24,38).

3.3.5. Genişlemiş Spektrumlu Beta-Laktamazların Klinik Önemi ve Tedavi Yaklaşımları

Çeşitli kontrollü çalışmalar, GSBL üretimine ilişkin birbirinden bağımsız bazı risk faktörlerinin olduğunu göstermiştir. En büyük risk altındaki hastalar, hastanede veya yoğun bakımda uzun süre kalmış ve çok antibiyotik (özellikle geniş spektrumlu sefalosporin) kullanmış olan hastalardır. Hastane dışında ise bakım evleri GSBL için önemli bir kaynaktır. Cerrahi girişimler, entübasyon ve mekanik ventilasyon, kateterizasyon, immunosüpresyon, nötropeni, malignite, ileri yaş, yeni doğan dönemi, kemoterapötik kullanımı, geniş ve ciddi yanıklar GSBL olumlu bakterilerle infeksiyonun gelişimi için sayılabilecek risk faktörleridir (3,46).

GSBL üreten bakteriler, bazı hastanelerde ciddi salgınlara yol açarken, bazen de sporadik infeksiyonlardan soyutlanmaktadır. Yoğun beta-laktam kullanılan hastanelerde, antibiyotik baskısı sonucu ortamda dominant hale gelen bu suşların aşırı kolonizasyonu ve daha sonra çeşitli infeksiyonlar izlemektedir. Yoğun bakım hastalarının cilt florası 24 saat içinde fekal flora elemanları tarafından istila edilmektedir. Deride uzun süre canlılığını koruyabilen *K. pneumoniae* gibi patojenler, antibiyotik kullanımı veya uzun süreli hospitalizasyon sonucu GSBL enzimlerini kazanmakta veya dirençli suşlar seçici etki sonucu kolonize olmaktadır. Daha sonra invaziv bir girişimle veya farklı yollardan derin dokulara ilerleyerek infeksiyonlara neden olmaktadır (3,46). Hemen hemen tüm sistem infeksiyonlarına neden olabilen GSBL suşları en sık üriner sistem sonra da, solunum sistemi, yara ve kan infeksiyonlarından soyutlanmaktadır (3).

GSBL üreten bakterilerin neden olduğu infeksiyonlar bir çok yönden, GSBL (-) bakterilerin neden olduğu infeksiyonlarla karşılaştırılmıştır. GSBL üreten suşların neden olduğu infeksiyonların diğer infeksiyonlara göre hastanın hastanede yatış süresini uzattığı, tedavi maliyetlerinde ciddi artışlara neden olduğu ve morbidite oranlarının yükselmesine neden olduğu saptanmıştır (47).

GSBL taşıyan bakteriler aztreonam ve 3. kuşak sefalosporinlere ve geniş spektrumlu penisilinlere karşı direnç gösterirken, sefoksitin, beta-laktamaz inhibitörleri ve karbapenemlere karşı duyarlılıklarını genellikle sürdürürler. Ayrıca GSBL taşıyan bakteriler çoğu zaman değişik mekanizmalarla beta-laktam dışındaki tetrasiklin, kloramfenikol, trimetoprim-

sulfametoksazol, kinolon ve aminoglikozid antibiyotik gruplarına karşı da direnç geliştirebilirler (8,10,49). Bu nedenle bu mikroorganizmalar ile gelişen infeksiyonlarda tedavi seçenekleri kısıtlıdır.

Karbapenemler, GSBL üreten bakterilere karşı kullanılabilecek en etkili antibiyotik olma özelliklerini hala devam ettirmektedirler (8,10). GSBL üreten suşların hastane floralarında yaygınlaşması sonucu nozokomiyal infeksiyonlara karşı ampirik veya profilaktik olarak verilen antibiyotiklerin tedavilerinin başarısı azalmaktadır. Uygunsuz antibiyotik kullanımı sonucu GSBL üreten suşların yaygınlaşması ile karbapenem kullanımı önemli derecede artmıştır. Bu durum karbapenemler gibi son basamak antibiyotiklerin etkinliklerinde hızlı bir erozyona yol açmış ve kliniklerde özellikle non-fermentatif Gram negatif çomaklarda ki karbapenem direncinin ortaya çıkışını kolaylaştırmıştır (48). Pahalı olmaları ve sık kullanılmalarından dolayı ileride gelişmesi muhtemel karbapenem direncinin önlenmesi için alınacak tedbirlerden biri ve en önemlisi bu ajanlara alternatif tedavi seçeneklerinin geliştirilmesidir.

Yukarıda da belirtildiği gibi üçüncü kuşak sefalosporinler (seftazidim, sefotaksim, seftriakson) GSBL pozitif mikroorganizmalara etkili değildir. Antibiyotik duyarlılık testlerinde mikroorganizma inokulumunun 10^5 cfu/ml'den 10^7 cfu/ml'ye arttırılması ile birçok sefalosporinin minimal inhibitör konsantrasyonu (MİK)'nda belirgin artış görülmektedir (50). Ciddi sistemik infeksiyonlarda bakteri yoğunluğunun bu düzeye çıkabilmesi nedeniyle tedavide başarısızlık olabilir. Hayvan çalışmaları da bu inokulum etkisinin tedavide başarısızlığa neden olabileceğini göstermiştir. GSBL pozitif mikroorganizmalar antibiyotik duyarlılık testinde sefalosporinlere duyarlı olsa bile, bu mikroorganizmaların neden olduğu infeksiyonlarda üçüncü kuşak sefalosporinler kullanılmamalıdır (39). GSBL pozitif mikroorganizmaların etken olduğu üriner sistem infeksiyonlarında tedavide sefalosporinlerin etkili olabileceği gösterilmiştir. Bu durum beta-laktam antibiyotiklerin idrar konsantrasyonlarının çok yüksek olmasından kaynaklanabilir.

Sefepim aminotiazol yan zinciri içeren dördüncü kuşak sefalosporindir. Sefepim özellikle SHV türü birçok GSBL'ye in vitro etkilidir. Bununla birlikte bakteri inokulumunun arttırılması ile sefepim duyarlılığında azalma görülebilir (50,51). GSBL pozitif mikroorganizmalarla gelişen infeksiyonlarda, sefepim

kullanımı sonucu tedavi başarısızlığı veya GSBL pozitif suşların seleksiyonu görülebilir. Mevcut verilere göre sefepimin GSBL pozitif mikroorganizmalarla oluşan infeksiyonlarda kullanılması önerilmemektedir. Sefepim ile birlikte aminoglikozidlerin kombine kullanımı ile ilgili klinik çalışmalara gereksinim vardır.

Sefamisinler (sefoksitin, sefotetan ve moksalaktam) diğer sefalosporinlere göre GSBL'lerden daha az etkilenirler. TEM, SHV ve CTX-M türevi GSBL oluşturan *Enterobacteriaceae* üyesi birçok mikroorganizma in vitro olarak sefamisinlere duyarlı olmalarına rağmen ciddi enfeksiyonlarda sefamisinlerin kullanımı ile ilgili yeterli klinik çalışma yoktur. Tedavi sırasında porin mutasyonuna bağlı hızla direnç gelişmesi nedeniyle tedavi başarısızlığı görülebilir (52,53). GSBL ile birlikte AmpC tipi beta-laktamazları taşıyan mikroorganizmalar sefamisinlere dirençlidir. Ülkemizde yakın zamana kadar kullanımda olan sefoksitin artık kullanımda değildir.

Aminoglikozidler GSBL taşıyan mikroorganizmalarla oluşan infeksiyonların tedavisinde kullanılabilirler. Bununla birlikte GSBL taşıyan plazmid genleri aminoglikozid direnç genlerini de taşıyabildiklerinden sıklıkla GSBL pozitif suşlar aminoglikozidlere dirençlidir. Özellikle hastane infeksiyonlarında başlangıç tedavisi ampiriktir, aminoglikozitlerin üriner sistem infeksiyonu dışında, ampirik tedavide tek başına kullanılmaları uygun değildir.

Beta-laktamazların beta-laktam antibiyotikler dışındaki antibiyotiklere etkisinin olmaması nedeniyle, kinolonlar GSBL pozitif mikroorganizmalarla gelişen infeksiyonların tedavisinde kullanılabilecek antibiyotiklerdir. Bununla birlikte GSBL direnci ve kinolon direncinin birlikte görülme sıklığı artmaktadır. Özellikle antibiyotik baskısının arttığı durumlarda GSBL ve kinolon direnci artmaktadır. Kinolon direnci sıklıkla kromozom kökenli olmasına rağmen, kinolonlarda plazmidle aktarılan direnç de gösterilmiştir. Bu durum GSBL ve kinolon direncinin bakteriler arasında birlikte taşınma riskini de beraberinde getirmektedir (54,55).

3.3.5.1. Beta-Laktam-Laktamaz İnhibitörlerinin GSBL üreten Mikroorganizmaların Neden Olduğu İnfeksiyonlardaki Etkinliği

Beta laktamaz kökenli direncin önüne geçmek için yaklaşımlardan birisi beta-laktamaza dayanıklı olmayan bir antibiyotikle bir laktamaz inhibitörünü kombine etmektir. Pratik olarak beta-laktamaz inhibitörleri denilince klavulonik asit, sulbaktam ve onun bir derivesi olan tazobaktam akla gelir. Bunlar antibakteriyel etkileri zayıf beta-laktam molekülleridir. Bunlardan GSBL'ye en etkilisi tazobaktamdır. Bunlar beta-laktamızı dönüşümsüz (irreversibl) olarak inaktive ettiklerinden birlikte oldukları antibiyotiğin hidrolize olmasını önleyebilmektedir. Böylece antibiyotiğe dirençli olan bir çok suş bu antibiyotik-inhibitör kombinasyonuna duyarlı hale gelmektedir. Günümüzde amoksisilin + klavulanat, sefoperazon+sulbaktam, ampisilin+sulbaktam tikarsilin+klavulanat ve piperasilin+tazobaktam kombinasyonları bulunmaktadır. İn vitro ve in vivo yapılan çalışmalarda beta-laktam+beta-laktamaz inhibitörlerinin GSBL pozitif mikroorganizmalara karşı etkili olduğu gösterilmiştir. Bu nedenle duyarlı bulundukları taktirde GSBL pozitif suşların oluşturduğu infeksiyonlarda ilk tercih olan fakat fazla kullanımlarından dolayı direnç gelişimi yönünden kaygı duyulan karbapenemlere alternatif olarak kullanılabilecek antibiyotiklerdir (48).

3.3.6. GSBL Araştırma Yöntemleri

Günümüzde, günlük labaratuvar uygulamaları esnasında genişlemiş spektrumlu beta-laktamazların tanınması için kullanılan bazı yöntemler geliştirilmiştir. Bununla birlikte GSBL suşlarının saptanmasında bazı sorunlarla karşılaşmaktadır.

Öncelikle soyutlanan suşların GSBL enzimini düşük seviyede üretmesi nedeniyle in vitro deneylerde antibiyotik duyarlılığı gözlenmesine rağmen klinik kullanımda başarısızlık izlenebilir (25). GSBL üreten suşların çoğu seftazidim ve aztreonama karşı belirgin direnç gösterirken, sefotaksim'e karşı o derece dirençli olmayabilmektedir. Dolayısıyla, 3. kuşak sefalosporinlerin duyarlılığının saptanmasında sefotaksim tek başına kullanıldığında, bazen test edilen suş 3. kuşak sefalosporinlere karşı duyarlı olarak gözlenebilir. Bu durum ise hem klinik kullanımda yanılgılara, hem de GSBL'nin atlanmasına neden olacaktır. Soyutlanan suşların antibiyotik duyarlılık deneyleri esnasında

inokulum etkisi ile yalancı dirençlilik veya yalancı duyarlılık gibi durumlara rastlanılabilmektedir. GSBL saptanması için yapılacak işlemlerde belirtilen standartlara uyulmaması sonucunda bazı sorunlar oluşabilir. Mesela; seftazidim, sefotaksim ve aztreonam disklerinin klavulanata olan uzaklığı ortalama 25 mm olarak önerilmektedir (NCCLS) (20-30 mm arası). Bu değerler dikkat edilmeden yapılacak işlemler sonucu yalancı pozitif veya yalancı negatiflikler artacaktır (56).

Bazı GSBL tipleri klavulanat sinerjizmi göstermeyebilir. GSBL tanımında sinerjizmin gözlenmesine aşırı güvenmemek gereklidir (38). GSBL üreten suşlar, AmpC gibi GSBL olmadığı halde sefalosporin direnci sağlayan enzimler de üretebilmektedirler. Böylesi bir durumda, bu suşların sefamisin direncinin veya duyarlılığının saptanması; ayrıca, beta-laktam ajanlar arasında (Livermore (38) tarafından belirtildiği şekilde) antagonist zon daralmasının görülmesi enzimlerin ayırımında faydalı olacaktır.

Günümüzde, genişlemiş spektrumlu beta-laktamazların tanınması için kullanılan bazı yöntemler şöyle özetlenebilir.

3.3.6.1. Sefalosporin direnci: Test edilen bakterinin 3. kuşak sefalosporin duyarlılığında azalmanın veya direncin saptanması o suşun GSBL ürettiği hakkında şüphe uyandırmalıdır (56).

3.3.6.2. Çift dik sinerji testi: Test edilecek etken bir plağa ekildikten sonra ortaya 20+10 mg ko-amoksilav ihtiva eden disk yerleştirilip, bu diskin 25-30 mm uzağına 30 mg'lık seftazidim diski konur. Co-amoksilav diskinin diğer tarafına ise herhangi bir sefalosporin, tercihen sefotaksim yerleştirilir. Bir gecelik 37 °C' de inkübasyondan sonra sefalosporin zonunun klavulanata doğru açılması ile tanı konur. Bu yöntemin avantajı maliyetinin düşük olmasıdır. Dezavantajı ise suşlara göre disklerin optimal ayrımlarının değişebilmesidir. TEM ve SHV tip beta-laktamazlar böylelikle ayrılabilirler. CTX-M tip beta-laktamaz tesbitinde ise indikatör sefalosporin olarak seftazidim yerine sefotaksim ve sefpodoksim kullanılması daha uygundur. AmpC ve K1 enzimini aşırı üretenler ise bu üç sefalosporin ile negatif sonuç vereceklerdir (38, 56).

3.3.6.3. Üç Boyutlu Test: Bu yöntemde prensip disk difüzyon yöntemine göre işler ancak bazı noktalardan farklılıklar arz eder. Rutin uygulamalarda fazla tercih edilen bir yöntem değildir (57).

3.3.6.4. Kombine Disk Metodu: Bu metod, sefalosporin ve sefalosporin-klavulanat içeren disklerin zon çaplarının karşılaştırılması ile yapılır. GSBL varlığında klavulanik asit içeren kombinasyonun zon çapı daha geniş olacaktır. NCCLS (56) bu konuda sefotaksim - sefotaksim / klavulanat (CTX-CTX/L) ve seftazidim – seftazim / klavulanat (CAZ-CAZ/L) disklerinin kullanılmasını önermektedir (30+10 mg olarak). Bu tip disklerden ticari olarak mevcuttur (Oxoid ‘kombine disk’ / İngiltere, ve Mast MAST DD). Zali ve ark (58) NCCLS (56) için Mast DD diskleri ile çalışmalar yapmış ve bu diskler ile GSBL varlığını %93 gibi bir oranda tesbit edebilmiştir. Sadece CAZ ve CTX çiftlerinin tek başlarına kullanılması ile tespit oranı %86 ve 66 da kalmıştır (58). Diğer kombine disk sistemi olan Oxoid ise sefpodoxim –sefpodoxim / klavulanat içermektedir (10-10+1 mg). Bu disklerin kullanımında inhibitör eklenmiş taraftaki zon çapının inhibitörsüz olan taraftaki çaptan >5 mm fazla olması GSBL tanısı koymak için yeterlidir. Bu yöntem NCCLS (56)’ e göre teyid edildiğinde GSBL üreten *klebsiellalar* için yaklaşık %100 sensitivite ve spesifiteye sahiptir. Bu metod ile ayrıca GSBL üretenlerle Amp C veya K1 enzimi üreten *klebsiellalar* da ayrılabilir. AmpC ve K1 enzimi üretenler klavulanat eklenmiş tarafta herhangi bir genişlemeye veya çok az bir açılıma neden olurlar (38).

3.3.6.5. E-Test: Bir ucunda sefdazidim (TZ) [veya sefotaksim (CT)] diğer ucunda sefdazidim-klavulanat (TZL) [veya sefotaksim-klavulanat (CTL)] gradienti bulunan E-Test stripleri ile yapılır. (AB Biodisk Solna/İsveç ve Cambridge Diagnostik Service/İngiltere). Test edilecek suş plak üzerine yayıldıktan sonra strip yerleştirilir. Bir gecelik 35 °C inkübasyondan sonra TZ / TZL (veya CT-CTL) oranına bakılır. Oran 8 ve üzeri ise GSBL üretimi var demektir. Yine CTX-M tip GSBL üretiminin olduğu durumlarda CT-CTL stripleri kullanılması daha uygundur (38,56,58).

3.3.6.6. Mikrodilüsyon Testi: Pratik olarak uygulanan GSBL saptama testlerinden değildir. Yönteme göre, 3. kuşak sefalosporin direnci saptanan suşlar klavulanat ile inkübasyona alındığında ölçülen MİK değerlerinde azalma kaydedilmesi ile GSBL üretiminin tanısı koyulabilir (59).

