

TÜRKİYE CUMHURİYETİ
ANKARA ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ

TOPLUM KÖKENLİ ÜRİNER SİSTEM
ENFEKSİYONLARINDA GSBL (+) *E. COLI* İZOLATLARINDA
RİSK FAKTÖRLERİ VE MOLEKÜLER TİPLENDİRME

DR. SERPİL ÖZTÜRK

KLİNİK BAKTERİYOLOJİ VE İNFEKSİYON
HASTALIKLARI ANABİLİM DALI
TIPTA UZMANLIK TEZİ

DANIŞMAN
YARD. DOÇ. DR. SERHAT BİRENGEL

Bu tez Ankara Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri (BAP) tarafından
20070809035 proje numarası ile desteklenmiştir.

Ankara, 2007

TEŞEKKÜR

Uzmanlık eğitimim süresince bilgi ve deneyimlerinden yararlandığım başta Anabilim Dalı başkanımız Prof. Dr. İsmail Balık olmak üzere tüm hocalarıma ve tez çalışmalarım esnasında yardımlarını esirgemeyen tez hocam Yard. Doç. Dr. Serhat Birengel'e saygı ve teşekkürlerimi sunarım.

Tez çalışmalarım ve uzmanlık eğitimim süresince bilgi, görüş ve desteklerini hiç esirgemeyen Doç. Dr. Alpay Azap ve Uzm. Dr. K.Osman Memikoğlu'na, gönülden sevgi ve teşekkürlerimi sunarım.

Tez çalışmalarım esnasında yardımlarından dolayı Doç.Dr.Alper Tekeli, Uzm.Dr. İftar Dolapçı ve Dr. Gönül Karamercan'a teşekkür ederim.

Sevgili asistan arkadaşlarıma ve eğitimim süresince bir ekip ruhu ile çalıştığımız hemşirelerimiz ve Bakteriyoloji Laboratuvarı'nın çok sevgili personeline en içten sevgi ve teşekkürlerimi sunarım.

Manevi desteği ile her zaman yanımda olan sevgili eşime ve aileme teşekkür ederim.

Dr. Serpil ÖZTÜRK

İÇİNDEKİLER

Teşekkür	i
İçindekiler	ii
1. GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER.....	2
2.1. Beta Laktam Antibiyotiklerde Direnç Mekanizmaları	2
2.2. Beta Laktamazlar.....	3
2.3. Beta Laktamazların Sınıflandırılması.....	3
2.3.1. Kromozomal Beta Laktamazlar (AmpC B- Laktamazlar)	4
2.3.2. Plazmid Kökenli Beta Laktamazlar	7
2.4. Genişlemiş Spektrumlu Beta Laktamazlar (GSBL)	7
2.4.1. TEM.....	10
2.4.2. İnhibitör Dirençli B-Laktamazlar (IRT)	11
2.4.3. SHV	13
2.4.4. CTX-M	14
2.4.5. OXA.....	16
2.4.6. PER.....	16
2.5. GSBL'nin Belirlenmesi.....	16
2.5.1. Tarama Yöntemleri.....	17
2.5.2. Fenotipik Doğrulama Testleri.....	19
2.5.3. Ticari Yöntemler	21
2.5.4. Moleküler Yöntemler.....	21
2.6. GSBL(+) Mikroorganizmalarla Nozokomiyal Enfeksiyonlar.....	22
2.7. Hastane Kökenli GSBL'ler İçin Risk Faktörleri	23
2.8. Toplumdan Kazanılmış GSBL(+) Mikroorganizmalarla Enfeksiyonlar.	24
2.9. Türkiye'de GSBL	26
2.10. Kontrol Önlemleri.....	26

2.11. Tedavi.....	28
3. GEREÇ VE YÖNTEM.....	32
3.1. Olguların Seçimi.....	32
3.2. Verilerin Toplanması.....	32
3.3. Mikrobiyolojik Çalışma.....	33
3.4.Moleküler Analiz.....	34
3.5. İstatistiksel Analiz	36
4. BULGULAR	37
5. TARTIŞMA	42
6. SONUÇ.....	45
ÖZET.....	46
<i>SUMMARY</i>	48
KAYNAKLAR	49
EKLER.....	56

1. GİRİŞ

Genişlemiş spektrumlu beta laktamazlar (GSBL), sayı ve yaygınlıkları giderek artan, beta laktam antibiyotikleri hidrolize ederek, bu antibiyotiklerin etkinliklerini engelleyen önemli bir direnç mekanizmasıdır. Sefuroksim, sefotaksim, seftriakson, seftizoksim, seftazidim, sefpirom ve sefepim gibi oksiminosefalosporinleri hidroliz eden ve genellikle klavulonik asit, sulbaktam ve tazobaktam gibi beta laktamaz inhibitörleri ile inhibe olan GSBL'ler, *Klebsiella* türleri başta olmak üzere tüm Enterobacteriaceae ailesi tarafından üretilmektedir. GSBL'ye sahip mikroorganizmalar daha çok nosokomiyal enfeksiyonlarda karşımıza çıkmaktadır, komplike ve sınırlı tedavi seçeneklerine sahiptir. Komplikasyon ve mortalite oranları yüksek olan bu enfeksiyonların tespit edildikten sonra uygun antibiyotiklerle tedavi edilmesi mortaliteyi azaltmaktadır. Bu enfeksiyonlar, özellikle uygun tedavi verilmediğinde mortaliteyi artırırken hastanede yatış süresini ve bunlara paralel olarak da maliyeti önemli ölçüde arttırmaktadırlar.

GSBL (+) mikroorganizmaların neden olduğu nosokomiyal enfeksiyonlar için risk faktörleri pek çok çalışmada gösterilmiştir. Son yıllarda GSBL'ye bağlı nosokomiyal enfeksiyonların yanında toplum kökenli GSBL(+) suşlarla oluşan enfeksiyonlardan söz edilmeye başlanmıştır. Ülkemizde toplum kökenli GSBL (+) suşlarla oluşan enfeksiyonlarla ilgili yeteri kadar veri yoktur.

Bu çalışmada, üriner sistem enfeksiyonlarında, toplumdan kazanılmış GSBL (+) *Escherichia coli*'lerde risk faktörlerinin belirlenmesi ve GSBL enzimlerinin, hem fenotipik hem de moleküler olarak tiplendirilmesi amaçlanmıştır.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Beta Laktam Antibiyotiklerde Direnç Mekanizmaları

Beta laktam antibiyotikler, hücre duvar sentezinin transpeptidasyon basamağını katalizleyen penisilin bağlayıcı proteinlere (PBP) bağlanıp hücre duvar sentezini inhibe ederek bakteri lizisine neden olurlar. Beta laktam antibiyotiklere karşı direnç 3 yolla gelişebilmektedir (1).

- 1- PBP'lerde oluşan değişikliklerle antibiyotiğin hedefine bağlamasının engellenmesi (gram pozitif mikroorganizmalarda daha yaygın bir mekanizmadır ve tümü kromozomal mutasyonlarla ortaya çıkmaktadır.):

a-PBP'nin beta laktam afinitesinin azalması

b-PBP sayısında azalma

c-Beta laktamlara düşük afiniteli yeni PBP'lerin sentezi (MRSA'da Mec A geni ile belirlenen PBP 2a sentezi gibi)

- 2- İlacın hedefine etkin konsantrasyonda ulaşamaması:

a- Dış membran proteinlerinde oluşan değişikliklerle ilacın hücre içine girişinin engellenmesi (Örn; *Pseudomonas aeruginosa* suşlarında karbapenemler için özel bir porin olan OprD'nin kaybı sonucunda bu antibiyotik grubuna direnç gelişmesi) (2).

b- Aktif pompa (efflux) sistemleri (Örn; *P.aeruginosa*'da karbapenem, penisilinler, sefalosporinler ve monobaktamlara dirençten sorumlu MexA-MexB-OprM pompa sistemi sorumludur).