3.3.6.7. Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PZR): Genişlemiş spektrumlu beta-laktamaz ürettiğinden şüphelenilen suşlarda PZR tepkimesi kullanılarak GSBL genleri araştırılabilir. Fenotipik metotlara göre özgülüğü oldukça yüksektir. Bu yöntemle, sadece GSBL üretiminin saptanması değil üretilen enzimin genotipi de belirlenir. Polimeraz zincir tepkimesinin diğer yöntemlere göre birçok bakımdan üstünlüğünün olmasının yanında, yüksek maliyeti ve kalifiye eleman gerektirmesi, hatalara karşı aşırı duyarlılığı nedeniyle rutin uygulamalarda pek sık başvurulmamaktadır (60).

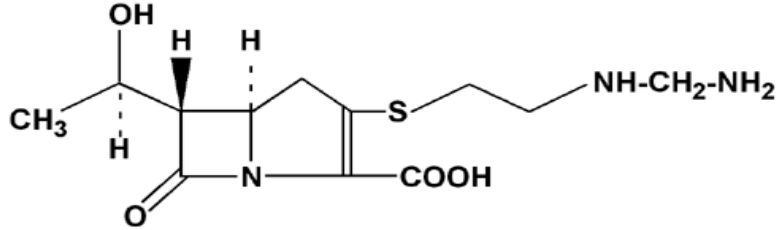
3.3.6.8. Otomatize Sistemlerle GSBL Tanımlanması (VİTEC GSBL Kartları (Bio Mérieux/Fransa): Bu sistemlerin bir çoğu aslında otomatik duyarlılık testleridir. GSBL tespiti için VITEC kartları ticari olarak mevcut olup Sanders (61) tarafından etkinliği doğrulanmıştır. VITEC-2 ile klebsiellalar da TEM ve SHV tip GSBL üretimi %100 duyarlılık ve özgülük ile saptanabileceği bildirilmiştir (61).

3.4. Antibiyotikler ve Özellikleri

3.4.1. İmipenem:

İmipenem bir karbapenemdir. *Streptomyces cattleya*'dan köken alır. Bir beta-laktam halkası içermekle birlikte, penisilin ve sefalosporinlerden farklı olarak α -halkasında sülfür atomunda metilen (-CH₂-) yapısı içerir. Bu yapı karbapenemlerin bakteri hücreesindeki hedef proteinlere bağlanmasını artırır. Bu da antibiyotiğin etki spektrumunu genişletir ve antibakteriyel gücünü artırır. Beta-laktam halkasında bulunan hidroksimetil yan zinciri imipenemin bakteriyel beta-laktamazlara dayanıklılığını sağlar. Molekül ağırlığının düşük olması bakteri hücre membranından girişini kolaylaştırır. Böbreklerde dehidropeptidaz-1 (DHP-1) enzimi tarafından metabolize edilir. Metaboliti nefrotoksik olduğu için silastatinle kombine edilerek kullanılması gerekmektedir. Silastatin sodyum, DHP-1'in kompetitif, reversibl ve özgül

inhibitörüdür. Antibakteriyel etkinliği ve beta-laktamazlar üzerine etkinliği olmadığı gibi imipenemin etkisini de antagonize etmez.



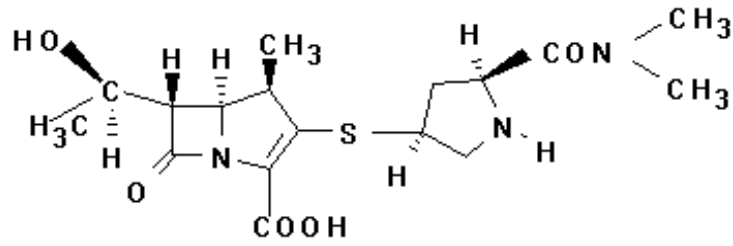
Şekil 2. İmipenem'in kimyasal yapısı.

İmipenemin plazmada yarılanma ömrü yaklaşık bir saattir. Serum proteinlerine bağlanma oranı %10-20 arasında olup, imipenem %20, silastatin ise %40 oranında bağlanır. Yaklaşık 10 saat içinde verilen dozun %70'i idrarda saptanır. Total dozun %48.6'sı idrarla değişmeden atılmaktadır. Dışkıyla atılımı %1'in altındadır. Tüm vücut sıvılarında hızla dağılır. Balgam, plevral sıvı, peritoneal sıvı, interstisyel sıvı, safra, hümeör aköz, üreme organları ve kemikte dağılımı son derece iyidir. İmipenem bakteri hücre duvar sentezini inhibe ederek etki eder. Bakterisidal etkili bir antibiyotiktir. Penisilin bağlayan proteinlere (PBP) afinitesi hem gram pozitif hem de gram negatif bakteriler için diğer beta-laktamlardan daha fazladır. Ayrıca hem gram pozitif hem de gram negatif bakteriler için postantibiyotik etkisi (PAE) vardır. Diğer beta-laktam antibiyotiklerin PAE' si sadece gram pozitif bakteriler için mevcuttur. Bu farkın nedeni imipenemin PBP-2'ye de bağlanması ve bakterilerde sferoblast formasyonu oluşturmastır. Son derece geniş etki spektrumuna sahiptir. Aerop / anaerop gram-negatif ve gram-pozitif bakterileri içine alan bir antibakteriyel aktivitesi bulunmaktadır. Bu özelliği ağır infeksiyonu olan hastalarda ampirik yaklaşımda önemli bir seçenek olması sonucunu doğurmuştur. Farklı antibiyotik kombinasyonlarıyla kıyaslandığında, çeşitli ciddi infeksiyonların tedavisinde son derece etkin bir monoterapötik ajandır.

Ancak insan hücresi içine penetrasyonu iyi olmadığı için intrasellüler patojenlere bağlı infeksiyonların tedavisinde uygun bir ilaç değildir. İmipenem/silastatin'in en sık görülen yan etkisi gastrointestinal yan etkidir. Bulantı %2, diyare %1.7, kusma %1.6, psödomembranöz enterokolit %0.5 oranında bu ilaçla tedavi sırasında bildirilmiş yan etkilerdir. İnfüzyon yerinde flebit, ilaç ateşi ve döküntü diğer yan etkileridir. Penisiline allerjik kişilerde imipeneme de allerji çıkabileceği unutulmamalıdır. Fokal ve jeneralize konvülsiyonlar imipenem tedavisi sırasında %0.3-%1 oranında görülür. Konvülzyon yan etkisi özellikle yaşlılarda ve daha önceden santral sinir sistemi hastalığı olanlarda daha fazla görülmektedir. Önceden geçirilmiş kafa travması, konvülzyon öyküsü, kronik alkolizm ve serebrovasküler olay geçirmiş kişilerde, imipeneme bağlı konvülzyon gelişme riski daha fazladır. İmipenem dozu yüksek olduğu zaman bu yan etki daha sık görülmektedir. Meropenemin konvülzyon yan etkisinin imipeneme göre daha az sıklıkta görüldüğü bildirilmektedir. Hepatik enzimlerde yükselme, eozinofili, Coombs testi pozitifliği, nötropeni, trombositoz veya trombositopeni, imipenem ile tedavi sırasında laboratuvar sonuçlarında görülebilecek geçici değişiklikler arasında sayılabilir.

3.4.2. Meropenem:

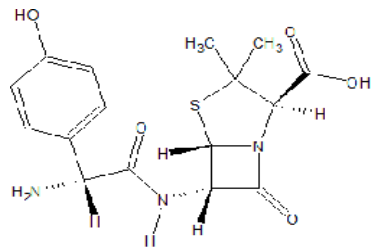
Meropenem, imipenemden sonra kullanıma girmiş bir karbapenemdir. İmipenemden farklı olarak silastatin gibi bir DHP-I inhibitörüne ihtiyaç duymaz ve klinikte saf molekül olarak kullanılmaktadır. Meropenemin yapısı imipenem gibidir. Farklı olarak DHP-I bölgesine direnç veren bölgesi de C1 atomuna bağlanmış olan metil grubudur. Yine C2 atomuna bağlanmış uzun zincir meropenemin konvülzan etkisini azaltan kısmıdır. Hücre duvar sentezini inhibe ederek etki gösterir. Bu etkisini PBP' lere kovalan bağlanarak yapar. Hücre duvar sentezi duran bakteri lizise uğrar. Karbapenemler başta PBP2 olmak üzere, PBP1A, PBP1B, PBP3, PBP4, PBP5'e de daha az olmak üzere bağlanır. Enzim aktiviteleri arasında da özellikle de gram negatif mikroorganizmalara karşı farklılıklar gözlenir. Meropenem lehine olan bu enzimatik aktivite farkı bu antibiyotiğin aktivitesinin fazlalığına neden olur.



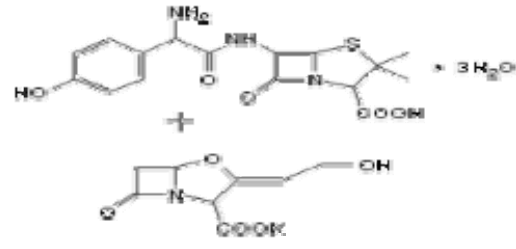
Şekil 3. Meropenem'in kimyasal yapısı.

3.4.3. Amoksisilin-klavulonikasit (AMC) :

Bir amino penisilin olan amoksisilin ile beta-laktamaz inhibitörü olan klavulonik asit'in kombinasyonundan oluşmuş beta-laktamaz inhibitörlü bir beta laktamdır. Amoksisilin, benzilpenisilin yapısına bir amino grubunun eklenmesiyle oluşan bir beta-laktam antibiyotiktir. Klavulonik asit ise antibakteriyel etkisi zayıf bir beta-laktam moleküldür. Beta-laktamaz inhibisyonu oluşturmak için irreversible inhibitör olarak davranır ve beta-laktamazlar ile inaktif yeni moleküller oluşturur.



Amoksisilin



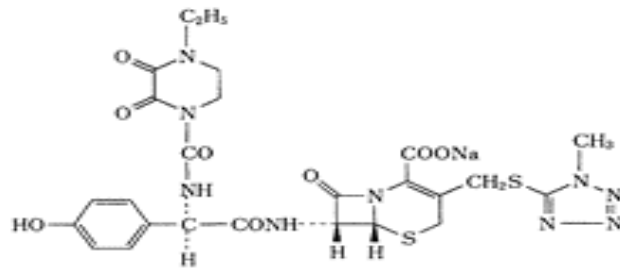
Klavulanik asit

Şekil 4. Amoksisilin ve klavulanik asit'in kimyasal yapısı.

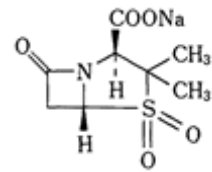
Mide bağırsak sisteminden hayli iyi emilen klavulonat 40-120 dakikada kanda tepe noktaya ulaşır. Çocuklarda da bu özellikleri aynıdır. Serum yarı ömrü 0.76-1.4 saattir. Klavulonat vücutta inaktive edilir ve böbrekler ile sadece %50'si aktif olarak atılır. Kreatinin klerensi 10 Ml/dakikanın altına düşmeden doz ayarlaması gerekmez. Klavulanat inflamasyonsuz meniksleri geçemez, bununla birlikte çocuklarda menenjit durumlarında yüksek dozlar verildiğinde etkili olmaktadır.

3.4.4. Sefoperazon-sulbaktam (CPS):

Sefoperazon sodyum, kristal, yalnız parenteral kullanıma mahsus, yarı sentetik geniş spektrumlu bir sefalosporin antibiyotığıdır. 7 - (D (-) - 4- (2,3 - diokso - 1 - piperazinkarboksamido) - 4 - (4 - hidroksifenil) asetamido) - 3 [(1 - metil-1H-tetrazol-5-yl) tiyometil] - 3-sephem-4-karboksilik asidin sodyum tuzudur. Sefoperazon sodyum / sulbaktam sodyum, kristal kombinasyonu olup, serbest sulbaktam ve sefoperazon olarak 1:1 oranında hazırlanmıştır.



Sefoperazon



Sulbaktam

Şekil 5. Sefoperazon ve sulbaktam'ın kimyasal yapısı.

Sulbaktam sodyum temel penisilin çekirdeğinin bir türevidir. Kimyasal olarak sodyum penisilat sulfon ve suda çok eriyen beyazımsı kristal bir tozudur.

Sefoperazon, suda kolay çözünen beyaz kristalize bir tozudur. Sefoperazon-sulbaktam ile verilen sulbaktam dozunun, yaklaşık % 84'ü ve sefoperazon dozunun %25'i böbreklerden itrah olur. Sefoperazonun kalan dozunun büyük bir kısmı safradan itrah olur. Sefoperazon-sulbaktam uygulamasından sonra ortalama yarı ömür sulbaktam için bir saat iken sefoperazon için 1.7 saattir. Bu değerler, tek başlarına verildiklerinde bu maddeler için daha önce yayınlanan değerlerle uyumludur. 5 dakika içinde IV uygulamadan sonra sulbaktam ve sefoperazon doruk noktaları ortalamasına ulaşırlarki bu değerler sırasıyla, 130.2 ve 236.8 mcg/ml'dir.

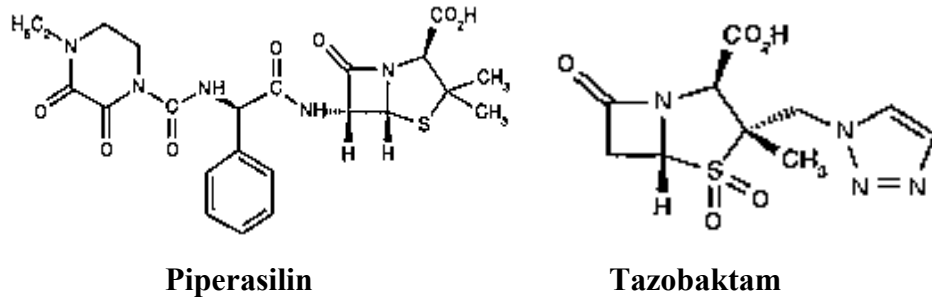
Bir üçüncü kuşak sefalosporin olan sefoperazon, aktif çoğalma döneminde hücre duvarı mukopeptid biosentezini inhibe ederek duyarlı organizmalara karşı etkin olur.

Daha çok Gram negatif bakteriler başta olmak üzere hemen hemen tüm Gram pozitif ve negatif, aerob ve anaerob bakterilere karşı değişik düzeylerde etkinlik gösterir. Bu bakterilerin neden olduğu tüm sistem infeksiyonlarında parenteral olarak kullanılabilir. Penisilin allerjisi olan bireylerde ciddi allerjik reaksiyonlara neden olabilmektedir.

3.4.5. Piperasilin-tazobaktam (PIP-TAZ):

Piperasilin-tazobaktam, yarı-sentetik bir beta-laktam olan piperasilin ile bir beta-laktamaz inhibitörü olan tazobaktamın kombinasyonu sonucu üretilmiş; beyaz, kirli beyaz renkli Na-tuzu şeklinde kristalize haldeki yapısı ile bulunan ve ticari olarak pazarlanan bir antibiyotiktir.

Piperasilin'in kimyasal formülü, $C_{23}H_{26}N_5NaO_7S$ ve molekül ağırlığı 539.5'tir. Piperasilinin kimyasal formülasyonu şekilde gösterilmiştir.



Şekil 6. Piperasilin ve tazobaktamın kimyasal yapısı

Tazobaktam, penisilin çekirdeğinden penicillanic asit sülfon derivativesidir. Kimyasal formülü, $C_{10}H_{11}N_4NaO_5S$ ve moleküler ağırlığı 322.3'tür. Tazobaktamın kimyasal formülasyonu şekilde gösterilmiştir.

İntravenöz olarak kullanılan ilaç, yaklaşık 30 dakika sonra plazmada en yüksek yoğunluğa ulaşır. Her 6 saatte yapılan infüzyonlar sonucu plazmadaki etkin konsantrasyonu sağlar. İlacın her iki komponenti de böbreklerden glomerüler filtrasyon ile atılır. Plazmadaki ilacın %70-80'i idrarda değişmeden itrah edilir. Safra ile minimal olarak atılım söz konusudur. Dokulara iyi dağılan ilacın plazma yoğunluğunun yaklaşık %50 ila 80'i dokulara geçer.

Piperasilin-tazobaktam, başta Gram negatifler olmak üzere neredeyse tüm bakterilere karşı hücre duvar sentezini bozarak bakterisid etki gösterir. Tazobaktam komponenti, birçok bakterinin ürettiği beta-laktamaz enzimin inhibe ederek ilacın etkinliğinin artmasını sağlar. Bir çok penisilinaz üreten suşa karşı yüksek etkinlik sağlayabilmektedir. *P. aeruginosa*'ya karşı bir aminoglikozit ile kombine edilerek kullanımı önerilmektedir. Anaeroblara karşı da etkin olarak kullanılabilir.

4. GEREÇ VE YÖNTEM

4.1. Kültür, Bakteri Suşları ve Bakteri İdentifikasyonu

Bu çalışma, Ocak 2003 ile Mayıs-2005 tarihleri arasında, Fırat Üniversitesi Tıp Fakültesi Fırat Tıp Merkezi polikliniklerinden ve CDC (Centers for Diseases Control and Prevention) kriterlerine göre hastane infeksiyonu tanısı almış yatan hastalardan GSBL ürettiği saptanan 230'u *E. Coli*, 43'ü *K. pneumoniae*, 27'si *K. oxytoca* olarak tanımlanmış toplam 300 adet bakteri üzerinde yapılmıştır. Hastalardan usulüne uygun olarak alınan kan, plevral sıvı ve BOS örnekleri Bactec tam otomatize kan kültürü cihazında cihazında inkübe edildi. Bu aletlerde üreme olduğu saptanan şişelerden uygun besiyerlerine alt kültürler yapıldı. Kan, BOS ve plevral sıvı örneklerinin dışındaki diğer klinik örneklerden Kanlı agar, Eosin Metilen Blue (EMB) agar ve Çukulatamsı agar besiyerlerine ekim yapıldı.

4.1.1. Kültür ve Bakteri İdentifikasyonunda kullanılan besiyerleri ve kimyasal testler

Kanlı Agar Besiyeri (Oxoid/İngiltere)

Triptikaz	15 gr
Soyton (soya enzimatik hidrolizatı)	5 gr
NaCl	5 gr
Agar	15 gr
Saf Su	1000 gr

Hazırlanışı: Bu karışım, ısıtılarak eritildikten sonra 121 C⁰'de 15 dakika otoklavda bekletilerek steril hale getirildi. 50 C⁰' ye kadar soğutulduktan sonra defibrine koyun kanından 70 ml eklendi ve homojenize olması için karıştırıldıktan sonra steril petri kaplarına dökülerek soğutuldu.

Eosin Metilen Blue (EMB) Agar Besiyeri (Oxoid/İngiltere)

Pepton	10 gr
Laktoz	5 gr
Sükroz	5 gr
K ₂ HPO ₄	2 gr
Agar	13.5 gr
Eosin Y	0.4 gr (% 2'lik eriyikten 2 ml)
Metilen Mavisi	0.065 gr (3.25'lik eriyikten 0.2 ml)
Saf Su	1000 ml' ye tamamlandı

Hazırlanışı: Kullanılacak olan maddeler kaynatılarak eritildi ve 121 C⁰, de 15 dakika otoklavlanarak steril hale getirildi. Steril petri kaplarına döküldü.

Çukulatamsı Agar Besiyeri (Oxoid/İngiltere)

Proteoz Pepton	7.5 gr
Poli Pepton	7.5 gr
Nişasta	1 gr
NaCl	5 gr
K ₂ HPO ₄	4 gr
KH ₂ PO ₄	1 gr
Agar	10 gr
Saf Su	1000 ml

Hazırlanışı: Maddeler sıcak suda kaynatılarak eritildikten sonra otoklavda 121 C⁰'de 15 dakika bekletilerek steril hale getirildi. Karışımın ısısı 70 C⁰ olunca, içine 70-100 ml steril kan eklendi. Eklenen kanın hemoliz olmasını takiben steril petri kutularına döküldü.

Yukarıda sayılan ve içerdiği maddeler belirtilen besiyerlerine usulüne uygun olarak ekimi yapılmış olan klinik örnekler, 35 C⁰'de 18-24 saat inkübe edildikten sonra değerlendirmeye alındı. Koloni yapısı, üreme özellikleri, katalaz ve oksidaz testi ve Gram boyama özelliklerine göre Gram olumsuz çomak morfolojisindeki bakteriler alt tür düzeyinde tanımlanmaları için uygun biyokimyasal test ortamlarına ekildi. Bu ortamlarında 35 C⁰' de 18-24 saat inkübe edildi. Bu süre sonunda gözlenen reaksiyonlara göre bakterilerin

tanımlanması yapıldı (11, 12). Bakterilerin identifikasyonunda kullanılan testler;

Katalaz Testi

%3'lük H ₂ O ₂	3 ml
Distile su	7 ml

Hazırlanışı: Toplam 10 ml olacak şekilde her iki madde karıştırılarak kullanılır.

Yorumlama: Lam üzerine hazırlanan katalaz sıvısından birkaç damla damlatılır. Bir öze yardımıyla bakteri kolonisinden bir miktar alınarak bu sıvı içine daldırılır. Hava kabarcıklarının oluşması ve gaz çıkışının gözlemlenmesi katalaz pozitifliği olarak yorumlanır. Hava kabarcığı ve gaz çıkmaması negatif reaksiyon olarak kabul edilir.

Oksidaz Testi:

P-aminodimetilanilin	0.1g
Saf Su	10 ml

Hazırlanışı: Her iki madde yavaş bir şekilde karıştırılarak homojenize edilir. Işık geçirmeyen cam bir şişede buzdolabına konularak saklanabilir.

Yorumlama: Wathman filtre kağıdı oksidaz solüsyonu ile ıslatılır. Bu kağıdın yüzeyine besiyerinde üremiş olan bakteri kolonisinden bir öze veya kürdan ile alınarak sürülür. Sürüntünün olduğu yerde koyu mavi- larcivert renk değişimi pozitif reaksiyon; renk değişimi olmaması ise negatif reaksiyon olarak değerlendirilir.

Triple Sugar Iron Agar (TSI) (Oxoid/İngiltere)

Yeast extract	3 gr
NaCl	5 gr
Laktoz	10 gr
Sükroz	10 gr
Glikoz	1 gr
Ferrous amonium sulfat	0.2 gr
Na- thiosulfat	0.025 gr
Agar	3 gr

Hazırlanışı: Yukarıda adı geçen maddelerin belirtildiği orandaki karışımından 47 gr tartılarak 1 litre distile suda eritildi ve ph:7.4'e ayarlandı. Otoklavda 121 C⁰'de steril edildikten sonra tüplere yatık olarak döküldü.

Yorumlama: Hafif alkali ortamı olarak hazırlanan TSİ besiyeri, içerdiği fenol kırmızısı sayesinde alkali ortamda kırmızısı-pembe görünümündedir. İnoküle edilen bakteri, TSİ ortamında bulunan karbonhidratları hidrolize ettiği takdirde ortamın ph'sı aside kaymakta ve fenol kırmızısı rengini kaybeder ve besiyeri sarı bir renk alır. Bu pozitif sonuç olarak kabul edilir. Eğer inoküle edilen bakteri karbonhidratlardan hiçbirini kullanmazsa ortamın ph'sı alkali kalmakta yani besiyerinin rengi pembe olarak devam etmektedir. Bu ise negatif bir sonuç olarak yorumlanır.

Simmon's Sitrat Agar (Oxoid/İngiltere)

Na-sitrat	2 gr
NaCl	5 gr
MgSO4	0.2 gr
Amonyum dihidrojen fosfat	1 gr
Dipotasyum fosfat	1 gr
Bromthymol mavisi	0.08 gr
Agar	15 gr

Hazırlanışı: Yukarıda adı geçen maddelerin belirtildiği orandaki karışımından 24.2 gr tartılarak 1 litre distile suda eritildi ve ph:6.9'a ayarlandı. Otoklavda 121 C⁰'de steril edildikten sonra tüplere yatık olarak döküldü.

Yorumlama: Normal durumda koyu yeşil renkli olan sitrat besiyeri, eğer bakteri sitratı karbon kaynağı olarak kullanıyorsa, Prusya Mavisine rengine döner. Bu, pozitif reaksiyon olarak yorumlanır.

Üre Agar (Christensen Urea Agar) (Oxoid/İngiltere)

Pepton	1 gr
Glikoz	1 gr
NaCl	5 gr
Disodyum fosfat	1.2 gr
KH ₂ PO ₄	0.8 gr
Fenol kırmızısı	0.012 gr
Agar	15 gr

Hazırlanışı: Toz halindeki karışımdan 18 gr alınarak 100 ml distile suda eritildi. Ph: 6.8'e ayarlandı. Otoklavda 121 C⁰'de steril edildikten sonra %29'luk üre solüsyonundan eklendi. 50 C⁰'ye kadar soğuduktan sonra 900 ml distile su+agar karışımı ile birleştirilerek tüplere dik olarak döküldü.

Yorumlama: Hafif asit ortamlı olarak hazırlanan üre besiyerinin normal görünümü sarı renklidir. Bakteri inokülasyonundan sonra eğer bakteri suşu üreaz enzimi üretiyorsa besiyerinde bulunan üreyi parçalayacak ve son ürün olarak amonyağın ortaya çıkışını sağlayacaktır. Bu ise ortamın Ph'sını alkaliye değiştirecek ve besiyerinde bulunan ancak asidik ortamdan dolayı sarı renkli olan fenol kırmızısının pembe renge dönmesine neden olacaktır. Besiyerindeki pembe-kırmızı renk değişimi pozitif sonuç olarak kabul edilirken, besiyeri renginin sarı olarak devam etmesi negatif sonuç olarak yorumlanır.

İndol (SIM Medium) Besiyeri (Oxoid/İngiltere)

Trypton	2 gr
Pepton	6.1 gr
Ferrous amonium sulfat	0.2 gr
Na- thiosulfat	0.2 gr
Agar	30.5 gr

Hazırlanışı: Yukarıdaki maddelerden belirtilen oranlardaki karışımdan 39 gr tartılarak 1000 ml distile steril su içinde eritildi. Ph:7.3'e ayarlandı. Otoklavda 121 C⁰'de steril edildikten sonra tüplere dik olarak döküldü.

Yorumlama: Bakteri inoküle edilmiş olan 'SIM' besiyerleri 35 C⁰'de 16-20 saat inkübe edildikten sonra besiyeri üstüne kovaks ayırıcı damlatıldı. Normal durumda sarı renkli olan kovaks ayırıcı kırmızı-pembe bir renk değişimine uğrarsa pozitif reaksiyon, böyle bir renk değişimi gözlenmezse negatif reaksiyon olarak değerlendirilir.

Kovaks ayırıcı

İzoamil alkol	150 ml
p-dimetilaminobenzaldehit	10 gr
HCL konsantre	50 ml

Soyutlanan bakterilerin biyokimyasal özelliklerine göre alt tür düzeyinde identifikasyonları yapıldı. Ancak bazı bakteri suşlarının alt türleri yukarıda belirtilen biyokimyasal özellikleri ile diğer suşlardan kesin olarak ayıramadığı için bu suşların tanımlanması API ID 32 E (Bio-Mérieux/Fransa) otomatize identifikasyon kitleri ile yapıldı.

Bu yöntemlerle *E. coli*, *K. pneumoniae* ve *K. oxytoca* olduğu saptanan 300 suş çalışma anına kadar saklama besiyeri microstore'lara (The Ropewalk, Lancashire, England) alınarak çalışma gününe kadar -20 ⁰ C'de bekletildi (11,62). Tüm suşlar çalışmadan önce saflık açısından kontrol edildi.

4.2. Antibiyotik Duyarlılık Testleri

İnkübasyon süreçleri sonunda *Enterobacteriaceae* ailesine mensup bir bakterinin identifikasyonu durumunda bu suşlar için NCCLS (56) önerileri doğrultusunda disk-difüzyon yöntemi ile Mueller-Hington Agar' da antibiyogram yapıldı.

Mueller-Hington Agar (Oxoid/İngiltere)

Et suyu	300 ml
Pepton	17.5 gr
Nişasta	1.5 gr
Agar	17 gr

Hazırlanışı: Karışımı 1000 mililitreye tamamlamak için üzerine distile steril su eklendi. Ph:7.4' e ayarlandı. Otoklavda 121 C⁰'de steril edildikten sonra steril petri kutularına 4 mm kalınlığında döküldü.

4.2.1. Disk Difüzyon Testi

Kültür plaklarında üremiş olan bakteri kolonilerinden steril bir eküvyon yardımıyla bir miktar alınarak steril serum fizyolojik içerisinde 0.5 Mc Farland bulanıklık sağlanacak şekilde süspanse edildi. Bu süspansiyon yine steril pamuklu eküvyon yardımıyla Mueller-Hington agar üzerine yayıldı. Plakların kuruması beklendikten sonra üzerlerine antibiyotik emdirilmiş kağıt disklerden (Oxoid/İngiltere) yerleştirildi. Otuz beş C⁰'de 18-24 saatlik inkübasyonu takiben antibiyotik disklerinin etrafında oluşan inhibisyon zonlarının çapları ölçüldü. NCCLS (56) kriterlerine göre elde edilen sonuçlar yorumlandı.

Soyutlanan bakteri suşlarında 3. kuşak sefalosporin direnci saptanması durumunda bu suşların GSBL üretilip üretilmediğinin araştırılması için ileri işlemlere geçildi. Bu işlemler;

4.3. GSBL Saptanması

4.3.1. Çift Disk Sinerji Yöntemi

Çalışmaya alınan suşların GSBL üretimi Çift Disk Sinerji yöntemi ile araştırıldı. Steril serum fizyolojik içerisinde Mc Farland 0.5 bulanıklıkta hazırlanan bakteri süspansiyonu, Mueller-Hinton Agar yüzeyine yayıldı. Ortada amoksisilin/klavulanik asit (AMC 20+10µg) diski ve çevresinde, aralarındaki uzaklık 25 mm olacak şekilde seftazidim (CAZ 30µg), sefotaksim (CTX 30µg) ve aztreonam (ATM 30µg) diskleri (Oxoid/İngiltere) yerleştirildi. 35 °C'de 18-24 saat inkübasyonu takiben, çevredeki üç antibiyotik diskinden AMC diskine doğru açılan sinerjistik alanın varlığı, GSBL pozitifliği olarak kabul edildi (Şekil 7).



Şekil 7. Çift disk sinerji yöntemi ile GSBL saptanması.

CAZ, CTX, ATM ve CRO disklerinin tümü ya da herhangi birinin inhibisyon zon çapında küçülmenin olduğu, ancak AMC diskine doğru belirgin genişlemenin ya da iki disk arasında üremenin inhibe olduğu bir alanın görülmemesi durumunda bu suşlar GSBL negatif olarak değerlendirildi.

4.4. GSBL Üreten Bakterilerin Antibiyotik Duyarlılıklarının Araştırılması

Genişlemiş spektrumlu-beta-laktamaz üreten 300 bakteri suşunun karbapenem grubundan imipenem ve meropenem ile beta laktam+beta laktamaz inhibitörü kombinasyonlarından sefaperazon-sulbaktam, piperasilin-tazobaktam ve amoksisilin-klavulanik asit'e duyarlılıkları National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS) önerilerine göre broth mikrodilüsyon yöntemi ile araştırıldı (56). Yöntemde üretici firmalardan temin edilen meropenem (Astra Zeneca, İngiltere), imipenem (Merck Sharp Dohme), piperasilin-tazobaktam (Wyeth, ABD), sefaperazon-sulbaktam (Pfizer, ABD), amoksisilin-klavulanat (fako,İstanbul) toz hammaddeleri kullanıldı. Örnekler 96 kuyucuklu steril polystren mikropaklarda çalışıldı. Mueller-Hinton Broth (Oxoid/İngiltere) besiyeri kullanıldı. Kontrol suşu olarak meropenem,

imipenem ve sefaperazon-sulbaktam için *E. coli* ATCC 25922 suşu, amoksisilin-klavulanat ve piperasilin-tazobaktam için ise *E. coli* ATCC 35218 suşu kullanıldı.

Mueller-Hington Broth (Oxoid/İngiltere)

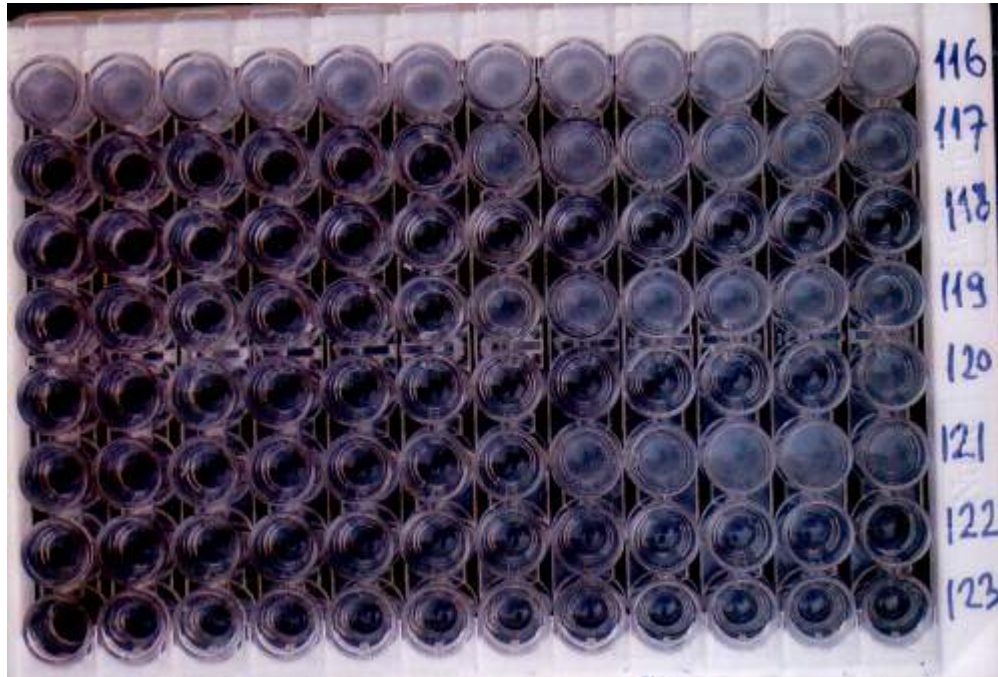
Et Suyu	2 gr
Kazein hidrolizat	17.5 gr
Nişasta	1.5 gr
CaCl ₂	0.05 gr
MgSO ₄	0.02 gr

Hazırlanışı: 21 gram tartılarak 1000 ml distile suda eritildi. Ph: 7.4'e ayarlandı. Otoklavda 121 °C'de steril edildikten sonra tüplere döküldü.