- 3- Beta laktamaz enzimleri ile ilacın inaktive edilmesi (1).

2.2. Beta Laktamazlar

Beta laktam antibiyotiklere karşı görülen direnin en sık sebebidir. Gram negatif, gram pozitif ve anaerob bakteriler tarafından sentezlenebilen beta laktamazlar yapısal olarak PBP'lere benzerler ve beta laktam halkasındaki siklik amid bağlarını parçalayarak etki gösterirler.

Penisilinin geliştirilmesinden sonra penisilinaz sentezleyen stafilokoklar ortaya çıkmıştır ve tüm dünyaya yayılmıştır. Yeni beta laktamların 1978 yılından sonra kullanıma girmesi ile beta laktamaz sayı ve çeşidinde ani bir artış gözlenmiştir. Buna bağlı olarakta bu enzimlerin sınıflandırılması gerekliliği doğmuştur (3).

2.3. Beta Laktamazların Sınıflandırılması

Beta laktamazlar, Ambler moleküler sınıflandırması ve Bush-Jacoby-Medeiros fonksiyonel sınıflandırma sistemi gibi iki genel şemaya göre yaygın olarak sınıflandırılmaktadırlar (Tablo 2.1). Ambler sınıflaması beta laktamazları A, B, C, D olmak üzere dört büyük sınıfa ayırır. Bu sınıflamada fenotipik özelliklerden çok enzimleri kodlayan aminoasit dizi benzerlikleri önemlidir. A, C ve D sınıfı beta laktamazlar aktif yerlerinde serin içeren beta laktamazlarken, B sınıfı beta laktamaz metallo- β -laktamazdır ve aktif bölgede çinko atomu bulundurur. Bush-Jacoby-Medeiros sınıflandırma sisteminde beta laktamazlar substrat ve inhibitör profilleri gibi fonksiyonel benzerliklerine göre sınıflandırılmaktadırlar. Bu sınıflandırma 4 ana grup ve birçok alt grup içermektedir (4).

Ambler sınıflaması;

Grup A, çoğunlukla plazmid kontrolünde olan penisilinazlardır.

Grup B, karbapenem grubuna etkili metallo- β -laktamazlardır.

Grup C, çoğunlukla kromozom kontrolünde olan sefalosporinazlardır. Kromozomal AmpC geni tarafından kodlanırlar ve AmpC enzimler olarak bilinirler.

Grup D, oksasilinazlardır.

Özellikle toplum kaynaklı infeksiyon etkenleri içinde beta-laktam antibiyotiklere beta-laktamazlar yoluyla direnç gösteren en önemli etkenler stafilokoklar, *E.coli*, *Haemophilus influenzae*, *Moraxella catarrhalis* ve *Neisseria gonorrhoeae*'dir (5).

Gram negatif basillerde bulunan beta laktamazlar, kromozom veya plazmidle kodlanan enzimlerdir.

2.3.1. Kromozomal Beta Laktamazlar (AmpC B- Laktamazlar)

Bu enzimler Ambler grup C'de sınıflandırılırlar ve AmpC olarak da isimlendirilirler. Bush sınıflandırmasında grup 1'de yer alırlar. AmpC beta laktamazlar standart tanımlamada GSBL değildirler. GSBL'ler ile fenotipik olarak birbirine benzemektedirler. Bu beta laktamazlar Enterobacteriaceae türlerinde ampisilin, amoksisilin, amoksisilin-klavulonat ve çoğu sefalosporine dirençten sorumludurlar. Klavulonik asit gibi beta laktamaz inhibitörleri ile inhibe edilemezler hatta bunları da hidrolize ederler (4,6).

Enterobacter spp. ile ciddi enfeksiyonların tedavisinde üçüncü kuşak sefalosporinler kullanıldığında meydana gelen klinik başarısızlık aşırı AmpC tipi beta laktamaz üreten stabil dereprese mutantların seçilmesi ile ilişkilidir. AmpC tipi beta laktamaz üreten mikroorganizmalara karşı sefepim gibi dördüncü kuşak sefalo-

Tablo 2.1 Beta laktamaz grupları ve genel özellikleri (7,8,9 no’lu kaynaklardan adapte edilmiştir.)

Beta laktamaz grubu (Bush)	Enzim Tipi	Klavulonik asitle inhibisyon	Moleküler grup (Ambler)	Özellik
1	Sefalosporinaz	-	C	Sefamisinler, oksiimino-sefalosporinler, aztreonam ve klavulonik aside dirençli. Dereprese mutantlar. AmpC enzimleri.
2a	Penisilinaz	+	A	Gram pozitif bakterilerin penisilinazları.
2b	Penisilinaz, Sefalosporinaz (Broad spectrum)	+	A	Klinik izolatlarda en sık saptanan beta laktamazlar. Dar spektrum. TEM-1, TEM-2, SHV.
2be	Penisilinler, dar ve geniş spektrumlu sefalosporinler, monobaktamlar (extended spectrum)	+	A	3. ve 4. kuşak sefalosporinlere direnç. GSBL.
2br	Penisilinaz, inhibitör dirençli	±	A	Mevcut beta laktamaz inhibitörlerine azalmış duyarlılık. İnhibitöre dirençli TEM’ler, SHV’ler.
2c	Karbenisilinaz	+	A	
2d	Kloksasilinaz	±	D ya da A	3. kuşak sefalosporin direnci. Geniş spektrumlu OXA enzimleri.
2e	Sefalosporinaz	+	A	
2f	Karbapenemaz	+	A	Dar spektrumlu karbapenemaz; Sme-1, NMC-A, IMI-1
3	Metalloenzim	-	B	Çoğu beta laktama direnç. Geniş spektrumlu karbapenemaz; IMP-1
4	Penisilinaz	-		Dizileri belirlenmemiş enzimler. <i>Pseudomonas cepacia</i> ’nın penisilinazı

sporinler klinikte kullanılabilir. Ancak sefepime karşı inokulum etkisi görüldüğü için ciddi enfeksiyonlarda bu antibiyotiğin kullanımı konusunda dikkatli olunmalıdır.

İnokulum etkisi bakteri yoğunluğu arttıkça in-vitro kullanılan yoğunlukta hidrolize edilemeyen beta laktamların inaktive edilmesi olarak tanımlanır. GSBL üreten suşlarda ise sefepimin kullanılması daha az yararlıdır (4,10).

GSBL ve AmpC ayırımı klinik olarak farklı duyarlılık paternleri nedeni ile önemlidir. *Enterobacter cloacae*, *Serratia marcescens*, *E.coli*, *P.aeruginosa* ve *Citrobacter freundii* AmpC tip β -laktamazın kromozomal sekansına sahiptirler (Bush-Jacoby-Medeiros grup 1). AmpC gen ürünü olan β -laktamaz, klavulonatu inhibe etmezken sefalosporinlere karşı çok aktiftir. Bu da GSBL'lerden farklıdır (6).