Taze kültürlerden alınan kolonilerden serum fizyolojik içinde son konsantrasyon 5×10^5 cfu/ml olacak şekilde Mc Farland 0.5 standardına göre bakteri süspansiyonları hazırlandı. Antibiyotik solüsyonları şu şekilde hazırlandı: İmipenem ve meropenem için çözücü ve dilüent olarak distile su kullanıldı ve başlangıç konsantrasyonları 32 µg/ml olacak şekilde dilüe edildi. Piperasilin-tazobaktam çalışılırken her iki preparat için çözücü ve dilüent olarak distile su kullanıldı ve başlangıç konsantrasyonları piperasilin için 256 µg/ml olacak şekilde dilüe edildi. Tazobaktam ise her bir kuyucuğa sabit 4µg/ml eklenecek şekilde dilüe edildi. Sefaperazon-sulbaktam çalışılırken her iki preparat için çözücü ve dilüent olarak distile su kullanıldı, başlangıç konsantrasyonları 256 ve 256 µg/ml olacak şekilde dilüe edildi ve 1:1 oranı sağlanacak şekilde karıştırıldı. Amoksisilin-klavulanat çalışılırken her iki preparat için çözücü ve dilüent olarak fosfat tamponu, PH:6.0, 0.1 mol/L kullanıldı ve başlangıç konsantrasyonları 128 ve 64 µg/ml olacak şekilde dilüe edildi ve 2:1 oranı sağlanacak şekilde karıştırıldı. İmipenem, meropenem, sefaperazon-sulbaktam ve amoksisilin-klavulanat çalışılırken steril otomatik mikropipetler kullanılarak mikropiplardaki kuyucuklara başlangıçta 50 µl Mueller-Hinton buyyon konuldu. Daha sonra ilk kuyucuklara antibiyotiklerin başlangıç solüsyonlarından 50 µl konuldu ve 12. kuyucuğa kadar seri dilüsyonlar yapıldı. Son olarak da tüm kuyucuklara 50 µl bakteri süspansiyonu eklendi ve kuyucuklardaki bakteri inokulumunun son konsantrasyonunun 5×10^5 cfu/ml olması sağlandı. Sonuçta antibiyotik dilüsyonları; İmipenem ve

meropenem için 32-0.015 µg/ml, sefaperazon-sulbaktam için 256/256-0,125/0.125 µg/ml, amoksisilin-klavulanat için 128/64-0.06/0.03 µg/ml şeklinde oluşturuldu. Piperasilin-tazobaktam çalışılırken ise steril otomatik mikropipetler kullanılarak mikropiplardaki kuyucuklara başlangıçta 25 µl Mueller-Hinton buyyon konuldu. Daha sonra ilk kuyucuklara piperasilinin başlangıç solüsyonundan 25 µl konularak 12. kuyucuğa kadar seri dilüsyonlar yapıldı. Sonra 1. kuyucuktan 12. kuyucuğa kadar 32 µg/ml sabit konsantrasyonda 25 µl tazobaktam eklendi. Son olarak tüm kuyucuklara 50 µl bakteri süspansiyonu eklendi ve kuyucuklardaki bakteri inokulumunun son konsantrasyonunun 5×10^5 cfu/ml olması sağlandı. Bu şekilde Piperasilin-tazobaktam 256/32-0,125/32 µg/ml şeklinde dilüe edilmiş oldu. Her suş için antibiyotik içermeyen bakteri kontrolü ve besiyeri kontrolü yapıldı. Mikropipların üzeri kapatılarak 35 °C'de 18-24 saat inkübe edildi. (Şekil 8)

Bu sürenin sonunda plaklardaki kuyucuklarda gelişen üreme veya ürememe durumları çıplak gözle bulanıklığın tespitinin yapılması ile değerlendirildi. Seri dilüsyon skalasında bulanıklığın kaybolduğu yani üremenin gerçekleşmemiş olduğu yoğunluk o suş için 'Minimal İnhibitör Konsantrasyonu' (MİK) olarak kaydedildi. Bakteri suşlarının yarısının üremesini engelleyen MİK ortalaması MİK₅₀, %90'ının üremesinin olmadığı antibiyotik yoğunluğu ise MİK₉₀ değeri olarak hesaplandı.



Şekil 8. Mikrodilüsyon testi, bulanıklığın izlenmesi ve MIC değerlerinin saptanması

Kullanılan antibiyotikler için duyarlılık kriterleri tablo 4’de verilmiştir.

Tablo 4. Kullanılan Antibiyotikler için Duyarlılık Kriterleri

Antibiyotikler	Duyarlılık (mcg/ml)		
	H	AH	D
İmipenem	≤ 4	8	≥ 16
Meropenem	≤ 4	8	≥ 16
Amoksisilin-klavulanat	≤ 8/4	16/8	≥ 32/16
Sefoperazon-sulbaktam	≤ 16/16	32/16	≥ 64/16
Piperasilin-tazobaktam	≤ 16/4	32/4-64/4	≥ 128/4

NCCLS (56) duyarlılık kriterleri temel alındı.

4.5. İstatistiksel Değerlendirme:

Toplum ve hastane kökenli suşların çalışılan antibiyotiklere dirençlilik durumlarının karşılaştırılmasında SPSS version 10.01 programında ki-kare testi ve Fischerin kesin ki-kare testi uygulandı. P değerinin < 0.05 olması anlamlı olarak kabul edildi.

5.BULGULAR

Bu çalışma, Ocak 2003 ile Mayıs-2005 tarihleri arasında, Fırat Üniversitesi Tıp Fakültesi Fırat Tıp Merkezi polikliniklerinden CDC (Centers for Diseases Control and Prevention) kriterlerine göre hastane infeksiyonu tanısı almış yatan hastalardan GSBL ürettiği saptanan 230'u *E. Coli*, 43'ü *Klebsiella pneumoniae*, 27'si *Klebsiella oxytoca* olarak tanımlanmış toplam 300 adet bakteri üzerinde yapılmıştır. Çalışmaya alınan suşların imipenem, meropenem, amoksisilin-klavulanat, sefaperazon-sulbaktam ve piperasilin-tazobaktam antibiyotiklerinin in vitro duyarlılıkları National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS) önerilerine göre broth mikrodilüsyon yöntemi ile araştırılmıştır.

5.1. Cinsiyet ve yaş ortalaması

Mikroorganizmaların ürettiği 300 olgunun 159'u (%53) erkek 141'u (%47) kadın idi. Olguların yaş ortalaması $44,85 \pm 21,82$ olup yaşlar 1 ila 87 arasında değişiyordu.

5.2. Örnekler

Toplam 300 adet GSBL üreten suş idrar, kan, beyin omurilik sıvısı (BOS), solunum örnekleri, yara materyali gibi klinik örneklerden soyutlanmıştır. Suşların izole edildikleri klinik örneklerin detaylı dağılımı ve sayısı Tablo 5'de sunulmuştur.

Tablo 5. GSBL üreten suşların soyutlandıkları klinik örnekler ve sayısal dağılımı

Klinik Örnek	Sayı
İdrar	231
BOS	1
Kan	21
Solunum Örnekleri	
Balgam	5
Entübasyon tüp ucu	4
Boğaz kültürü	2
Bronş lavajı	2
Yara Örnekleri	
Cerrahi yara	24
Abse materyali	4
Diyabetik ayak yarası	3
Cerrahi dren	2
Kateter cidarı	1
Toplam	300

Genişlemiş spektrumlu beta-laktamaz ürettiği saptanan suşların 143'ü (%47.4) cerrahi kliniklerden, 111 (%36.8) tanesi dahili kliniklerden, 46'sı (%15.2) ise hastanemiz yoğun bakım ünitelerinden gönderilen örneklerden soyutlanmıştır. Bir hastadan birden çok kez soyutlanan ve aynı fenotipik özellikler gösteren suşlardan sadece bir tanesi çalışmaya dahil edilmiştir. Örneklerin geldiği kliniklere göre dağılımı Tablo 6'da sunulmuştur.

Tablo 6 . Örneklerin geldiği klinikler ve sayısal dağılımları

Klinik	Sayı
Dahili Klinikler	
İç Hastalıkları	43
Nöroloji	2
Göğüs Hastalıkları	8
Dermatoloji	2
Kardiyoloji	4
Çocuk Hastalıkları	32
Fizik Tedavi ve Rehabilitasyon	2
Enfeksiyon Hastalıkları	18
Cerrahi Klinikler	
Genel Cerrahi	39
Kalp Damar Cerrahisi	2
Plastik Cerrahi	3
Kadın Hast. ve Doğum Kliniği	15
Kulak Burun Boğaz	1
Üroloji	69
Ortopedi	7
Beyin Cerrahi	6
Çocuk Cerrahisi	1
Yoğun Bakım	46
Toplam	300

5.3. Antibiyotik Duyarlılık Oranları

GSBL üreten suşların imipenem, meropenem, amoksisilin-klavulanat, sefaperazon-sulbaktam ve piperasilin-tazobaktam antibiyotiklerine karşı duyarlılıkları tablo 7’de sunulmuştur.

Tablo 7. Çalışılan antibiyotiklere karşı duyarlı suş sayısı ve antibiyotiklerin duyarlılık oranları.

BAKTERİLER	ANTİBİYOTİKLER				
	IPM	MEM	AMC	CPS	PIP-TAZ
	Sayı (%)	Sayı (%)	Sayı (%)	Sayı (%)	Sayı (%)
<i>E. coli</i>	230 (100)	230 (100)	68 (29.6)	167 (72.6)	173 (75.2)
<i>K.pneumoniae</i>	43 (100)	43 (100)	10 (23.3)	30 (69.8)	30 (69.8)
<i>K. oxytoca</i>	27 (100)	27 (100)	5 (18.5)	11 (40.7)	15 (55.8)
Toplam	300 (100)	300 (100)	82 (26)	208 (69.3)	218 (72.6)

Kısaltmalar: IPM: İmipenem, MEM: Meropenem, AMC: Amoksisilin-klavulanat CPS: Sef operazon-sulbaktam,

PIP-TAZ: Piperasilin-tazobaktam

Çalışmamızda imipenem ve meropeneme karşı direnç saptanmadı. Beta-laktamaz inhibitörü içeren kombine antibiyotiklerden *E. coli* 'ye en etkin antibiyotik piperasilin-tazobaktam (%75.2) olup sefoperazon-sulbaktama %72.6 oranında etkin bulunmuştur. Amoksisilin-klavulanat' a ise %29.3 oranında duyarlılık saptanmıştır. *Klebsiella pneumoniae* ' da piperasilin-tazobaktam ve sefoperazon-sulbaktama duyarlılık eşit olup %69.8 olarak saptanmıştır. *K.oxytoca* 'nın piperasilin-tazobaktam duyarlılığı %55.8 olup sefoperazon-sulbaktam (%40.7)'dan daha etkin bulunmuştur. Amoksisilin-klavulanat duyarlılığı *Klebsiella pneumoniae* ve *K.oxytoca* 'da %23.3 ve %18 olarak saptanmıştır. Sonuç olarak beta-laktamaz inhibitörü içeren kombine antibiyotiklere *K. oxytoca* ve *K. pneumoniae* suşlarının duyarlılıkları *E. coli* 'ye göre daha düşük bulunmuştur.

PIP-TAZ'a dirençli 32 suşun 19'u (%59) CPS'ye ve 26'sı (%81) AMC'ye dirençli olarak saptanmıştır. CPS'ye dirençli 57 suşun 50'si (%87.7) AMC' ye de dirençli olarak saptanmıştır. CPS ve PIP-TAZ'a dirençli 2 suş AMC' ye duyarlı bulunmuştur. Onbir adet *E. coli*, 3 adet *K. pneumoniae* ve 1 adet *K.oxytoca* olmak üzere toplam onbeş suş her üç antibiyotiğe de dirençli bulunmuştur.

5.4. Kliniklere Göre Antibiyotik Direncinin Karşılaştırılması

Tablo 8’de suşların soyutlandıkları kliniklere göre antibiyotik dirençliliklerinin dağılımı sunulmuştur. Tüm suşlar incelendiğinde imipenem ve meropenem direnç gözlenmezken amoksisilin-klavulanata 159, sefoperazon-sulbaktama 57 ve piperasilin-tazobaktama 32 suşun direnç gösterdiği saptanmıştır.

Tablo 8. Kliniklere göre antibiyotik direncinin sayısal dağılımı

Kullanılan Antibiyotikler, Dirençli Suş Sayısı ve Direnç Oranları

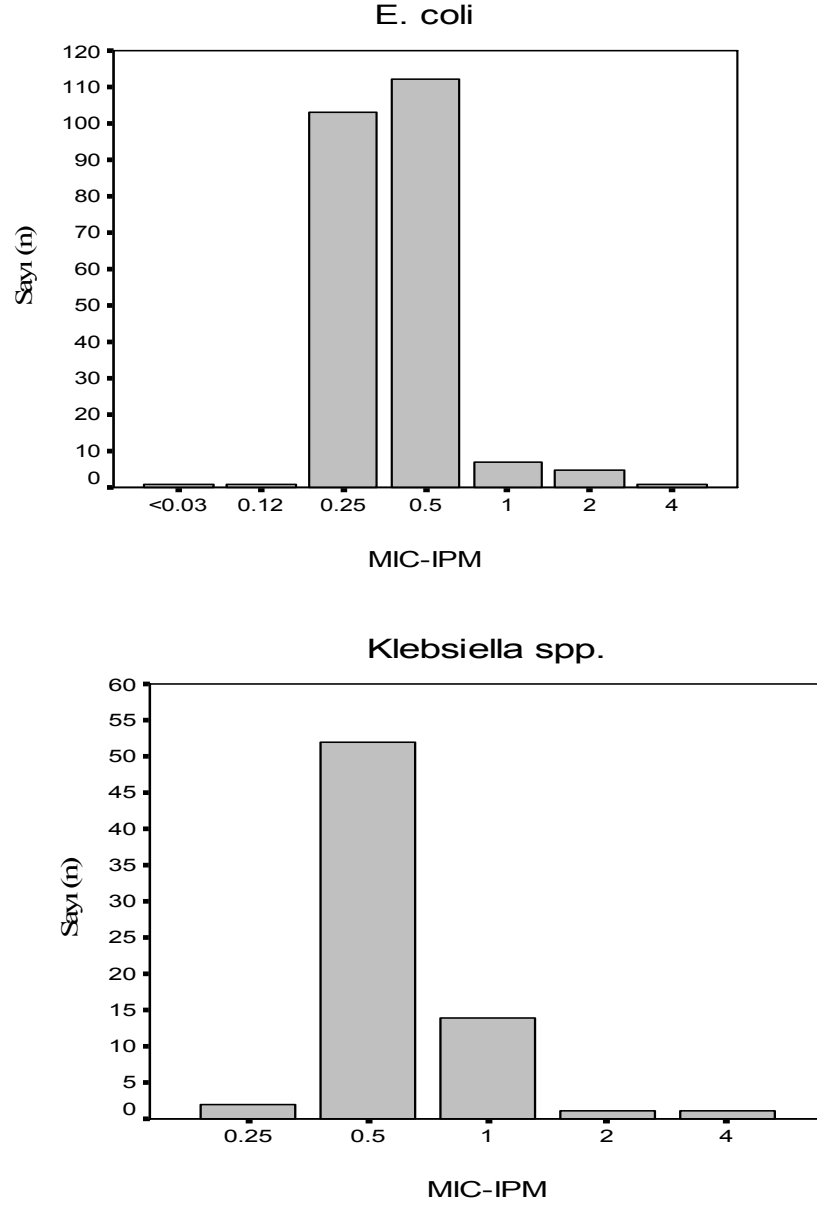
BAKTERİLER	IPM	MEM	AMC	CPS	PIP-TAZ
	Sayı (%)	Sayı (%)	Sayı (%)	Sayı (%)	Sayı (%)
Cerrahi Kl.	0 (0)	0 (0)	79 (49.7)	19 (33.3)	15 (46.9)
Dahili Kl.	0 (0)	0 (0)	54 (34)	27 (47.4)	10 (31.3)
Yoğun Bakım	0 (0)	0 (0)	26 (16.8)	11 (19.3)	7 (21.9)
Toplam	0 (0)	0 (0)	159 (100)	57 (100)	32 (100)

5.5. Suşların Duyarlılık Düzeyleri

GSBL üreten suşların çalışılan antibiyotiklere karşı MİK değerlerine göre duyarlılık ve direnç düzeyleri aşağıda sunulduğu şekildedir.