Enzim ekspresyonu indüklenebilir, yüksek düzeyde yapısal veya düşük düzeyde yapısal olabilir. *E.coli* ve *Shigella* spp'deki enzim sentezi yapısaldır ve miktarı dar spektrumlu sefalosporin direnci oluşturmayacak kadar azdır. *Pseudomonas aeruginosa*, *Enterobacter* spp, *Citrobacter freundii*, *Serratia* spp., *Morganella morganii*, *Providencia stuartii* ve *Providencia rettgeri*'de bulunan grup 1 beta laktamaz enzimlerinin ekspresyonu indüklenebilen türdedir. Antibiyotik yokken çok düşük düzeyde olan enzim sentezi beta laktam antibiyotik varlığında yükselmektedir. Bu bakterilerde mutasyon sonucunda sürekli yüksek düzeyde enzim sentezi (derepresyon) ortaya çıkabilmektedir. Geniş spektrumlu beta laktamların kullanımı bunlar içinde de stabil olarak dereprese mutantların çıkmasına yol açmaktadır (3,11,12). İndüklenebilir beta laktamaz (İBL) varlığını ortaya koymak için güçlü beta laktamaz indükleyicileri olan sefoksitin veya imipenem diskleri çevresine diskler arası mesafe 1,5-2 cm olacak şekilde zayıf indükleyiciler olarak bilinen aztreonam veya üçüncü kuşak sefalosporin yerleştirildiğinde zayıf indükleyici disklerdeki inhibisyon zonunun en az 4 mm küçülmesi beklenir (13,14).

Plazmid kontrolünde olan AmpC β -laktamazlar 1989 yılından itibaren görülmeye başlanmıştır. Bu enzimler, penisilinlere ve sefalosporinlere direnç oluştururken beta laktamaz inhibitörlerine dirençlidirler (15).

2.3.2. Plazmid Kökenli Beta Laktamazlar

Plazmid aracılı en önemli beta laktamazlar TEM ve SHV enzimleridir. Beta laktamaz üretimi, penisilin ve sefalosporin gibi beta laktam antibiyotiklere karşı direncin en sık nedenidir. Bin doküzyüz kırk yılında bir *E.coli* suşundan izole edilen ilk beta laktamazın ardından bugün 130 < TEM ve 50 < SHV tip (sülfidril variable) beta laktamaz gösterilmiştir ve sayıları sürekli artmaktadır. Bu beta laktamaz enzimlerinin görülme sıklıklarının ve çeşitliliklerinin sürekli olarak artması, beta laktam direncini global bir sorun haline getirmiştir. Çoğunlukla *E.coli*, *Klebsiella pneumoniae* ve *Proteus mirabilis* başta olmak üzere Enterobacteriaceae'nın diğer üyelerinde ve *Acinetobacter* türleri gibi diğer nonenterik bakterilerde de saptanmaktadır. İlk plazmid aracılı beta laktamaz 1965 yılında Yunanistan'da "Temoniera" isimli hastanın kan kültüründe üreyen bir *E.coli*'de gösterilen ve bu hastanın adının verildiği TEM-1 enzimidir (16). TEM-1, *E.coli* gibi ampisilin dirençli enterik gram negatif basillerin en yaygın plazmid aracılı beta laktamazıdır (4). TEM-2, TEM-1 ile benzer biyokimyasal özelliklere sahiptir. Aynı grup içinde yer alırlar ve TEM-1'e göre daha az yaygındır. Plazmid ve transpozon aracılığı ile bu enzim diğer türlere ve yıllar içinde tüm dünyaya yayılmıştır. TEM-1 bugün gram negatifler içinde en sık görülen enzimidir (17).

SHV tip beta laktamazlar daha çok *Klebsiella* türlerinde görülmektedir. *Klebsiella* türlerinde kromozomal olarak bulunurken diğer enterik bakterilerde plazmidde bulunur (18).

2.4. Genişlemiş Spektrumlu Beta Laktamazlar (GSBL)

GSBL'ler heterojen bir gruptur ve oksiminino-sefalosporinlere karşı hidrolitik aktivite gösterirken klavulonik asit, sulbaktam ve tazobaktam gibi beta laktamaz inhibitörleri ile inhibe edilirler. GSBL (+) suşlar aztreonam, penisilinler ve sefalosporinlere direnç oluştururken, bu suşlar tipik olarak aminoglikozidler,

trimetoprim-sulfametoksazol (TMP-SMZ) ve kinolonlara da dirençli olabilmektedirler (5,19). 7- α -methoxy sefalosporinler (sefamisinler: sefoksitin, sefotetan) ve karbapenemler (imipenem, meropenem, ertapenem) aktivitelerini kaybetmezler, bu enzimlerle hidrolize olmazlar (20).

Büyük plazmidlerde (100 kb ya da daha büyük) taşınan GSBL'ler bakteriyel türler arasında ve suştan suşa yayılım gösterirler (20).

GSBL'ler Ambler sınıflamasında sınıf A'da yer alırken Bush, Jacoby ve Medeiros sınıflamasına göre 2be sınıfında yer alırlar. Grup 2be yani GSBL'ler, grup 2b yani TEM-1, TEM-2 ve SHV-1'in türevleridir. GSBL'ler TEM-1, TEM-2 ve SHV-1 gibi plazmidle taşınan beta laktamazları kodlayan genlerin mutasyonu ile ortaya çıkmaktadır (4,6). Yıllar içinde pek çok yeni beta laktamaz ortaya çıkmıştır ve çıkmaya devam etmektedir (Tablo 2.2).

Ağustos 2007 itibariyle 160 tane TEM, 101 tane SHV ve 67 tane CTX-M tip GSBL türü bulunmaktadır ve sayıları her geçen gün artmaktadır ve "http://www.lahey.org/studies/webt.htm" adresinde bu türler devamlı güncellenmektedir.

Bir ya da iki aminoasit değişikliği ile TEM veya SHV β -laktamazlardan köken alan genişlemiş spektrumlu β -laktamazlar, penisilinler ve oksiiimino-sefalosporinleri hidrolize ederler (3).

Oksiiimino-sefalosporinlerin TEM-1 ve SHV-1'e karşı stabil olmaları bu antibiyotiklerin kullanımlarını arttırmış ve beraberinde bu antibiyotiklere direnç çok gecikmeden ortaya çıkmıştır. Geniş spektrumlu beta laktam antibiyotikler olarak isimlendirilen bu antibiyotikleri hidrolize eden ilk beta laktamaz 1983 yılında Almanya'da bir *K.pneumoniae* suşunda gösterilmiştir ve SHV-2 olarak isimlendirilmiştir (16, 17).

Oksiiimino-sefalosporinleri (seftazidim, sefpodoksim, seftriakson, sefotaksim) ve bir monobaktam olan aztreonamı belli derecelerde hidrolize eden ve klavulonik asit gibi beta laktamaz inhibitörleri ile inhibe olan bu geniş aktivite spektrumlu beta laktamazlara genişlemiş spektrumlu beta laktamazlar denmiştir (4,16).

Tablo 2.2 β -laktamazların geliřimi (9)

Yıl	Enzim	Mikroorganizma	Bölge
1944	Penisilinaz	<i>S. aureus</i>	-
1963	TEM-1	<i>E.coli</i>	Atina
1974	SHV-1	<i>E.coli</i>	İsviçre
1978	OXA-10	<i>P.aeruginosa</i>	-
1982	SME-1	<i>S.marcescens</i>	Londra
1984	IMI-1	<i>E.cloacae</i>	Kaliforniya
1988	Metallo β -laktamaz	<i>P.aeruginosa</i>	Japonya
1989	İnhibitör dirençli penisilinaz	<i>E.coli, K.pneumoniae</i>	Fransa, İspanya, Yunanistan
1990	NMc A	<i>E.cloacae</i>	Paris
1991	OXA-11 OXA-14	<i>P.aeruginosa</i>	Türkiye
1991	PER-1	<i>P.aeruginosa, S.typhimurium</i>	Türkiye
1992	MEN-1	<i>E.coli, K.pneumoniae</i>	Fransa
1994	TOHO-1	<i>E.coli</i>	Japonya
1996	PER-2	<i>E.coli, K.pneumoniae, S.typhimurium, P.mirabilis</i>	Almanya
1997	VEB-1	<i>E.coli</i>	Almanya

GSBL(+) izolatlar genellikle sefamisin (örneğin sefoksitin) ve karbapenem duyarlıdırlar. Fakat GSBL (+) suşlarda sefamisin direnci bir dış membran porin protein kaybı ile gelişebilir (6,18).

İlk olarak tanımlanmış GSBL, Fransa’da bir yoğun bakım servisinde izole edilen bir *K.pneumoniae* suşunda gösterilen TEM-3 (cefotaxime-hidrolizing enzyme type 1)’tür (6). GSBL’ler genellikle *E.coli* ve *Klebsiella* suşlarında rapor edilmelerine rağmen *Salmonella enterica*, *Shigella flexneri*, *P.aeruginosa* ve *S. marcescens* gibi diğer bakteriyel türlerde de gösterilmiştir. *Klebsiella* türlerinde daha yaygın görülürler. Bunun nedeni *Klebsiella*ların deri ve yüzeylerde diğer bakterilere göre daha uzun yaşayabilmeleri ve *K.pneumoniae* suşlarında spontan mutasyonların daha sık görülmesi olarak açıklanmaktadır (3,6,21,22).

Genel olarak GSBL’lerin, üçüncü kuşak sefalosporinlerin ya da diğer antibiyotiklerin yanlış kullanımı ile ortaya çıktığı bilinmektedir. Yaygın olarak oksiiimino-sefalosporinlerin kullanılması selektif baskıya neden olarak GSBL’lerin oluşumuna neden olmaktadır. Bu antibiyotikler yüksek aktiviteye sahiptirler ve sık kullanılmaktadırlar (6,23).

TEM ve SHV yanında *Klebsiella* türleri, *Salmonella typhimurium* ve *E.coli* suşunda sefotaksimi hidrolize eden plazmid aracılı bir beta laktamaz olan CTX-M bulundu. Bu enzimin TEM ve SHV ile ilişkisi açık değildi (6).

GSBL, Türkiye’de ilk kez 1992 yılında Hacettepe Üniversitesi’nden bildirilmiştir (24).

2.4.1. TEM

TEM tipi GSBL’ler, TEM-1 ve TEM-2 β -laktamaz deriveleridir. TEM-13’ün hidrolitik profili TEM-1 ve TEM-2’ye benzemektedir. TEM-1, TEM-2 ve TEM-13 GSBL değildirler (4).

TEM grubu β -laktamazlar *E.coli* ve *K. pneumoniae* başta olmak üzere *Enterobacter aerogenes*, *M.morganii*, *P.mirabilis*, *P.rettgeri* ve *Salmonella spp.*'de sık görülmekle beraber, *P. aeruginosa*'da (TEM-42) nadir olarak bildirilmiştir (18,25). 1987 yılında Fransa'da bir *K. pneumoniae* suşunda yeni bir plazmid aracılı beta laktamaz bulundu ve sefotaksime karşı yüksek aktivitesi nedeni ile CTX-1 adı verildi. Bu enzimin TEM-2'den 2 aminoasit değişikliği ile oluştuğu anlaşıldı ve ismi TEM-3 olarak değiştirildi (4).

İlk TEM tipi GSBL TEM-3 değildir. İngiltere'de Liverpool'da 1982'de plazmidle taşınan bir genin kodladığı seftazidim dirençli *Klebsiella oxytoca* ilk izolattı ve bu izolat bugün TEM-12 olarak isimlendirilmiştir. Bir yenidoğan ünitesinde TEM-1 tip beta laktamaz üreten *K.oxytoca*'nın neden olduğu bir salgında seftazidim kullanımının artması ile TEM-12 ortaya çıkmıştır ve bu da GSBL oluşumundaki selektif baskı için uygun bir örnektir (4).

TEM tipi beta laktamazların izoelektrik nokta aralığı, pI 5.2-6.5'dur (18).

TEM-7 ve TEM-12 gibi GSBL'ların seftazidimi hidrolize etme oranı TEM-1 ve TEM-2 ile kıyaslandığında daha yüksektir. Bu mikroorganizmalar için seftazidim MIK oranları yüksektir (4).

TEM tipi GSBL'lerin genel özellikleri Tablo 2.3'de gösterilmiştir.

2.4.2. İnhibitör Dirençli B-Laktamazlar (IRT)

İnhibitör dirençli β -laktamazlar, TEM ve SHV tip enzimlerin deriveleridir ve bir GSBL değildirler. Bin dokuzyüz doksanlardan itibaren beta laktamaz inhibitörlerine karşı direnç saptanmıştır. İnhibitör dirençli TEM β -laktamazlar, çoğunlukla *E.coli* suşlarında bulunmakla beraber bazı *K.pneumoniae*, *K.oxytoca*, *P.mirabilis* ve *E.cloacae* suşlarında da görülebilir (17). İnhibitör dirençli beta-laktamazlar üçüncü kuşak sefalosporinleri hidrolize edememelerine rağmen GSBL'lerle birlikte ele alınmaktadırlar (5).

Son yıllarda TEM-50 ve TEM-68 gibi varyantlarda hem inhibitörlere dirençli hem de GSBL aktivitesi bulunmuştur. Bu tür kompleks mutant suşlara gelecekte daha sık rastlanacak gibi görünmektedir (17, 23).

Tablo 2.3 TEM türü beta laktamazların özellikleri (18)

pI	Enzim	Broad spectrum	GSBL	IRT*
5.2	TEM-12,-55,-57,-58		X	
	TEM-30,-31,-35,-36,-37,-38,-41,-45,-51,-73,-74			X
5.3	TEM-25		X	
5.4	TEM-1	X		
	TEM-7,-19,-20,-65		X	
	TEM-32,-33,-34,-39,-40,-44			X
5.42	TEM-29		X	
5.55	TEM-5,-17		X	
5.59	TEM-9		X	
5.6	TEM-2	X		
	TEM-10,-11,-13,-26,-63		X	
	TEM-50		X	X
	TEM-59			X
5.7	TEM-68		X	X
5.8	TEM-42		X	
5.9	TEM-4,-6,-8,-27,-72		X	
6.0	TEM-15,-47,-48,-49,-52,-66,-92		X	
6.1	TEM-28,-43		X	
6.3	TEM-3,-16,-21,-22		X	
6.4	TEM-56,-60		X	
6.5	TEM-24,-46,-61		X	
?	TEM-14,-53,-54		X	
	TEM-76,-77,-78,-79,-81,-82,-83,-84			X

*IRT: İnhibitör Dirençli B-Laktamazlar

2.4.3. SHV

Sıklıkla kromozomal bir enzim olan SHV-1, SHV grubu enzimlerin öncüsüdür ve en sık *K.pneumoniae*'da bulunmaktadır. Oksiimino-sefalosporinlere etki göstermezken ampisilin, tikarsilin ve piperasiline karşı dirençten sorumludur (20). Geniş spektrumlu ilk SHV türevi 1983'te tanımlanan SHV-2'dir. SHV-2'nin seftriakson hidrolizi seftazidimden daha fazladır ve SHV-1'in 238. pozisyonundaki glisin yerine serin girmesiyle meydana gelmiştir (4). Bu grup enzimler *K.pneumoniae*'da sık görülmekle beraber *E.coli*, *P.aeruginosa* ve *Citrobacter diversus*'da da bildirilmiştir (18).