5.5.1. İmipenemin MİK Düzeyleri

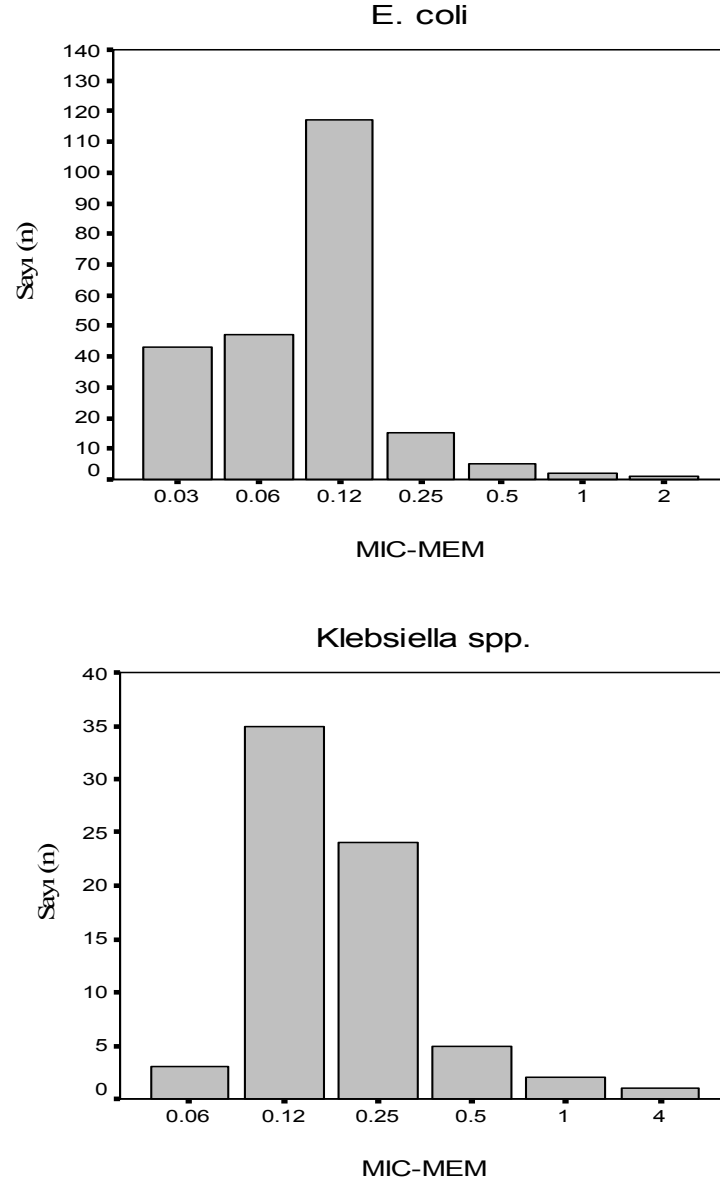
İmipenemin MİK değerlerine göre dağılımı şekil 9 'da sunulmuştur.



Şekil 9. İmipenemin MİK Değerlerine Göre Sayısal Dağılımı

5.5.2. Meropenemin MİK Düzeyleri

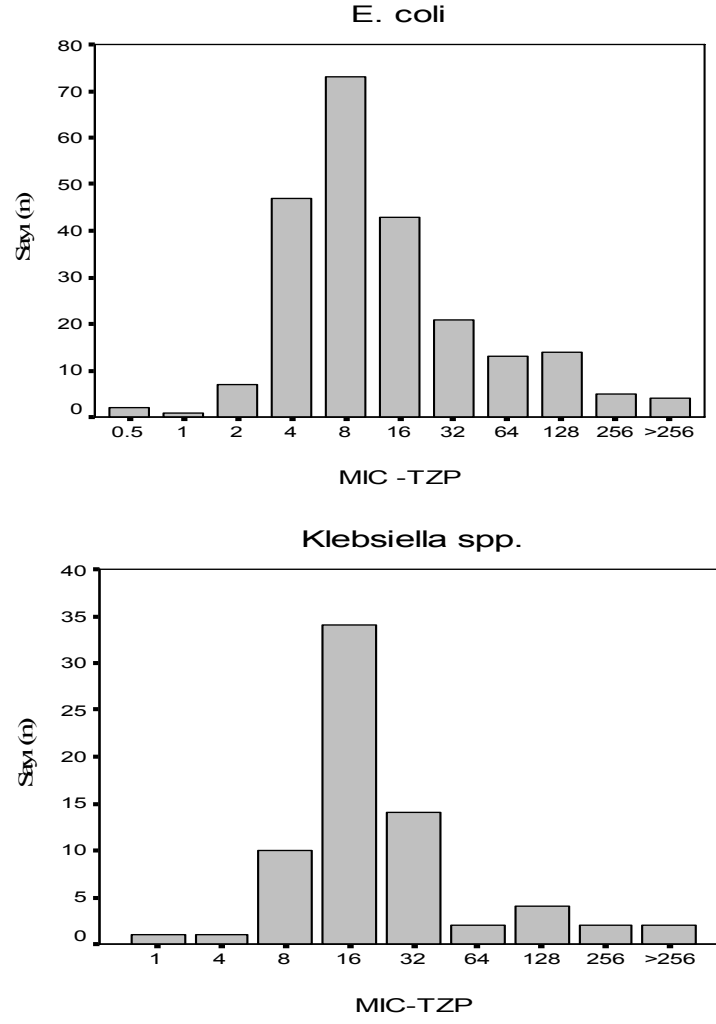
Meropenemin MİK değerlerine göre dağılımı şekil 10'da sunulmuştur.



Şekil 10. Meropenemin MİK Değerlerine Göre Sayısal Dağılımı

5.5.3. Piperasilin-tazobaktamın MİK Düzeyleri

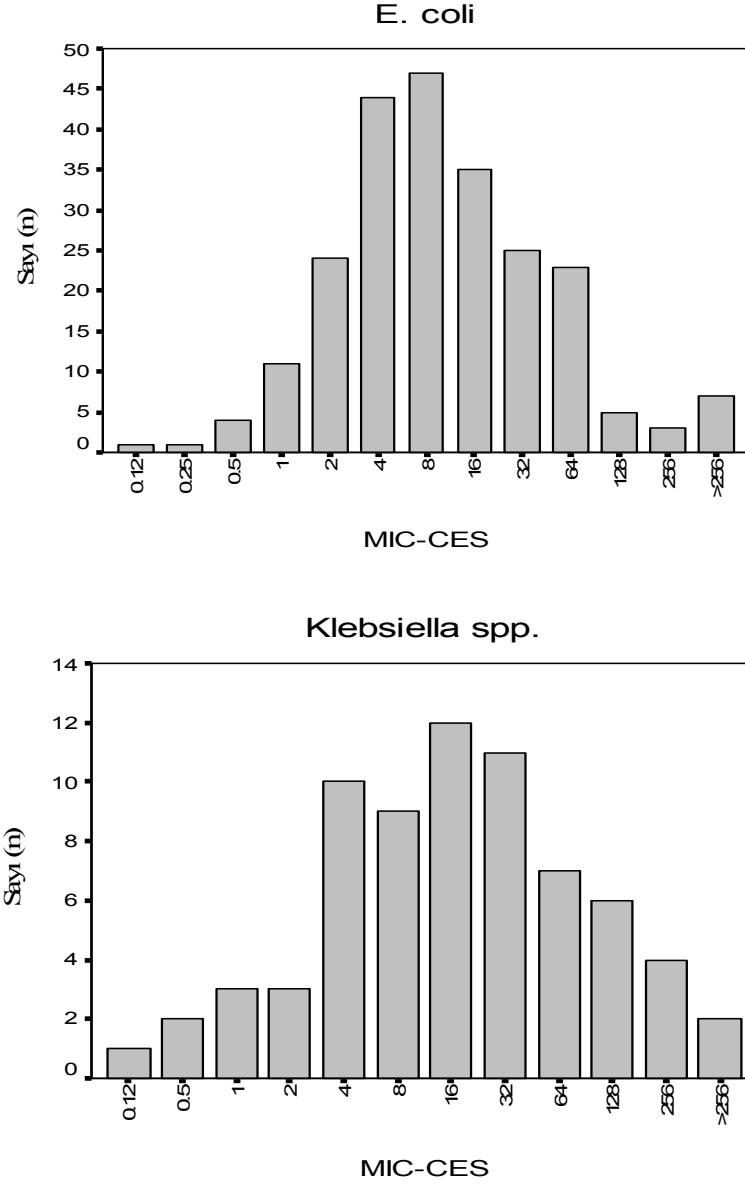
Piperasilin-tazobaktamın MİK değerlerine göre dağılımı şekil 11’de sunulmuştur.



Şekil 11. Piperasilin-tazobaktamın MİK Değerlerine Göre Sayısal Dağılımı

5.5.4. Sefaperazon-sulbaktamın MİK Düzeyleri

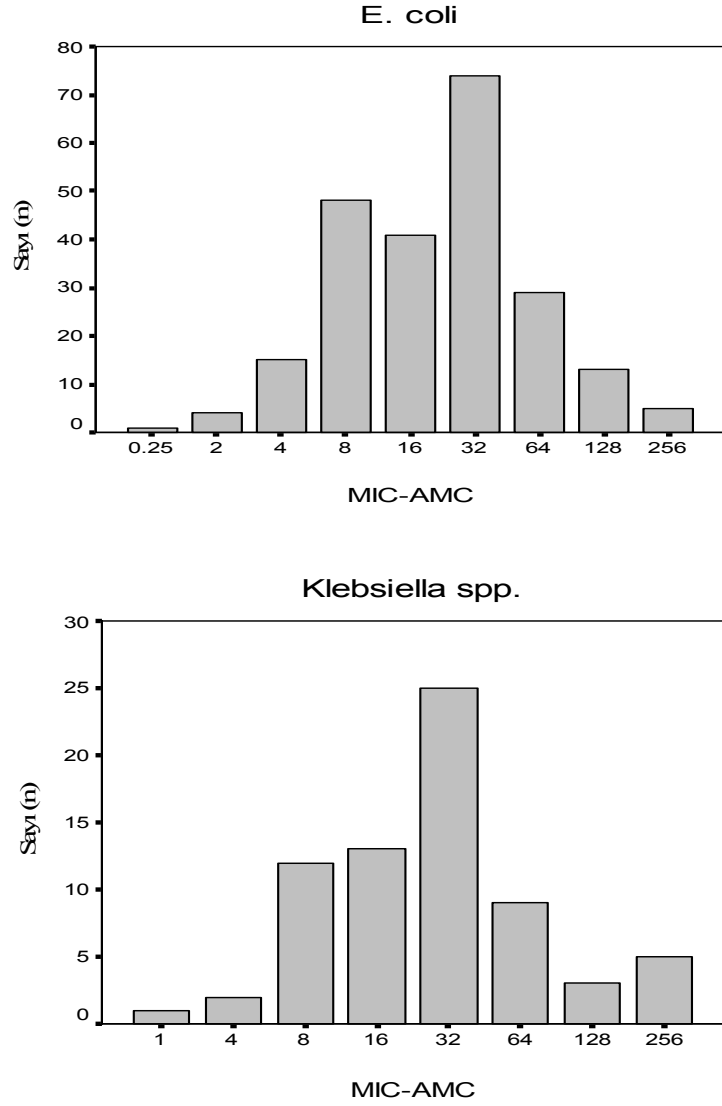
Sefaperazon-sulbaktamın MİK değerlerine göre dağılımı şekil 12’de sunulmuştur.



Şekil 12. Sefaperazon-sulbaktam’ın MİK Değerlerine Göre Sayısal Dağılımı

5.5.5. Amoksisilin-klavulanatın MİK Düzeyleri

Amoksisilin-klavulanatın MİK değerlerine göre dağılımı şekil 13’de sunulmuştur.



Şekil 13. Amoksisilin-Klavulanat’ın MİK Değerlerine Göre Sayısal Dağılımı

Antibiyotiklerin direnç düzeyinin belirlenmesi amacı ile çalışılan ilaçların MİK₅₀ ve MİK₉₀ değerleri Tablo 9’da gösterilmiştir.

Tablo 9. Çalışılan antibiyotiklerin MİK₅₀ - MİK₉₀ değerleri ve MİK sınırları

	IPM		MEM		AMC		CPS		PIP-TAZ	
	E	K	E	K	E	K	E	K	E	K
MİK₅₀ (mcg/ml)	0.5	0.5	0.12	0.12	16	32	8	16	8	16
MİK₉₀ (mcg/ml)	0.5	0.5	0.12	0.12	32	128	64	128	64	128
MİK sınırları	0.25/4	<0.03/4	0.03/2	0.06/4	0.25/>128	1/>128	0.12/>256	0.12/>256	0.5/>256	1/>256

E: *E. coli*, **K:** *Klebsiella spp.*

Antibiyotikler içerisinde imipenemin MİK_{50/90} değerleri *E. coli* ve *Klebsiella spp.* için 0.5/0.5 mcg/ml, meropenemin ise her iki mikroorganizma için 0.12/0.12 mcg/ml'dir. Piperasilin-tazobaktam ve sefoperazon-sulbaktam'ın *E.coli* için MİK_{50/90} değerleri 8/4-64/4 ve 8/8-64/64 mcg/ml, *Klebsiella spp.* için 16/4-128/4 ve 16/16-128/128 mcg/ml olarak saptanmış olup MİK₅₀ değerleri duyarlılık sınırları içinde ölçülürken, MİK₉₀ değeri *Klebsiella spp.*'de her iki antibiyotik için dirençlilik sınırları içinde *E.coli*'de ise piperasilin-tazobaktam için az hassas sınırında, sefoperazon-sulbaktam için dirençlilik sınırında ölçülmüştür.

Amoksisilin-klavulanat'ın MİK_{50/90} değerleri *E. coli* için 16/8-64/32 mcg/ml, *Klebsiella spp.* için 32/16-128/64 mcg/ml olarak saptanmış MİK₅₀ hem de MİK₉₀ değerleri dirençlilik sınırları içinde ölçülmüştür.

6. TARTIŞMA

Enterik Gram-negatif bakterilerde, beta-laktamaz sentezi en önemli antibiyotik direnç mekanizmasıdır. Geniş spektrumlu beta-laktam antibiyotiklerin yaygın kullanımı, GSBL gibi daha geniş spektrumlu beta-laktamazların ortaya çıkması ile sonuçlanmıştır (1). Günümüze kadar birçok GSBL enzimi tanımlanmış olup tespit edildiği 1980'li yılların başından itibaren giderek artan sıklıkta üretilmeye devam etmektedir. Hastane ortamının selektif baskısı ile belli bir süre sonra, yatan hastaların solunum ve gastrointestinal sistemlerinde, GSBL (+) bakteriler kolonize olmaktadır. Uzun süre cerrahi kliniklerde veya yoğun bakım ünitelerinde yatan, invaziv girişim uygulanan veya açık yarası bulunan, genel durumu bozuk hastalardan soyutlanan GSBL enzimleri özellikle *Klebsiella* türleri ve *E. coli* suşlarında yaygındır (2, 3, 7).

GSBL'lar 1983 yılında Almanya'da saptanmış ve ilk kez Fransa'da klinik sorun yaratmıştır (2). 1985-1987 yılları arasında Fransa'da büyük bir salgın baş göstermiştir. GSBL oluşturan suşlar Paris civarındaki hastanelerde 1985 yılında %1'in altında saptanırken, 1988-1989'da %10-11 gibi bir sıklıkla görülmüşlerdir (38). Daha sonra GSBL oluşturan suşlar Avrupa, Amerika ve Uzakdoğu'da büyük salgınlara neden olmuşlardır. Amerika'da 1989-1990 yılları arasında Chicago, New York, San Francisco ve Boston'dan bu suşlarla gelişen salgınlar bildirilmeye başlanmıştır. 1994'e kadar Amerika'da Ulusal Nozokomiyal Enfeksiyon Araştırma Projesi'nin sonuçlarına göre, *Klebsiella* suşlarının % 8'inin GSBL oluşturduğu bildirilmiştir (1). Livermore ve Yuan (81) Avrupa'daki 35 merkezin yoğun bakım ünitelerine ait 966 *Klebsiella* suşunda GSBL varlığını araştırmışlar. Türkiye'nin de iki merkezden 63 suşla katıldığı çalışmada en yüksek GSBL pozitifliği %59 oranıyla ülkemiz suşlarında bulunmuştur. Çalışmaya katılan diğer 9 Avrupa ülkesi içinde bu oran %1-49 arasında değişmektedir. Goossens ve ark.'nın (82) yaptıkları veri analizi çalışmalarında 1997 ve 2000 yılları arasında GSBL sıklığının Rusya'da yaklaşık 2 kat, Türkiye'de 2 kat, Almanya'da 0.5 kat arttığını saptamışlardır. Yapılan tüm araştırmalar GSBL üretiminin dünyada ve ülkemizde hızla arttığına işaret etmektedir. Son yıllarda kromozomal kaynaklı GSBL üretimi

daha sık bildirilmesine rağmen, üretimin asıl olarak plazmid kaynaklı olması, bu direncin hızla yaygınlaşmasına neden olmaktadır. Zaten GSBL'nin insan sağlığı yönünden en önemli tehditi bu hızlı yayılımı ve zamanla sıklığındaki ilerleyici artışıdır (6).