Ülkemizde *K.pneumoniae* izolatlarında SHV-2, SHV-3, SHV-4, SHV-5 ve SHV-12 bildirilmiştir (26,27,28).

SHV tipi GSBL'lerin genel özellikleri Tablo2.4'te gösterilmiştir.

Tablo 2.4 SHV tip β -laktamazlar ve özellikleri (18)

pI	Enzim	Broad spectrum	GSBL	IRT
7.0	OHIO-1,LEN-1	X		
	SHV-3,-14		X	
7.5	SHV-24		X	
7.6	SHV-1,-11	X		
	SHV-2,-2a,-6,-8,-13,- 19,-20,-21,-22		X	
7.8	SHV-4,-7 ^b ,-18		X	
8.2	SHV-5,-9,-12		X	
	SHV-10			X

2.4.4. CTX-M

CTX-M grubu GSBL'lerin substratı sefotaksimdir. Çoğunlukla *Salmonella typhimurium* ve *E.coli* suşlarında bulunmasına rağmen Enterobacteriaceae ailesinin diğer türlerinde de bulunabilmektedir (18). İlk CTX-M olan CTX-M-1, 1989 yılında Almanya'da izole edildi ve bundan sonra Enterobacteriaceae ailesi içinde farklı türler arasında hızla yayıldı (20). Klinikte direnç sebep olmasa da seftazidimi de hidroliz etmektedirler. Hatta CTX-M-15, CTX-M-16, CTX-M-19 ve CTX-M-27 gibi CTX-M alt gruplarının seftazidimi daha fazla hidrolize ettiği gösterilmiştir (29,30,31).

Klavulonik asit ve sulbaktam göre tazobaktam inhibitör etkisi bu enzimlerde daha fazladır. 1989 yılında Almanya'da bir *E.coli* izolatında gösterilen ilk CTX-M'den itibaren *Salmonella* spp. başta olmak üzere birçok Enterobacteriaceae'da gösterilen CTX-M sayısında büyük artış görülmüştür. CTX-M aminoasit dizilerindeki benzerliklere göre beş alt gruba ayrılmıştır (Tablo 2.5) (18,20).

Tablo 2.5 CTX-M Sınıflaması (32).

Grup	Enzimler
CTX-M-1	CTX-M-1, CTX-M-3, CTX-M-10, CTX-M-12, CTX-M-15, FEC-1, CTX-M-22, CTX-M-23, CTX-M-28
CTX-M-2	CTX-M-2, CTX-M-4, CTX-M-4L, CTX-M-5, CTX-M-6, CTX-M-7, CTX-M-20, Toho-1
CTX-M-8	CTX-M-8
CTX-M-9	CTX-M-9, CTX-M-13, CTX-M-14, CTX-M-16, CTX-M-17, CTX-M-19, CTX-M-21, CTX-M-27, Toho-2, CTX-M-24, CTX-M(JP0074)
CTX-M-25	CTX-M-25, CTX-M-26

CTX-M-2, CTX-M-3 ve CTX-M-14 en sık görülen enzim alt gruplarıdır. Yayılmaları hem plazmidler hem de *ISEcp1* gibi hareketli genetik elementlerle olmaktadır. Sefotaksim ve seftazidimin yaygın kullanımının CTX-M enzimlerinin ortaya çıkışında etkili olduğu düşünülmektedir. CTX-M, *Vibrio cholerae*, nontifi Salmonella ve *Shigella* spp. gibi toplumdaki enfeksiyon etkenlerinde ve üriner sistem enfeksiyonu *E.coli*'lerde de bildirilmiştir (5,32).

CTX-M'in *Kluyvera georgiana*'nın AmpC tip beta laktamaz kromozomuyla yüksek düzey bir sekans homolojisi göstermesi bu GSBL'lerin *Kluyvera* türlerinin beta laktamazlarından genetik köken aldıklarını düşündürmektedir (6). *K.georgiana*'da kodlanan KLUG-1, bir GSBL'dir. KLUG-1, CTX-M-8 ile %99 aminoasit benzerliği göstermektedir (4).

CTX-M tip beta laktamazlarda tipik olarak seftazidim MIK değeri 2-8 µg/ml gibi duyarlı sınırdan iken sefotaksim MIK değeri > 64 µg/ml gibi dirençli sınırlardadır. Bazı CTX-M'ler seftazidimi özellikle hidrolize ederler ve seftazidim MIK değerleri 256 µg/ml gibi yüksek değerlerde olabilir. CTX-M tip beta laktamazlar seftazidimi yüksek etkiyle hidrolize ederler ve diğer GSBL üreten bakterilere göre yüksek seftazidim MIK değerlerine neden olurlar (4).

Ülkemizde bildirilen CTX-M grubu β-laktamazlar CTX-M-3, CTX-M-15 ve CTX-M-2'dir (26,33,34,35,36).

Toho β-laktamazlar: Toho-1 ve Toho-2 beta laktamazlar yapısal olarak CTX-M tip beta laktamazlara benzemektedirler. İsmini Tokyo'daki Toho Üniversitesinde yatan bir hastadan izole edilen bir *E.coli* suşunda tespit edilmesi ile almıştır. Çoğu CTX-M tip beta laktamazlarda olduğu gibi bu enzimlerde de seftazidimden çok sefotaksime karşı hidrolitik aktivite daha fazladır (4).

2.4.5. OXA

Ambler grup D’de yer alan bu grup enzimler daha çok *P.aeruginosa*’da bulunmaktadır. OXA-1’den OXA-10’a kadar olan grup dar spektrumlu enzimler olup substrat olarak oksasilin ve kloksasilini tercih ederler. Nokta mutasyonlarla oksiiimino-sefalosporinleri kapsayan geniş spektrumlu enzimler halini alırlar (11,18,20).

2.4.6. PER

İlk kez Fransa’da bir Türk hastada gösterilen PER-1 daha sonra Hacettepe Üniversitesi’nde 14 *P.aeruginosa* izolatında da gösterilmiştir (37,38). PER-1 enzimi içeren *P.aeruginosa* izolatları seftazidime çok dirençliyen (MIK ≥ 256 $\mu\text{g/mL}$), piperasiline daha düşük bir direnç gösterirler. Klavulonik asit ve tazobaktam duyarlıdırlar (38).

Diğer GSBL’ler: BES-1, FEC-1, GES-1, CME-1, SFO-1, TLA-1, VEB-1

2.5. GSBL’nin Belirlenmesi

GSBL üretiminin olup olmadığının belirlenmesi hastanın antibiyotik tedavisinin belirlenmesi ve hastane direnç durumunun belirlenmesi açısından önemlidir.

Özellikle *E.coli* ve *K.pneumoniae* olmak üzere Gram negatif bakterilerin antibiyotik duyarlılıklarına bakılarak GSBL taşıyıp taşımadığı hakkında fikir edinilebilir. Buna göre GSBL taşıyan bakteriler, aztreonam ve üçüncü kuşak sefalosporinlere ve geniş spektrumlu penisilinlere karşı direnç gösterirken; sefoksitin,

beta laktamaz inhibitörleri ve karbapenemlere karşı duyarlılıklarını genellikle sürdürürler (39).