Bir hastanede GSBL pozitif bakterilerin sıklığının bilinmesi; klinisyenin ampirik antibiyotik tedavisi seçeneklerinin belirlenmesinde yol gösterici olabileceği gibi, dirençli hastane infeksiyonu etkenlerinin yayılımı ve alınabilecek önlemler konusuna da ışık tutabilir. Genişlemiş spektrumlu beta-laktamaz üreten bakteriler *in vitro* 3. kuşak sefalosporinlere ve monobaktamlara duyarlı bulunsalar bile genellikle *in vitro* dirençli olduklarından söz konusu antibiyotiklerin tedavide kullanılması başarısızlığa neden olacaktır (1, 3). Bu nedenle GSBL üreten suşların neden olduğu enfeksiyonların uygun bir şekilde tedavi edilmesi öncelikle bu enzimleri üreten suşların doğru bir şekilde saptanabilmesi ile mümkündür. Genişlemiş spektrumlu beta-laktamaz üreten suşlarda, beta-laktam direncinin doğru bir biçimde ortaya konulmasında disk-difüzyon tekniği veya MİK saptamaya yönelik deneyler her zaman yeterli olamamaktadır. Özellikle 3. kuşak sefalosporinlere karşı orta düzeyde dirençli bulunan *E. coli* ve *Klebsiella* suşlarının GSBL üreten suşlar olup, gerçekten de bu antibiyotiklere karşı tamamen dirençli olabilecekleri unutulmamalıdır. Bu gerekçelerle, 1997 yılında National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS) (63), GSBL saptanmasına yönelik önerilerinde değişiklik yaparak yayımlamıştır. Buna göre, geniş spektrumlu sefalosporinlerin MİK değerlerinin 2 mcg/ml veya daha yukarı olması veya inhibisyon zon çaplarının aztreonam için 28, seftazidim için 23 ve sefotaksim için 26 mm'den az olması durumunun, GSBL üretimi yönünden uyarıcı olması gerektiği bildirilmiştir (56).

Bir suşun GSBL üretilip üretilmediğine o suş için yapılan disk-difüzyon veya mikrodilüsyon testlerinden elde edilen direnç paternine bakılarak karar verilebilir. Üçüncü kuşak sefalosporin ve aztreonam direnci gösteren ancak bunun yanında sefoksitin duyarlılığı bulunan bakteri suşlarının GSBL ürettiği tahmin edilebilir. Bu amaçla, 3. kuşak sefalosporinleri temsilen seftazidim ve sefotaksim, monobaktamlardan aztreonam kullanılarak antibiyogramlar düzenlenmelidir. Sefotaksiminin yerine başka bir 3. kuşak sefalosporin

kullanımı ile o suşların yalancı duyarlı yani enzim üretmiyor olması gözlenebilir (56,63).

GSBL üretimini belirlemede çeşitli yöntemler önerilmiştir. Bunlardan başlıcaları çift disk sinerji testi, üç boyutlu test, mikrodilüsyon testi (NCCLS konfirmasyon testi), E-test, kombine disk metodu ve otomatize sistemlerdir (57,64-66). Çift disk sinerji yöntemi, bahsedilen diğer yöntemlere göre kullanımı kolay, pratik ve ucuz olduğu için daha yaygın olarak kullanılmaktadır. Bu yöntem ile çok düşük seviyedeki GSBL enzim üretimi bile saptanabilmektedir (67). Ancak, bu yöntemde uygulama esnasında bazı zorluklarla karşılaşmakta, dolayısıyla doğru GSBL saptanmasında aksaklıklar gözlenebilmektedir. Bu aksaklıklardan bazıları şunlardır: Diskler arası uzaklığın tavsiye edilen 20-30 mm arasında olması sağlanmalıdır. Bu noktada 25 mm'lik uzaklık ideal bir mesafe olarak kabul edilmektedir. Eğer bu mesafe daha yakın olursa yanlış pozitif sonuçlar daha uzak olursa yanlış negatif sonuçlar artacaktır. Test edilen bakteri suşları içinde Amp-C dereprese mutantlarının bulunması durumunda klavulanat sinerjizminin doğru saptanabilmesi için mesafenin 20 mm olarak ayarlanması gerekebilir (68, 69).

Son zamanlarda saptanan bazı yeni GSBL enzimlerinde klavulanat sinerjizmi görülmeyebilmektedir (68). Bununla birlikte suşların aşırı derecede GSBL olmayan sefalosporinaz üretmesi de yine çift disk sinerji testinde klavulanat sinerjizminin görünmesini engelleyebilir. Ayrıca kullanılacak diskler uzun süredir stokta saklanıyorsa etkinliklerinde azalma olacak ve doğru bir GSBL tanımlanması yapılmasına olanak sağlamayacaktır (67, 69, 70). Dolayısıyla yukarıda belirtilen nedenlerden dolayı diskler arasında mesafe ayarlamının bazı durumlarda enzim saptanmasına etkisi olmamadığı görülmektedir.

E-Test, GSBL saptanmasında kullanılabilecek diğer pratik bir metottur. Disk kullanımına göre duyarlılığı gayet iyi düzeylerde dir. Uygulaması kolay olduğu için tercih edilmekte ancak, yüksek maliyetinden dolayı kullanımı sınırlanmaktadır (65, 71).

GSBL üreten bakterilerin oranları ülkeden ülkeye, hastaneden hastaneye hatta aynı hastane içerisindeki klinikler arasında bile farklılıklar gösterebilmektedir (72). Çeşitli çalışmalardan elde edilen sonuçlara göre ülkemizde de GSBL sıklığı bölgeler ve hatta hastaneler arası dahi ciddi

farklılıklar göstermektedir. Ayrıca, aynı merkezde farklı zamanlarda yapılan çalışmalarda dahi farklı GSBL oranları saptanmıştır. Bu farklılıklar; lokal epidemiyolojik faktörlerden, genel infeksiyon kontrol önlemlerinden, antibiyotik kullanım politikalarından, GSBL enzimlerinin zaman içinde hızlı yayılım göstermesi ve salgınlar yapmasından kaynaklanabilmektedir (69). Bundan dolayı literatürde GSBL oluşturan bakteri oranları çok düşük veya çok yüksek olarak bulunabilmektedir. Slovakya’da yapılan bir çalışmada *Klebsiella spp.*’de GSBL üretimi 1998’ de % 29 iken 2002’ de % 69’ lara çıkmıştır (77). Polonya’da yapılan bir diğer çalışmada *K. pneumonia*’nın GSBL oluşturma oranının 1997 ve 2000 yılları arasındaki 4 yıllık değişimi incelendiğinde oranın %16.5’ den % 40.4’ e yükseldiği saptanmıştır (78). Asya-Pasifik Surveyans Programı (SENTRY) 1998-2002 yılları arasında ülkelerin GSBL oranını *E. coli*’ de % 0.5-24.5, *K. pneumoniae*’ da % 3.7-35.6, *K. oxytoca*’ da %0-38.5 olarak saptamışlardır (84). Bir başka çalışmada ise GSBL sıklığına *Klebsiella spp.*’de %86.6, *E. coli*’ de %63.6 gibi daha yüksek oranda rastlanmaktadır (85).

GSBL üreten bakterilerin hem yayılımında hem de bölgesel farklılıkların oluşmasında antibiyotik kullanımı yanında temas izolasyonu önlemlerinin yetersizliği de önemlidir. Gioia ve Livermore’un (83) çalışmasında gerekli tedbirlerin alınması ve ciddi bir şekilde uygulanması ile birkaç yıllık bir süreçte GSBL’nin sıklığında azalma sağlandığı gösterilmiştir. Fransa’da yapılan bir araştırmada antibiyotik kullanımında herhangi bir kısıtlama yapılmadan, yalnızca temas izolasyonu önlemleri kullanılarak, yatan hastalardaki GSBL pozitifliği insidansının 1992’de %0.65’den 1995’de %0.06’ya düşürüldüğü bildirilmiştir (79).

GSBL oranındaki farklılıklar aynı zamanda, GSBL saptanmasında kullanılan yöntemin değiştirilmesi veya aynı yöntemin farklı standartlarla uygulanmasından kaynaklanabilmektedir. Gülay ve ark (73), 44 *K. pneumoniae* suşunda çift disk sinerji yöntemi ile GSBL üretimini araştırmışlar ve diskler arası mesafeyi 30 mm olarak düzenlediklerinde %57, 20 mm olarak düzenlediklerinde ise %89 oranında GSBL üretim sıklığı bulmuşlardır. Abacıoğlu ve ark (74) tarafından, 1995 yılında, 34 hastane kökenli çoklu antibiyotik direnci gösteren *K. pneumoniae* suşunda çift-disk sinerji (ÇDS) yöntemi ile yapılan çalışmada suşların hepsinde (%100) GSBL varlığı saptanmıştır. Aynı yıl yine aynı araştırmacı tarafından aynı yöntemle yapılan

ve 24 *K. pneumoniae* suşunun kullanıldığı çalışmada ise %62.5 oranında GSBL sıklığı bildirilmiştir (75). Hoşgör ve ark. (76) tarafından yapılan bir araştırmada ÇDS yöntemi ile *E. coli* suşlarının %17.6'sında GSBL belirlenirken, üç boyutlu yöntem kullanıldığında bu oranın %25.4' e çıktığı bildirilmiştir. E- test ve otomatize bir sistemin karşılaştırıldığı bir çalışmada ise E test ile *E.coli*'de %12.4, *K. pneumoniae*'da %73.3 ve *K. oxytoca*'da %51.8 olarak saptanan sonuçlar kullanılan otomatize sistemde sırasıyla %5.96, %44.77 ve %26.78 olarak daha düşük bulunmuştur (80).

Ülkemizde GSBL varlığının araştırıldığı çok sayıda çalışma yapılmış olup, bu çalışmaların 1995 yılından itibaren yoğunlaştığını görmekteyiz. Ülkemizde yapılan çeşitli çalışmalarda *Klebsiella* suşlarında % 12-100 ve *E. coli* suşlarında % 0 ile % 88 arasında değişen oranlarda GSBL sıklığı bildirilmektedir (74,86-88)

Fırat Üniversitesi Fırat Tıp Merkezi'nde, 2000 yılında yapılan bir araştırmada, *E. coli* ve *klebsiella* suşlarında GSBL sıklığı % 61 oranında saptanmıştır (89). Dünyada ve ülkemizde yapılan çalışmalarda GSBL üretiminin *Enterobacteriaceae* familyası içinde *K.pneumoniae*'da daha fazla olduğunu göstermiştir. GSBL enzimlerinin *Klebsiella* türlerinde yaygın olmalarının nedeni bu mikroorganizmaların deri ve yüzeylerde diğer enterik bakterilere göre daha uzun süre canlı kalabilmeleri ve spontan mutasyonların daha sık görülmesi olarak bildirilmektedir. (25,91)

GSBL taşıyan bakterilerle oluşan infeksiyonların tedavisi ile ilgili bilgiler, in vitro antibiyotik duyarlılık sonuçları, deneysel hayvan modelleri, vaka raporları, retrospektif ve prospektif gözleme dayalı çalışmalar sonucu ortaya çıkmıştır, fakat bu konuda randomize kontrollü çalışma yoktur. GSBL taşıyan bakterilerle oluşan infeksiyonların tedavisinde kullanılabilecek tedavi seçenekleri oldukça sınırlıdır. GSBL taşıyan bakteriler aztreonam ve 3. kuşak sefalosporinlere ve geniş spektrumlu penisilinlere karşı direnç gösterirken, sefoksitin, beta-laktamaz inhibitörleri ve karbapenemlere karşı duyarlılıklarını genellikle sürdürürler. Beta-laktam dışındaki tetrasiklin, kloramfenikol, trimetoprim-sülfametoksazol, kinolon ve aminoglikozid antibiyotik gruplarına ise çoğu zaman değişik mekanizmalarla direnç geliştirebilirler (10,49,90). Yapılan bir çok istatistiksel çalışmada, GSBL pozitif suşlarının beta-laktam olmayan antibiyotik direncinin GSBL üretmeyen suşlara göre anlamlı derecede

yüksek olduğu bulunmuştur (92). Karbapenemler, GSBL üreten bakterilere karşı kullanılabilecek en etkili antibiyotik olma özelliklerini hala devam ettirmektedir (10,82,90). Ancak hayatı tehdit edici infeksiyonlar dışında her GSBL (+) infeksiyonda karbapenemler kullanılmamalıdır. Son yıllarda, GSBL enzimlerinin hastanelerde aşırı yaygınlaşması sonucu klinisyenler gerek ampirik gerekse profilaktik amaçla başlanan antibiyotik tedavilerinde karbapenemleri daha çok tercih etmektedirler. Bu ise, gereksiz ve yoğun karbapenem kullanımını beraberinde getirmiş ve imipenem veya meropenem dirençli bakteri suşlarının neden olduğu ciddi hastane kökenli infeksiyonların gelişmesine neden olmuştur (10,48). Lepper ve ark. (102) imipenem tüketiminin *Pseudomonas aeruginosa*'daki beta-laktam direnci ile korelasyon gösterdiğini saptamışlardır. Gioia ve Livermore (83), GSBL üreten izolatların antibiyotik duyarlılıklarının yıllara göre değişimini izlemiş ve birkaç yıllık süreçte, piperasilin-tazobaktam direncinin iki kat, kinolon direncinin ise yaklaşık 3-4 kat arttığını, meropenem karşı direnç gelişmediğini, ancak yüksek MİK değerli (2-4 mcg/ml) duyarlılığın %1 oranında ortaya çıktığını bildirilmişlerdir.

Gültekin ve ark. 1995-1997 yılları arası hastane etkeni olarak izole ettikleri mikroorganizmalardan GSBL pozitif *E. coli*'de %7, *K. pneumoniae*'de % 4 oranında imipenem direnci saptamışlardır (93). Günseren ve ark. 1996'da GSBL *E. coli* ve *K. pneumoniae*'da %8 oranında imipenem direnci saptamışlardır (37). Yurt dışında yapılmış bir diğer çalışmada da GSBL pozitif *E. coli* ve *K. pneumoniae*'da % 8 oranında imipenem ve meropenem direnci saptanmıştır (94). Aynı yazarlar bir başka araştırmada bu direncin % 14'e yükseldiğini saptamışlardır (95). Asya-Pasifik Surveyans Programı (SENTRY)'nın 1998-2002 yıllarını kapsayan araştırmasında *E. coli* ve *K. pneumoniae*'da imipenem direncine rastlanmamış ve ülkelere göre MİK değerlerinin dağılımı incelendiğinde *K.pneumoniae*'da MİK₅₀ değerinin 0.25-1mcg/ml, MİK₉₀ değerinin ise 0.25-2mcg/ml arasında değiştiği, *E. coli*'de MİK₅₀ değerinin 0.12-0.25mcg/ml, MİK₉₀ değerinin ise 0.25-2mcg/ml arasında değiştiği saptanmıştır (84). Çalışmamızda İmipenemin MİK_{50/90} değerleri *E.coli* ve *Klebsiella spp.* için 0.5/0.5 mcg/ml, meropenemin ise her iki mikroorganizma için 0.12/0.12 mcg/ml'dir. Elde edilen değerler imipenem ve meropenem için direnç sınırı olan 4mcg/ml'den oldukça düşük saptanmış olup

bu iki ilacın her iki suşa karşı halen yüksek etkinliğini koruduğu gözlenmiştir. Bununla birlikte imipenem ve meropenem için yüksek MİK değerli (2-4mcg/ml) duyarlılık gösteren suş sayısı *E. coli* ve *Klebsiella spp.*'de sırasıyla 7 ve 3 tanedir. Bu durum imipenem ve meropenem etkinliğindeki azalmanın bir göstergesi olup bu suşların neden olduğu ciddi infeksiyonlarda iyi bir doz ayarlaması gerekmektedir.

Karbapenemlerin üstün etkinliklerinin devamını sağlamak, hastanelerde karbapenem direncinin gelişimini önlemek veya en azından geciktirmek daha kolay ve ucuz antibiyotik rejimlerinin kullanımını sağlamak amacı ile GSBL üreten bakterilerin yol açtığı infeksiyonların tedavisinde alternatif olabilecek antibiyotiklerin etkinliğinin belirlenmesi gereklidir.

GSBL üreten bakterilerle oluşan infeksiyonların tedavisi için uygulanan yaklaşımlardan birisi beta-laktamaza dayanıklı olmayan bir antibiyotikle bir beta-laktamaz inhibitörünü kombine etmektir. GSBL'ler genellikle, klavulanik asit, sulbaktam ve tazobaktam ile inhibe olurlar. Bu amaçla amoksisilin-klavulanat, sefoperazon-sulbaktam, tikarsilin-klavulanat ve piperasilin-tazobaktam gibi kombinasyonlar kullanılabilir. Bu üç beta laktamaz inhibitörü içinde GSBL'ye en etkilisi tazobaktamdır. Özellikle TEM ve SHV kökenli suşlarda özellikle CPS ve PIP-TAZ başarılı bir şekilde kullanılabilir. Leleu ve ark. (96) piperasilin-tazobaktam kombinasyonunun, GSBL üreten *K. pneumoniae*'nin neden olduğu endokardit ve menenjit gibi infeksiyonların sağaltımında düşük dozlarda dahi etkin olabileceğini savunmuşlardır. Diğer taraftan Gioia ve ark. (97) GSBL üreten *Klebsiella* suşlarında piperasilin-tazobaktam kombinasyonunun etkinliğinin çok değişken olduğunu ve ayrıca duyarlılık oranlarının tazobaktam komponentinin konsantrasyonuna göre farklılık gösterdiğini saptamışlardır. Bir çalışmada ise iki yıllık bir takipte, piperasilin-tazobaktam kullanılan GSBL infeksiyonlarının yarısından fazlasında tedavi başarısızlığının izlenmesi üzerine, bu ajanın rutin olarak GSBL infeksiyonlarında kullanımının uygun olmayacağı saptanmıştır (98). GSBL üreten mikroorganizmaların neden olduğu enfeksiyonların tedavisinde karşılaşılan önemli problemlerden biri inokulum etkisi olup, standart mikrobiyolojik inceleme esnasında yapılan antibiyogramda antibiyotiklerin 10^5 cfu/ml bakteri yoğunluğunda test edildiklerinde duyarlı sınırlarda bulunan MİK değerleri, bakteri inokulumunun 10^7 cfu/ml'e çıkması

ile belirgin olarak artmaktadır. Thomson ve Moland (51), GSBL üreten suşlarda inokulum etkisi ile sefalosporinlerin MİK değerlerinin yaklaşık 128 kat, PIP-TAZ MİK değerinin ise 4-64 kat arttığını saptamışlardır. Karbapenem MİK değerinin ise çok az etkilendiğini veya etkilenmediğini saptamışlardır.