GSBL üreten patojenin belirlenmesi uygun tedavinin başlanması ve enfeksiyon kontrol önlemlerinin bir an önce alınması açısından önemlidir. GSBL'nin standart laboratuvar yöntemleri ile belirlenmesinde birkaç faktör önemlidir. Biri, üçüncü kuşak sefalosporinler için farklı GSBL'lerin farklı substrat afinitelerine sahip olmalarıdır. GSBL'ler, sefotaksim ya da seftazidim tercihlerine göre subgruplara ayrılmaktadırlar. Spesifik substrat kullanımına bağlı test sonuçlarında substrata duyarlılık belirlenebilir ve GSBL üreten suş uygun olarak sınıflanamayabilir. İnokulum etkisi de test sonuçlarını etkileyen önemli bir faktördür (6). Buna göre standart mikrobiyolojik inceleme sırasında 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. Bundan dolayı GSBL üretimi özel yöntemlerle araştırılarak belirlenmeli ve klinisyene bildirilmelidir (20).

2.5.1. Tarama Yöntemleri

Disk Difüzyon Yöntemi: Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI), disk difüzyon yöntemini GSBL(+) *E.coli*, *Klebsiella* türleri ve *P.mirabilis* için tarama yöntemi olarak önermektedir. Sefpodoksim, seftazidim, aztreonam, sefotaksim ya da seftriaksonun kullanıldığı bu yöntemde ne kadar fazla antibiyotik kullanılırsa sensitivite o kadar artmaktadır. Bu testde GSBL olabileceği düşünülen suş, doğrulama testleri ile doğrulanmalıdır (Tablo 2.6) (4).

Başlangıçta CLSI, GSBL taramasında $10 \mu\text{g}$ sefpodoksim diski için zon çapını ≤ 22 mm olarak belirlenmiştir. Fakat sefpodoksimin bu zon çapında GSBL(+) *E.coli* taramasında spesifitesinin düşük olduğunun anlaşılması üzerine CLSI sefpodoksim için zon çapını ≤ 17 mm olarak değiştirmiştir (4).

Dilüsyon Yöntemleri: CLSI, *E.coli* ve *Klebsiella* türleri için dilüsyon yöntemini önermektedir. Seftazidim, aztreonam, sefotaksim ya da seftriaksonun 1 µg/ml, sefpodoksimin 4µg/ml'lik konsantrasyonları tarama amaçlı kullanılmaktadır. Tarama için birden fazla antibiyotik kullanılması testin duyarlılığını artırır. Bu taranan antibiyotik konsantrasyonlarında sefotaksim veya seftriakson için MİK değeri ≥ 2 µg/ml, sefpodoksimin ≥ 8 µg/ml olması GSBL üretimi açısından şüphelendirir ve fenotipik doğrulama testleri ile doğrulanmalıdır (4).

Çift Disk Sinerji Testi: McFarland 0,5 standardında ayarlanan bakteri süspansiyonunun yayılmış olduğu Müller-Hinton agar plağının ortasına amoksisilin-klavulonat diski (AMC 20/10µg) yerleştirildikten sonra disk merkezleri arası uzaklık 30mm (mesafe 15-20 ya da 30mm olabilir) olacak şekilde seftazidim(CAZ), seftriakson(CRO), sefotaksim(CTX), aztreonam(ATM) veya sefpodoksimin diskleri yerleştirilir. 35°C'de bir gece inkübasyon sonunda sefalosporin veya aztreonam diski çevresindeki inhibisyon zonunun AMC diskine doğru genişlemesi veya arada bakterinin üremediği bir sinerji alanının bulunması GSBL varlığını gösterir. Kolay ve ucuz bir yöntemdir (18,40).

Yüksek düzeyde üretilen sefalosporinazlar, diskler arası mesafe standardizasyonun olmaması, TEM ve SHV dışı bazı GSBL'lerdeki klavulonat direnci bu testin dezavantajlarıdır (41,42,43).

Bu yöntemin sensitivitesi %79-97, spesifitesi ise %94-100'dür. Yalancı negatif sonuçlar SHV-2, SHV-3 ve TEM-12 taşıyan izolatlarda görülmektedir. Teknik olarak basit bir yöntem olması önemli bir avantajdır (4).

Klavulonat İçeren Agarlar: Klavulonik asit 4µg/ml olacak şekilde agara ilave edilerek geniş spektrumlu sefalosporin içeren disklerin inhibisyon zonu artırılır (18,40,46).

Three-dimensional Test (üç boyutlu test): Agar üzerine açılan bir yarık içine bakteri süspansiyonu doldurulur ve yarıktan 3 mm uzağa diskler yerleştirilir. Yarığa bakan kısımda zon çaplarında bozulma ya da daralma GSBL(+) olarak değerlendirilir (18,40). Teknik ve iş yükü olarak diğer tekniklerden daha zordur (46).

Tablo 2.6 *K.pneumoniae* ve *E.coli*'deki GSBL'lerin saptanması için tarama testi olarak önerilen MİK ve inhibisyon zonları (44,45).

Antibiyotik	Duyarlı suşlar için zon çapları	GSBL üreten suşlar için zon çapları (mm)	Duyarlı suşlar için MİK	GSBL üreten suşlar için MİK (µg/ml)
Aztreonam 30µg	≥ 22	≤ 27	≤ 8	≥ 2
Sefotaksim 30µg	≥ 23	≤ 27	≤ 8	≥ 2
Sefpodoksim 10µg	≥ 21	≤ 17	≤ 8	≥ 2
Seftazidim 30µg	≥ 18	≤ 22	≤ 8	≥ 2
Seftriakson 30µg	≥ 21	≤ 25	≤ 8	≥ 2

2.5.2. Fenotipik Doğrulama Testleri

Sefalosporin/Klavulonat Kombinasyon Diskleri: CLSI, *E.coli* ve *Klebsiella* türleri için sefotaksim (30 µg) ya da seftazidim (30 µg) disklerini ve bunların klavulonik asitli (10 µg) diskleri kullanılarak GSBL varlığının doğrulanmasını önermektedir. Disklerin çevresindeki zon çaplarında klavulonik asitli disk lehine 5mm'lik artış GSBL varlığını doğrulamaktadır. Klavulonik asitli ve tek başına sefotaksim ve

seftazidim disklerinin her ikisinin kullanılması önerilmektedir. Çünkü tek başına seftazidim kullanılırsa CTX-M üreten organizmalar belirlenmeyebilir (4).

Broth Mikrodilüsyon: Seftazidim (0,25-128 µg/ml), seftazidim-klavulonik asit (CAZ-K) (0,25/4-128/4 µg/ml), sefotaksim (0.25-64 µg/ml) ve sefotaksim-klavulonik asit (0,25/4-64/4 µg/ml) kullanılır. Burada her iki sefalosporinin de kullanılması önerilmektedir. Standart metodlarla yapılan broth mikrodilüsyon sonucunda klavulonik asitli sefalosporin MİK değerinde tek başına olan sefalosporin MİK değerine göre ≥ 3 dilüsyonluk azalma (8 kat) GSBL varlığını doğrular (4,45).

CLSI'ye göre doğrulama testlerinde pozitiflik durumunda tüm sefalosporinler (sefoksitin ve sefotetan gibi sefamisinler hariç) ve aztreonam MİK değerleri duyarlı gibi gözükse de dirençli olarak rapor edilir. β -laktam/ β -laktamaz inhibitörleri (piperasilin-tazobaktam gibi) MİK değerleri uygun aralıkta ise duyarlı olarak rapor edilmelidirler (4).

Doğrulama testlerinin yanlış pozitif ve negatiflikleri olabilir. Örneğin SHV-1'e bağlı aşırı üretilen beta laktamazlara bağlı *E.coli* ve *K.pneumoniae*'da GSBL değilken GSBL(+) miş gibi yanlış pozitiflik çıkabilir (4).