Yurt dışı ve yurt içi çalışmaların sonuçlarına göre GSBL üreten suşların piperasilin-tazobaktam duyarlılığı çok değişkendir. Gültekin ve ark. (93) GSBL üreten *E. coli* ve *K. pneumoniae* suşlarında PIP-TAZ duyarlılığını %70 ve %62, Uraz ve ark. (99) %94.7 ve %61.8 oranında bulmuşlardır. Özbilge ve ark. (100) GSBL üreten 34 gram negatif çomakta PIP-TAZ duyarlılığını %85 oranında saptarken, Günseren ve ark. (37) GSBL üreten *E. coli* ve *K. pneumoniae* suşlarında %12.5 gibi oldukça düşük bir oranda saptamışlardır.

SENTRY (1998-99) surveyans programı çalışma sonuçlarına göre GSBL üreten suşların PIP-TAZ duyarlılığının ülkelere göre farklılıklar gösterdiği ve *E. coli*'de %50-100 arasında, *K. pneumoniae*'da ise %50-96 arasında değişen değerlerde olduğu saptanmıştır (101). Joumana ve ark. (103) GSBL üreten *E. coli* ve *K. pneumoniae* suşlarında PIP-TAZ duyarlılığını %83 ve %91, Bradley ve ark. (104) %96 ve %86, Spanu ve ark. (92) GSBL üreten *Enterobacteriaceae* üyelerinde %91, Cao ve ark. (105) ise %89.4 oranında saptamış ve PIP-TAZ kombinasyonunun GSBL üreten mikroorganizmalarla gelişen enfeksiyonların tedavisinde karbapenemlerden sonra en iyi seçenek olabileceğini vurgulamışlardır. Bunun yanında *K. pneumoniae* suşlarında PIP-TAZ duyarlılığı Zeina ve ark. (106) %24.2, Bishara ve ark. (107) %18 oranında oldukça düşük saptamışlardır. Romero ve ark. (108) %75 ve %52, Casellas ve ark. (109) %75.6 ve %58.9 şeklinde bizim çalışma sonuçlarımıza daha yakın değerlerde bulmuşlardır. Çalışmamızda PIP-TAZ duyarlılığı *E. coli* 'de %75.2, *K. pneumoniae*'da %69.8, *K. oxytoca*'da %55.6 oranında bulundu. Ayrıca yukarıda belirttiğimiz çalışmalarla uyumlu olarak PIP-TAZ duyarlılık oranının *E. coli* suşlarında, *Klebsiella* suşlarına göre daha yüksek olduğunu saptadık.

Özellikle TEM ve SHV kökenli suşlarda olmak üzere GSBL üreten mikroorganizmalarda kullanılabilecek bir diğer kombinasyon sefaperazon-sulbaktamdır. Çalışmamızda CPS duyarlılığını *E. coli* 'de %72.6, *K. pneumoniae* 'da %69.8, *K. oxytoca*'da %40.7 oranında bulduk. PIP-TAZ

kombinasyonu *E.coli*'de az fark olmakla birlikte özellikle *K.oxytoca*'da CPS' a göre daha yüksek etkinlikli olarak bulunmuştur. Bunun nedeninin piperasilin-tazobaktam kombinasyonundaki beta-laktamaz inhibitörü olan tazobaktamın, sulbaktama göre GSBL enzimlerini daha iyi hidrolize etmesi olduğu düşünülmüştür. GSBL üreten *Enterobacteriaceae* üyelerinde CPS duyarlılığı ülkemizde %32.7-91 arasında değişen oranlarda saptanırken yurt dışı çalışmalarda genellikle yüksek oranlarda duyarlılık saptanmıştır (100-111). Stratchounski ve ark (112) GSBL üreten *E. coli* ve *K. pneumoniae* suşlarında CPS duyarlılığını %94.1, Lim ve ark. (110) %90 oranında bulmuşlardır. Çalışmamızdaki CPS duyarlılığı yurt dışından elde edilen sonuçlara göre daha düşük bulunmuştur.

Amoksisilin-klavulanat genellikle GSBL üreten suşlara düşük etkinliktedir. Yüksek oranda duyarlılığın bildirildiği çok az çalışma vardır. Spanu ve ark. (92) GSBL üreten enterobacteriaceae üyelerinde AMC duyarlılığını %85 oranında saptamış ve beta laktamaz inhibitörlü kombinasyonların GSBL üreten mikroorganizmalarla gelişen enfeksiyonların tedavisinde karbapenemlerden sonra en iyi seçenek olabileceklerini vurgulamıştır. Stratchounski ve ark.(112) GSBL üreten *E. coli* ve *K. pneumoniae* suşlarında AMC duyarlılığını %17.2, Özbilge ve ark. (100) %24 oranında oldukça düşük saptamışlardır. Çalışmamızda AMC duyarlılığı *E. coli* 'de %29.6, *K. pneumoniae*'da %23.3, *K.oxytoca*'da %18.5 oranında ve her iki mikroorganizmada da CPS ve PIP-TAZ'a göre daha düşük oranda saptanmıştır.

Sonuç olarak; çalışmamızda *E. coli*, *K. Pneumoniae* ve *K. oxytoca*'da imipenem ve meropeneme direnç saptanmamıştır. Beta-laktamaz inhibitörü içeren kombine antibiyotiklerden *E. coli*'ye en duyarlısı piperasilin-tazobaktam (%75.2) olup sefoperazon-sulbaktam duyarlılığı %72.6 olarak ölçülmüştür. Amoksisilin-klavulanat ise % 29.3 oranında duyarlı saptanmıştır. *K. pneumoniae*'da piperasilin-tazobaktam ve sefoperazon-sulbaktam duyarlılığı eşit olup %69.8 olarak saptanmıştır. *K. oxytoca*'da piperasilin-tazobaktam duyarlılığı % 55.8 olup sefoperazon-sulbaktam (%40.7)'dan daha duyarlı bulunmuştur. Amoksisilin-klavulanat duyarlılığı *K. pneumoniae* ve *K. oxytoca*'da % 23.3 ve %18 olarak saptanmıştır. Sonuç olarak beta-laktamaz

inhibitörü içeren kombine antibiyotiklere *K. oxytoca* ve *K. pneumoniae* suşlarının duyarlılıkları *E. coli* 'ye göre daha düşük bulunmuştur. Onbir suş *E. coli*, 3 suş *K. pneumoniae* ve 1 suş *K. oxytoca* olmak üzere toplam onbeş suş her üç antibiyotiğe de dirençli bulunmuştur.

İmipenemin MİK_{50/90} değerleri *E. coli* ve *Klebsiella spp.* için 0.5/0.5 mcg/ml, meropenemin ise her iki mikroorganizma için 0.12/0.12 mcg/ml'dir. Piperasilin-tazobaktam ve sefoperazon-sulbaktam'ın *E.coli* için MİK_{50/90} değerleri 8/4-64/4 ve 8/8-64/64 mcg/ml, *Klebsiella spp.* için 16/4-128/4 ve 16/16-128/128 mcg/ml olarak saptanmış olup mik₅₀ değerleri duyarlılık sınırları içinde ölçülürken, mik₉₀ değeri *klebsiella spp.*'de her iki antibiyotik için direnç sınırları içinde *E. coli*'de ise piperasilin-tazobaktam için az hassas sınırında, sefoperazon-sulbaktam için dirençlilik sınırında ölçülmüştür. Amoksisilin-klavulanat'ın MİK_{50/90} değerleri *E. coli* için 16/8-64/32 mcg/ml, *Klebsiella spp.* için 32/16-128/64 mcg/ml olarak saptanmış MİK₅₀ hem de MİK₉₀ değerleri direnç sınırları içinde ölçülmüştür.

Sonuç olarak, GSBL üreten *E. coli* ve *K. Oxytoca*'da piperasilin-tazobaktam sefoperazon-sulbaktama göre göreceli olarak daha etkin bulunmuştur. *K. pneumoniae*'da ise her iki antibiyotiğin etkinliği eşit bulunmuştur. Biz bu iki antibiyotiğin ancak komplike olmayan ve hayati önemi bulunmayan enfeksiyonlarda ampirik kullanımının daha uygun olacağını ve hayati tehdit eden ciddi sistemik enfeksiyonlarda mutlaka duyarlılık testleri sonrası kullanılması gerektiğini düşünmekteyiz. Amoksisilin-klavulanat bu enfeksiyonların tedavisinde yeterli etkinlikten oldukça uzak görünmektedir. İmipenem ve meropenem GSBL üreten suşların tedavisinde güvenle kullanılabilecek ajanlardır.

7.KAYNAKLAR

1. Livermore DM. β -lactamases in laboratory and clinical resistance, *Clin Microb Rev* 1995; 8:557-84
2. Philippon A, Arlet G, Lagrange PH. Origin and impact of plasmid mediated extended-spectrum beta-lactamases, *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 1994; 13(Suppl 1): 17-29
3. Qinn JP. Clinical significance of extended-spectrum beta-lactamases. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis*, 1994; 13 (Suppl 1):39.
4. M. Matthew, Plasmid-mediated β -lactamases of Gram-negative bacteria: Properties and distribution, *J Antimicrob Chemother*,1979; 5: 349-358.
5. K. Bush, G.A. Jacoby, A.A. Medeiros, A functional classification scheme for β -lactamases and its correlation with molecular structure, *Antimicrob. Agents Chemother*.1995; 39:1211-1233.
6. Jacoby GA, Medeiros AA. More extended spectrum beta-lactamases. *Antimicrob Agents Chemother* 1991;35:1697-1704.
7. Rahal JJ. Extended-spectrum β -lactamases: how big is the problem? *Clin Microbiol Infect*, 2000;6 (suppl.2): 2-6
8. Patterson JE. Antibiotic utilization, is there an effect on antimicrobial resistance. *Chest* 2001;119:426-430.
9. Rice L. Evaluation and clinical importance of extended spectrum of beta-lactamases. *Chest* 2001;119:391-396.
10. Wang H, Chen M, Wei X, Xu Y, Zhang X, Zhang Y, Yuan Y, et al. In vitro activity of meropenem and four other antibiotics against 554 clinical strains obtained from Beijing in 1999. *J Infect Chemother* 2000;6:178-183.
11. Baron EJ, Peterson LR, Finegold SM. (1994). Enterobacteriaceae. “Bailey & Scott’s Diagnostic Microbiology ” Baron EJ, Peterson LR, Finegold SM (Editörler).Mosby, Baltimore. 362-387.
12. Bilgehan H. (1992). Enterobacteriaceae. “Klinik Mikrobiyolojik Tanı” Fakülteler Kitabevi, Ankara. 387-411.

13. Ryan KJ. (1994). Enterobacteriaceae. “Sherris medical Microbiology (an Introduction to Infectious Diseases)” Ryan KJ (Editör). Prentice-Hall International, Montreal. 323-29.
14. Medeiros AA. Beta-lactamases. Br Med Bull 1984; 40:18-27.
15. Sanders CC. Beta-lactamases of gram-negative bacteria: New challenges for new drugs. Clin Infect Dis 1992;14:1089-99.
16. Neu HC. Beta-lactamases: A perspective on the contribution of these enzymes to bacterial resistance. Postgraduate Medicine 1984;7-21.
17. Datta N, Kontomichalou P. Penicillinase synthesis controlled by infectious R-factors in Enterobacteriaceae. Nature 1965;208:239-41.
18. Kliebe C, Nies BA, Meyer JF, Tolxdorf-Neutzling RM, Wiedemann B. Evolution of plasmid-coded resistance to broad-spectrum cephalosporins. Antimicrob Agents Chem 1985;28:302-7.
19. Sirot D. Extended- spectrum plasmid-mediated beta-lactamases, *J Antimicrob Chemother* 1995; 36 (Suppl A): 19-34
20. Bilgehan H.: Enterobacteriaceae Familyası. Klinik Mikrobiyoloji Özel Bakteriyoloji ve Bakteri Enfeksiyonları Kitabı, (Derleyen) Bilgehan H., İzmir, 2000, 1-103.
21. Ewing, W. H.: The Genus Klebsiella. Identification of Enterobacteriaceae, (Eds) Edwards, P.R., Ewing, W.H., Fourth Edition, New York, Amsterdam, Oxford, Elsevier Science Publishing Co. Inc., 1986, 365-380
22. Pfaller MA, Jones RN, Biedenbach DJ. Antimicrobial resistance trends in medical centers using carbapenems: report of 1999 and 2000 results from the MYSTIC program. Diagn microbiol Infect Dis 2001;41:177-182.
23. Opal SM, Mayer KH, Medeiros AA. Mechanisms of antibiotic resistance, In: Mandell GL, Bennett JE, Dolin R, eds. Principles and Practice of Infectious Diseases. 5th ed. New York: Churchill Livingstone. 2000:236-252.
24. Livermore DM. Of pseudomonas, porins, pumps and carbapenems. J Antimicrob Chemother 2001;47:247-250.

25. Özsoy MF, Öncül O, Yıldırım A, Pahsa A. Genişlemiş spektrumlu beta-laktamazlar: klinik önemi ve getirdiği sorunlar. *Flora* 2001;6(Ek 1): 03-23.
26. Poirel L, Nordman P. Acquired carbapenem hydrolysing beta-lactamases and their genetic support. *Curr Pharm Biotechnol* 2002;3:117-127.
27. Echeverria P., Sethabutr O., Pitarangsi C.: Microbiology and Diagnosis of Infections with Shigella and Enteroinvasive Escherichia coli. *Rev Infect Dis* 1991;13 (Suppl 4): 220-225.
28. Riley L. W.: The Epidemiological, Clinical and Microbiological Features of Hemorrhagic Colitis. *Ann Rev Microbiol* 1987; 41: 383-407.
29. Thielman N. M.: Enteric Escherichia coli Infection. *Curr Opinion Infect Dis* 1994; 7: 582-591.
30. Vial P. A., Browne R., Lior H.: Characterization of Enteroadherent Aggregative Escherichia coli, a Putative Agent of Diarrheal Disease. *JID* 1998; 158:70-79.
31. Canton R, Oliver A, Coque TM, Varella MC, Perez DJC, Baquero F. Epidemiology of extended spectrum beta-lactamase producing enterobacter isolates in a Spanish hospital during a 12 year period. *J Clin Microbiol* 2002; 40:1237-1243.
32. Kim YK, Hyunjoon P, Hoang JL, Su EP, Eun HC; Jungmin K, Hak JK, Eui CK. Bloodstream infections by extended spectrum beta-lactamase producing *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae* in children: epidemiology and clinica outcome. *Antimicrobs Agent Chemother* 2002;46:1481-1491.
33. Nordmann P, Guibert M. Extended spectrum beta-lactamases in *Pseudomonas aeruginosa*. *J Antimicrob Chemother* 1998;42:128-131.
34. Nordmann P, Ronco E, Naas T, Duport C, Michel By, Labia R. Characterization of a novel extended spectrum beta-lactamase from *Pseudomonas aeruginosa*. *Antimicrob Agents Chemother* 1993;37:962-969.
35. Gür D, Pitt TL, Hall LMC, Akalın HE, Livermore DM. Diversity of Klebsiella with extended-spectrum β -lactamases at a Turkish universityhospital. *J Hosp Infect* 1992;22:163-78

36. Gür D, Gültekin M, Ögünç D, et al. Comparative in vitro activity of piperacillin-tazobactam against gram-negative nosocomial pathogens. 21st International Congress of Chemotherapy, Poster no149. 4-7 July,1999, Birmingham, UK.
37. Günseren F, Mamıkoğlu L, Öztürk S, et al. A surveillance study of antimicrobial resistance of gram-negative bacteria isolated from intensive care units in eight hospitals in Turkey. J Antimicrob Chemother 1999;43:373-8.
38. Livermore DM, Williams JD. Mode of action and mechanism of bacterial resistance, In: Lorian M (ed.). Antibiotics in Laboratory Medicine. New York. Williams and Wilkins, 1996:502-578.
39. Akova M. Beta-laktam antibiyotikler. Beta-Laktamazlara Bağlı Antibiyotik Direnci: sorunlar ve çözüm önerileri. İstanbul.1995.
40. Karen B. New beta-lactamases in Gram-negative bacteria: diversity and impact on the selection of antimicrobial therapy. Clin Infect Dis 2001;32:1085-1089.
41. Hall LMC, Livermore DM, Gür D, Akova M, Akalın HE. OXA-11, an extended spectrum variant of OXA-10 (PSE-2) beta-lactamase from *Pseudomonas aeruginosa*. Antimicrob Agents Chemother 1993;37:1637-1640.
42. Gür D. Beta-laktamazların sınıflandırılması. Flora Dergisi 1996;1:80-86.
43. Nicolas-Chanoine MH. Inhibitor-resistant β -lactamases. J Antimicrob Chemother 1997;40:1-3
44. Stürenburg E, Mack D. Extended-spectrum β -lactamases: Implications for the clinical microbiology laboratory, therapy, and infection control. J Infect 2003;47:273-95.
45. Bradford PA. Extended-spectrum β -lactamases in the 21st century: Characterization, epidemiology, and detection of this important resistance threat. Clin Microbiol Rev 2001;14:933-51.
46. Lin MF, Huang ML, Lai SH. Risk factors in the acquisition of extended spectrum beta-lactamase *Klebsiella pneumoniae*: a case control study in district teaching hospital in Taiwan. J Hosp Infect 2003;53:39-45.

47. Mayer KS, Urban C, Eagen JA. Nosocomial outbreak of *Klebsiella* infection resistant to late generation cephalosporins. *Ann Intern Med* 1993;119:353-358.
48. Rahal JJ. Class restriction of cephalosporin use to control total cephalosporin resistance in nosocomial *Klebsiella*. *JAMA* 1998;280:1233-1237.
49. Halina RK, Marek G, Danuta RZ, Maria N, Maria R, Barbara W, Gayane M. Incidence of extended – spectrum beta-lactamases in clinical isolates of the family Enterobacteriaceae in a pediatric hospital. *Acta Microbiol Pol.* 2004;53 (1):27-34.
50. Benedic B, Beader N, Zagar Z. Effect of inoculum size on the antibacterial activity of cefpirome and cefepime against *Klebsiella pneumoniae* strains producing SHV extended-spectrum beta-lactamases. *Clin Microbiol Infect* 2001;7:626-635.
51. Thomson KS, Moland ES. Cefepime, piperacillin-tazobactam, and the inoculum effect in tests with extended-spectrum beta-lactamase-producing *Enterobacteriaceae*. *Antimicrob Agents Chemother* 2001;45:3548-3554.
52. Pagon B, Bizet C, Bure A, et al. In vivo selection of a cephamycin-resistant, porin-deficient mutant of *Klebsiella pneumoniae* producing a TEM-3 beta-lactamase. *J Infect Dis* 1989;159:1005-1006.
53. Martinez- Martinez L, Hernandez-Alles S, Alberti S, Tomas JM, Benedi VJ, Jacoby GA. In vivo selection of porin deficient mutants of *Klebsiella pneumoniae* with increased resistance to cefoxitin and expanded-spectrum-cephalosporins. *Antimicrob Agents Chemother* 1996;40:342-348.
54. Paterson DL, Mulazimoğlu L, Casellas JM, et al. Epidemiology of ciprofloxacin resistance and its relationship to extended-spectrum beta-lactamase production in *Klebsiella pneumoniae* isolates causing bacteremia. *Clin Infect Dis* 2000;30:473-478
55. Martinez- Martinez L, Pascual A, Jacoby GA. Quinolone resistance from a transferable plasmid. *Lancet* 1998;351:797-799.
56. National Committee for Clinical Laboratory Standards. Performance standards for antimicrobial disk susceptibility tests. Approved standards M2 A7. Wayne, PA: NCCLS, 2005.

57. Thomson KS, Sanders CC. Detection of extended spectrum of beta-lactamases in members of the family *Enterobacteriaceae* : comparison of double disk and three dimensional test. *Antimicrob Agents Chemother* 1992;36:1877-1882.
58. M'Zali MF, Chanawong A, Kerr KG, Birkenhead D, Hawkey PM: Detection of extended spectrum beta-lactamases in the members of the family *Enterobacteriaceae* : a comparison of Mast DD method, the double disk test and E-test GSBL. *J Antimicrob Chemother* 2000;45:881-885.
59. Thomson KS, Sanders CC, Moland ES. Use of microdilution panels with and without beta-lactamase inhibitors as a phenotypic test for beta-lactamase production among *Escherichia coli*, *Klebsiella spp*, *Enterobacter spp*, *Citrobacter freundii* and *Serratia mercenscens*. *Antimicrob Agents Chemother* 1999;43:1393-1400.
60. Randegger CC, Hachler H. Real time PCR and melting curve analysis for reliable and rapid detection of SHV extended spectrum of beta-lactamases. *Antimicrob Agents Chemother* 2001;45:1736-2001.
61. Sanders CC, Barry AL, Washington JA, Shoubert C, Moland ES, Traczewski MM, Knap C, Mulder R. Detection of extended spectrum of beta-lactamase producing members of the family *Enterobacteriaceae* with the Vitec GSBL test. *J Clin Microbiol* 1996;34:2997-3001.
62. Koneman EW, Allen SD, Dawel UR, Sommers HM. *Color Atlas and Textbook of Diagnostic Microbiology*. 4th ed. Philadelphia: JB Lippincott Co, 1993:104-84.
63. National Committee for Clinical Laboratory Standards. Performance standards for antimicrobial disk susceptibility tests. Approved standards M2 A6. Wayne, PA: NCCLS, 1997.
64. V. Jarlier, M.H. Nicolas, G. Fournier, A. Philippon, Extended spectrum β -lactamases conferring transferable resistance to newer β -lactam agents in *Enterobacteriaceae*: Hospital prevalence and susceptibility patterns, *Rev. Infect. Dis.* 10 (1988) 867-878.

65. Cormican, M. G., S. A. Marshall and R. N. Jones. 1996. Detection of extended-spectrum β -lactamase (GSBL)-producing strain by the E test GSBL screen. *J. Clin. Microbiol.* 34:1880-1884.
66. NCCLS. M100-S13. Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing; Thirteenth Informational Supplement. NCCLS. NCCLS documents. 2003 Wayne, Pennsylvania, USA, National Committee for Clinical Laboratory Standards. NCCLS documents.
67. Sirot DC. Detection of extended spectrum plasmid mediated beta-lactamases by disk-diffusion method. *Clin Microbiol Infect* 1996;2 (Suppl-1):35-42.
68. Livermore DM, Brown DFJ. Detection of beta-lactamase mediated resistance. *J Antimicrob Chemother* 2001;48(Suppl-1):59-64.
69. Sirot DC, Goldstein FW, Soussy CJ, Courtieu AL,. Resistance to cefotaxime and seven other beta-lactams in members of the family *Enterobacteriaceae*; a 3 years survey in France. *Antimicrob Agents Chemother* 1992;36:1677-1681.
70. Moland ES, Thompson KS. Extended spectrum beta-lactamases of *Enterobacteriaceae*. *J Antimicrob Chemother* 1994;33:925.
71. Baker CN, Stacker SA, Culver DH, Thornsberry C. Comparison of E-Test to agar dilution, broth microdilution and agar diffusion susceptibility testing techniques by using a special challenge set of bacteria. *J Clin Microbiol* 1991; 29:533-539.
72. Legrand P, Fournier G, Bure A, Jarlier V. Detection of extended broad spectrum beta lactamases in enterobacteriaceae in four French hospitals, *Eur J Microbiol Infect Dis* 1989; 8:527-529
73. Gülay Z, Abacıoğlu H, Yuluğ N. Çift disk sinerji yönteminde diskler arası uzaklığın sonuca etkisi. *İnfeksiyon Dergisi* 1995;9:89-92.
74. Abacıoğlu YH, Aslani M.M, Gülay Z, İnan S, Yuluğ N. Resistotyping and plasmide profile analysis of multiply resistant *Klebsiella pneumoniae* strains isolated during a nosocomial outbreak. *İnfeksiyon Dergisi* 1995;9:63-66.

75. Abacıoğlu YH, Yücesoy M, Gülay Z, İnan S, Yuluğ N. Extended spectrum beta-lactamase saptanmasında E-Test ve çift disk sinerji yönteminin karşılaştırılması. *İnfeksiyon Dergisi* 1995;9:93-95.
76. Hoşgör M, Özkan F, Tünger A, Yapar N, Özinel M. A. Gram Olumsuz Çomaklarda Genişlemiş Spektrumlu Beta-Laktamaz Araştırılması, 8.Türk Mikrobiyoloji ve İnfeksiyon Hastalıkları Kongresi Program ve Özet Kitabı, Klimik Derneği, İstanbul, 1997,708.
77. Timko J. Changes of antimicrobial resistance and extended-spectrum beta-lactamase production in *Klebsiella spp.* strains. *J Infect Chemother*,2004 Aug;10(4):212-5
78. Sekowska A, Janicka G, Klyszejko C, Wojda M, Wroblewski M, Szymankiewicz M. Resistance of *K. pneumoniae* strains producing and not producing GSBL type enzymes to selected non-betalactam antibiotics.[Med Sci Monit.](#) 2002;8 (3):100-4.
79. Lucet J.C, Decre D, Fichelle A, Guillou M. L. J, Pernet M, Deblangy C, Kossmann M.J. Control of a Prolonged Outbreak of Extended-Spectrum Beta-Lactamase-Producing Enterobacteriaceae in a University Hospital, *Clinical Infectious Disease*,29:1411-1418, 1999.
80. Ozakin C, Sinirtas M, Sevgican E, Kazak E, Gedikoğlu S. Comparison of the E-test method with an automated bacterial identification and antimicrobial susceptibility detection system for screening extended-spectrum beta-lactamase producers. *Scand J Infect Dis.* 2003;35(10):700-3
81. Livermore DM, Yuan M: Antibiotic resistance and production of extended-spectrum beta-lactamases amongst *Klebsiella spp.* From intensive care units in Europe, *J Antimicrob Chemother.* 1996; 38:409
82. Goossens H. MYSTIC Program: summary of European data from 1997 to 2000. *Diagn Microbiol Infect Dis* 2001;41:183-189.
83. Gioia SB, Livermore DM. Antimicrobial resistance among *Klebsiella spp* collected from intensive care units in southern and western europe in 1997-98. *Journal of Antimicrobial and Chemotherapy* 2000;45:183-189.
84. The SENTRY Asia-Pacific Participants. Regional variation in the prevalence of extended-spectrum beta-lactamase-producing clinical isolates in the Asia-Pacific region (SENTRY 1998-2002). *Diagnostic Microbiology and Infectious Disease* 2005;50:323-329.

85. Jain A, Roy I, Gupta MK, Kumar M, Agarwal SK. Prevalance of extended-spectrum beta-lactamase producing gram negative bacteria in septicemic neonates in tertiary care hospital. *J Med Microbiol* 2003;52(5):421-25
86. Akay H, Özkan S, Sultan N, Kuştimur S, Çırak M: Extended-spectrum beta-Lactamase activity in Gram negative bacteria isolated from nosocomial infections, *Türk Mikrobiyol Cem Derg* 1997; 27:37
87. Kuzucu Ç, Kabakçioğlu M, Özışık A, Ezen F, Acar N. Nozokomiyal Gram negatif bakterilerde genişlemiş spektrumlu ve kromozomal beta-laktamaz saptanması. 8. Türk Klinik Mikrobiyoloji ve Enfeksiyon Hastalıkları Kongresi 1997; Kongre kitabı s 672, Antalya
88. Durmaz G, Aydın A, Yıldız Ü, Akgün Y. Aminoglikozitlere dirençli ve geniş spektrumlu beta-laktamaz pozitif gram negatif bakterilerde meropenem ve imipenem etkinliği. *İnfeks Derg* 1997;11:19.
89. Demirdağ K, Kizirgil A, Özden M, Kalkan A, Felek S, Toraman ZA. Hastane ve toplum kökenli *Klebsiella pneumoniae* ve *Escherichia coli* suşlarında genişlemiş spektrumlu beta-laktamaz sıklığının araştırılması. *Ankem Dergisi* 2001; 15: 748-752.
90. Patterson JE. Antibiotic utilization, is there an effect on antimicrobial resistance. *Chest* 2001;119:426-430.
91. Petrosino J, Palzkill T. Systematic mutagenesis of the active site Omega Loop of TEM-1 beta-lactamase. *J Bacteriol* 1996;7:1821-1828
92. Spanu T, Luzzaro F, Perili M, Amicosante G, Toniolo A, Fadda G, and the Italian GSBL Study Group. Occurrence of Extended -Spectrum β -lactamases in Members of the Family Enterobacteriaceae in Italy. Implications for Resistance to β -lactams and Other Antimicrobial Drugs. *Antimicrob. Agents and Chemother.* 2002 Jan; 46(1): 196-202
93. Gültekin M, Ögünç D, Günseren F, Çolak D, Kırbaş İ, Mamıkoğlu L. Hastane enfeksiyonu etkeni *Klebsiella pneumoniae* ve *Escherichia coli* suşlarının genişlemiş spektrumlu beta-laktamaz ve antibiyotik duyarlılık özelliklerinin araştırılması. *İnfek Dergisi* 1999;13:515-520.
94. Kader AA, Kumar A. Prevalance and antimicrobial susceptibility of extended-spectrum beta-lactamase-producing *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae* in a general hospital. *Ann Saudi Med.* 2005;25(3):239-42

95. Kader AA, Angamuthu K. Extended-spectrum beta-lactamases in urinary isolates of *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae* and other gram-negative bacteria in a hospital in Eastern Providence, Saudi Arabia. Saudi Med J. 2005;26(6):956-9
96. Leleu G, Kitzis MD, Vallois JM, Gutman L, Decazes JM: Different ratios of the piperacillin-tazobactam combination for the treatment of experimental meningitis due to *Klebsiella pneumoniae* producing the TEM-3 extended-spectrum beta-lactamases. Antimicrob Agents Chemother 1994;38:195
97. Gioia SB, Yuan M, Hall LMC, Livermore DM: Variable susceptibility to piperacillin-tazobactam amongst *Klebsiella* spp. with extended-spectrum beta-lactamases. J Antimicrob Chemother 2003;51:605
98. Burgess DS, Hall RG, Lewis JS, Jorgensen JH, Patterson JE: Clinical and microbiologic analysis of a hospital's extended-spectrum beta-lactamase-producing isolates over a 2-year period. Pharmacotherapy 2003;23:1232
99. Uraz G, Ece Vural G, Sipahi B A, Sultan N. *K.pneumoniae*, *K.oxytoca* ve *E.coli* suşlarında genişlemiş spektrumlu beta laktamaz enzimi varlığının ve antibiyotik direnciyle ilişkisinin araştırılması. 12. Türk Klinik Mikrobiyoloji ve Enfeksiyon Hastalıkları Kongresi 2005; kongre kitabı s, 225, Antalya
100. Özbilge H, Zeyrek FY, İnanç Y: Gram negatif çomaklarda genişlemiş spektrumlu beta-laktamaz varlığı ve çeşitli antibiyotiklere direnç durumu. ANKEM Derg 2003;17:13
101. The SENTRY Asia-Pacific Participants. Prevalence of extended-spectrum beta-lactamase-producing clinical isolates in the Asia-Pacific region and South Africa: regional results from SENTRY Antimicrobial Surveillance Program (1998-99) Diagnostic Microbiology and Infectious Disease 2002;42:193-198.
102. Phillipp M. Lepper et al. İmipenem tüketimi tamamladı. Antimicrob. Agents and Chemotherapy, 2002;2920-2925
103. Joumana N, Kfoury S, Kanj S.S and Araj G.F. In vitro activity of antimicrobial agents against extended-spectrum beta-lactamase producing *E.coli* and *K.pneumoniae* at a tertiary care center in Lebanon. Am J Infect Control 2005;33:134-6

104. Jett B.D, Ritchie D.J, Reichley R, Bailey T.C and Sahm D.F. In Vitro Activities of Various beta-lactam antimicrobial agents against clinical isolates of *E.coli* and *Klebsiella spp.* resistant to oxyimino cephalosporins. *Antimicrob. Agents and Chemotherapy*,1995;1187-1190
105. Cao W, Tong MH, Wang JG. Extended-spectrum beta-lactamase detection in *Enterobacteriaceae* and antibiotic susceptibility analysis. *Hunan Yi Ke Da Xue Bao.* 2002;27(1):77-8
106. Kanafani Z.A, Mehio-Sibai A, Araj G.F, Kanaan M and Kanj S.S. Epidemiology and risk factors for extended-spectrum beta-lactamase producing organisms: A case control study at a tertiary care center in Lebanon. *Am J Infect Control* 2005;33:326-32
107. Bishara J, Livne G, Ashkenazi S, Levy I, Pitlik S, Ofir O, Lev B, Samra Z. Antibacterial susceptibility of extended-spectrum beta-lactamase producing *Klebsiella pneumoniae* and *Escherichia coli*. *Isr Med Assoc J.* 2005;7(5):336-8
108. Romero L, Lopez L, Rodriquez-Bano J, Hernandez J.R, Martinez M. L and Pascual A. Long-term study of the frequency of *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae* isolates producing extended-spectrum beta-lactamases. *Clin Microbiol Infect* 2005;11:625-631
109. Casellas J.M et al. Argentinean collaborative multicenter study on the in vitro comparative activity of piperacillin-tazobactam against selected bacterial isolates recovered from hospitalized patients. *Diagnostic Microbiology and Infectious Disease* 2003;47:193-198.
110. Lim VK, Halijah MY. In vitro activity of sulperazon against recent isolates of ceftazidime-resistant bacteria. *Med J Malaysia* 2001;56:365-369.
111. Kizirgil A, Yakupoğulları Y, Keçebaş AA, Seyrek A, Aşçı Toraman Z. GSBL üreten bakterilere karşı beta-laktamaz inhibitörü içeren kombinasyonların etkinliği. 11. Türk Klinik Mikrobiyoloji ve Enfeksiyon Hastalıkları Kongresi (30 Mart-3 Nisan 2003 İstanbul), Program ve Özet Kitabı'nda. İstanbul: Klimik Derneği, 2003:35