TEM-1 ve SHV-1 gibi beta laktamazları taşıyan suşlarda dış membran kaybı (OmpK35) da olursa bunlar doğrulama testlerinde GSBL (+) miş gibi değerlendirilebilirler. Broth mikrodilüsyon tekniğinde düşük inokulum kullanılırsa yanlış negatif sonuçlar ortaya çıkabilir. Yüksek bakteri yoğunluğu ile çalışıldığında direnç de artar (inokulum etkisi). Bazı mikroorganizmalarda AmpC tip beta laktamaz ve GSBL beraber bulunabilir. Aynı suшта görülen bu durum sefalosporin MİK değerlerini yükseltir ve bu da GSBL için doğrulama testlerinde yanlış negatifliğe neden olabilir (4).

2.5.3. Ticari Yöntemler

E-test: Bir ucuna seftazidim (MIK 0.5-32 µg/ml) ve diğer ucuna seftazidim + klavulonat (4 µg/ml) ve sefotaksim ve sefotaksim + klavulonat emdirilmiş plastik çubuklar kullanılır. Bu yöntemle GSBL üretimi için hem tarama hem de doğrulama yapılmış olur. Doğrulama testi olarak %87-100 duyarlılık ve %95-100 spesifite gösterir. Klavulonik asitli uçtaki 8 kat ya da üç dilüsyonluk azalma pozitif olarak değerlendirilir (4).

Bu striplerde klavulonik asidin diğer uca difüze olması nedeniyle stribin ortasında bir “fantom zon” görülebilir. Ve bu görüntü GSBL(+) olarak kabul edilir.

E-test, çift disk sinerjiden daha duyarlı bir testtir (46).

2.5.4. Moleküler Yöntemler

Fenotipik testler olarak tariflenen ve yukarıda bahsettiğimiz testler sadece GSBL varlığını ortaya koyarken moleküler yöntemler GSBL tiplerini belirlemede kullanılan önemli yöntemlerdir (20,46). Rutin yöntemler olmamakla beraber araştırma amacıyla uygulanan yöntemlerdir.

İzoelektrik Nokta Tayini (Isoelectric Focusing): Bu yöntem sadece enzim ailesini gösterir. GSBL’lerin ortaya çıktığı ilk zamanlarda izoelektrik noktanın belirlenmesi GSBL sayısı az olduğu için çok yararlı ve yeterliydi. TEM, SHV, CTX-M ve OXA tipi GSBL’lerin sayılarının artması ile ve izoelektrik noktaların birbirine yakın olmaları nedeniyle GSBL’lerin belirlenmesi mümkün olamamaya başlamıştır.

Oligonükleotid Primerler Kullanılarak PCR: Beta laktamaz geni için spesifik oligonükleotid primerler seçilerek PCR yöntemi ile beta laktamazın belirlenmesi esasına dayanır. β-laktamaz varlığını tayin etmede kullanılan en kolay ve yaygın

moleküler yöntemdir. Nokta mutasyonları içermeyen bu oligonükleotid primerleri gen bankası (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/genbank/index.htm>) gibi kullanıma açık yerlerden seçilebilir. Bu yöntemle beta laktamazların subtipleri belirlenemez (46).

PCR-RFLP (PCR-Restriction fragment length polymorphism): Amplifiye edilmiş PCR ürünleri restriksiyon endonükleazları ile sindirime tabi tutulur ve arta kalan fragmanlar elektroforezle ayrılır. Beta laktamaz içindeki nokta mutasyonu belirlemeye dayanır. Bu testte sadece GSBL fenotipini ortaya koyar (46).

PCR-SSCP (PCR- single-strand conformational polymorphism analysis): Özgül lokasyonlardaki tek baz mutasyonlarını saptar. Bu yöntemle alt tipler saptanabilir (46).

LCR (ligase chain reaction): Hedef DNA termal cyclers içinde denatüre edilir ve biotinle işaretli oligonükleotid primerler ile bağlanarak farklı pozisyonlardaki mutasyonlar saptanır.

Nucleotid sequencing: Enzimin kesin olarak belirlenmesi için dizi analizi çıkarılmalıdır bu yöntemle farklı enzim tipleri ve mutasyonlar saptanabilir.

PFGE (Pulsed-field gel electrophoresis): Suşlar arası klonal ilişkiyi belirlemek amaçlı kullanılır.

2.6. GSBL(+) Mikroorganizmalarla Nozokomiyal Enfeksiyonlar

GSBL üreten bir suşla meydana gelen enfeksiyonda, geniş spektrumlu beta laktam antibiyotiklerin kullanımıyla tedavi başarısızlığı izlenir. Bu yüzden CLSI

önerileri doğrultusunda GSBL olduğu doğrulanmış bir suş için duyarlılık test sonuçlarına rağmen tüm geniş spektrumlu beta laktam antibiyotiklere (penisilinler, sefalosporinler ve aztreonam) dirençli kabul edilmelidir (18, 20).

Bu enzimleri kodlayan plazmidlerin beta laktam antibiyotikler dışında antibiyotiklere de direnç taşınımında etkilidir. Aminoglikozidler, kinolonlar, tetrasiklin, kloramfenikol ve TMP-SMZ'e direnç GSBL direnciyle birliktelik gösterebilmektedir (10).

GSBL sıklığı dünya çapında gitgide artmaktadır ve özellikle yoğun bakım üniteleri başta olmak üzere önemli bir sorun teşkil etmektedir (20).

Bu suşlarla meydana gelen enfeksiyonlar komplike ve sınırlı tedavi seçeneklerine neden olmaktadır. Bu enfeksiyonlarda hastanede kalma süresi artmakta ve daha yüksek bir mortalite oranı görülmektedir (47).

2.7. Hastane Kökenli GSBL'ler İçin Risk Faktörleri

Önceki antibiyotik kullanımı bazı mikroorganizmaların seleksiyonuna neden olduğundan önemli bir risk faktörü olarak bilinmektedir (6).

- Uzun süre hastanede yatma
- Yoğun bakım ya da yeni doğan yoğun bakım ünitesinde uzun süre kalma
- Bakımevinde kalıyor olmak
- İleri yaş
- Düşük doğum ağırlığı
- Üçüncü kuşak sefalosporin kullanımı
- TMP-SMZ kullanımı
- Siprofloksasin kullanımı

- Çoklu antibiyotik kullanımı
- Uygun tedavinin gecikmesi
- Üriner kateter, santral venöz kateter, arteriyel kateter, biliyer drenaj gibi kateterlerin varlığı
- Gastrostomi, jejunostomi ya da trakeostomi
- Dekübit ülseri
- Sağlık çalışanları
- Endotrakeal ya da nazogastrik tüp
- Entübasyon ve mekanik ventilasyon
- Malignite ve kalp yetmezliği gibi altta yatan ciddi hastalık varlığı
- Yüksek APACHE (Acute Physiology and Chronic Health Evaluation) II skor
- Acil abdominal cerrahi gibi nedenler, nozokomiyal enfeksiyonlarda GSBL(+) patojenlerle kolonizasyon ya da enfeksiyon için risk faktörleri olarak belirlenmiştir (6,17,20,48).

2.8. Toplumdan Kazanılmış GSBL(+) Mikroorganizmalarla Enfeksiyonlar

Genellikle nozokomiyal enfeksiyon olarak karşımıza çıkan GSBL(+) mikroorganizmalarla meydana gelen enfeksiyonlar son yıllarda toplum kaynaklı olarak karşımıza çıkmaktadır.

Muhtemel toplum kaynaklı GSBL üreten izolatlar ilk kez 1998 yılında İrlanda'da yaşlı bir hastanın idrarında izole edilen *E.coli*'de belirlenen nalidiksik asit dirençli GSBL'dir. Fakat enzim tipi belirlenememiştir. Hastanede yatış öyküsü

olmayan bu hastanın risk faktörü yakın zamandaki çoklu antibiyotik kullanımıydı (30).

İspanya’da 1991-2003 tarihleri arasında GSBL üreten Enterobacteriaceae ailesinin fekal taşıyıcılık sıklığı salgın dışı değerlendirilmiş ve GSBL üreten mikroorganizmaların hastane ve toplumda anlamlı olarak arttığı belirlenmiştir. 1991 yılında hastane izolatları GSBL oranı % 0.3 iken 2003 yılında %11.8, toplum kökenli izolatlarda ise %0.7 iken %5.5’e çıkmıştır. 1991 yılında ayaktan hastalarda TEM-4 ve CTX-M-10 bulunurken, 2003 yılında CTX-M-9 ve SHV-12 bulunmuştur. Bu çalışma sonucunda hastane florasının topluma kaydığı belirtilmiştir (49).

Son yıllarda yapılan vaka kontrol çalışmalarında toplum kökenli izolatlarda özellikle GSBL(+) *E.coli* suşları için risk faktörleri belirlenmiştir (Tablo 2.7)(50,51).

Tablo 2.7 Toplum kökenli GSBL(+) patojenlerle kolonizasyon ya da enfeksiyon için risk faktörleri (50,51)

Diabetes mellitus
Antibiyotik kullanım öyküsü
Önceki kinolon kullanımı
Tekrarlayan idrar yolu enfeksiyon öyküsü
Hastanede yatış öyküsü
60 yaş üstü olmak
Erkek cinsiyet

GSBL üreten organizmalarla meydana gelen toplum kökenli enfeksiyonların bu aniden ortaya çıkışının nedeni net değildir. Fakat gıda maddeleri, hayvanlarda antibiyotik tüketimi ve sağlık bakım merkezleriyle sık temas halinde olmak neden olabilir deniyor (4).

Toplum kaynaklı GSBL'nin kanıtı *Kluyvera* türleri gibi bazı çevresel bakterilerde bulunan kromozomal enzimlerin deriveleri olan CTX-M enzimlerdir. Çiftlik hayvanlarında ve bazı çalışmalarda da toplumda kolonize insanların varlığı bilinmektedir (19).

2.9. Türkiye’de GSBL

Türkiye’de GSBL’lerle ilgili çalışmalar olmasına rağmen bu çalışmaların çoğu hastane kökenli izolatlarla yapılmıştır.

E.coli ve *Klebsiella* türlerinde GSBL üretim oranı farklı çalışmalarda sırasıyla %0-27 ve %33-86 olarak bildirilmiştir (52-58).

Bir çalışmada %17 olarak bildirilmiş olan GSBL oranı, *K.pneumoniae* suşları arasında aynı çalışmada %57.1 olarak bulunmuştur. Türkiye’de yapılan ilk DNA sekans analizi yapılan çalışma da budur (27).

1995-1999 yılları arasında 194 hastane kökenli Enterobacteriaceae suşunun %11.8’inde GSBL üretimi gösterilmiştir (59).

Türkiyede birkaç moleküler boyutta çalışma vardır (60,61).

2.10. Kontrol Önlemleri

GSBL üreten suşlarla nozokomiyal salgınlar klinikte önemli bir sorun oluşturmaktadır. Salgınlar genel olarak aynı suşla çapraz geçişle olmaktadır. Bu

noktada surveyans kültürlerinin alınması ile kolonizasyonun belirlenmesi, izolasyon önlemleri ve oksimino-sefalosporinlerin kullanılmasının kısıtlanması gibi önlemlerin alınması ile bu salgınların kontrolü mümkün olabilir (19).

Çoğu GSBL geniş plazmidlerde taşınmaktadır. *Klebsiella* türlerinin, diğer enterik bakterilere göre eller ve hastane ortamında daha uzun süre yaşayabilmeleri hastane içinde çapraz enfeksiyonu kolaylaştıran bir faktör olarak karşımıza çıkmaktadır. Genotipik ilişkili GSBL'lerin hastaneden hastaneye, şehirden şehire ve ülkeden ülkeye transferi dokümente edilmiştir (4).

Hastane ortamında GSBL(+) mikroorganizmaların ultrason jeli ve hasta termometreleri gibi çeşitli medikal aletleri kontamine edebileceği gösterilmiştir (20).

Bu konuda bilinen ve en güçlü kanıt sağlık bakım çalışanlarının elleri vasıtası ile insandan insana transferdir. Sağlık çalışanlarındaki el taşıyıcılığı, ellerin klorheksidin ve alkol bazlı antiseptiklerle yıkanması sonucunda önlenabilmektedir (4).

Yine sağlık çalışanlarında gastrointestinal taşıyıcılık dokümente edilmiştir; fakat *Salmonella* türleri dışında nadirdir. Bazı hiperendemik yoğun bakım ünitelerinde ve transplantasyon ünitelerinde hastaların %30-70'inde herhangi bir zamanda GSBL(+) suşlarla gastrointestinal kolonizasyonun geliştiği bilinmektedir (4).

Temas izolasyon önlemleri olarak eldiven ve önlük kullanımının horizontal yayılımı azalttığı gösterilmiştir. El yıkama, kolonizasyon taraması ve hasta izolasyon yöntemleri salgın kontrolünde her zaman etkili olmayabilir (4).

Selektif digestiv dekontaminasyon GSBL(+) mikroorganizmaların yayılımının önlenmesi amacıyla kullanılmıştır. Eritromisinle barsak dekontaminasyonu etkin bulunmazken çeşitli çalışmalarda polimiksin, neomisin, nalidiksik asit, kolistin, tobramisin ve norfloksasin ile başarı elde edilmiştir. Digestif dekontaminasyona bir alternatif de nazofarenks dekolonizasyonudur. Yakın çalışmalarda povidon iyotlu nasal spreyler üst solunum traktının dekolonizasyonu için kullanılmıştır (4).

CTX-M üreten izolatlar sığır, kümes hayvanları, köpek ve kedilerde izole edilmişlerdir. Bu durum rezistan mikroorganizmaların yayılımında rol oynayabilir (30).

GSBL (+) mikroorganizmaların aynı klondan gelip gelmediğinin belirlenmesi monoklonal ya da oligoklonal salgının belirlenmesi açısından önemlidir. Böylece hastalığın, hastadan hastaya horizontal yolla geçip geçmediği anlaşılabilir. Bu kontrol önlemleri açısından önemli bir bilgidir. Buna zıt olarak aynı tür ama farklı klondan gelen suşlar poliklonal salgınlara neden olabilmektedir. Bu durum antibiyotik kullanımı sonucu selektif baskı ile oluşmaktadır (4).

2.11. Tedavi

GSBL üretimi nedeniyle antibiyotiklere karşı geniş bir direnç spektrumu oluşması tedavi seçeneklerini kısıtlarken antimikrobiyal etkinliğinde de azalmaya neden olmaktadır.

GSBL'leri kodlayan genleri taşıyan büyük plazmidler sıklıkla aminoglikozidler ve TMP-SMZ, tetrasiklinler, kloramfenikol ve sülfanamidler gibi antibiyotiklerin de direnç genlerini taşımaktadırlar (30). Plazmid aracılı kinolon duyarlılığında azalmaya ilişkin raporlar günden güne artmaktadır. GSBL üretimi ve kinolon direnci arasındaki ilişki tam olarak anlaşılamamıştır. Porin kaybı özellikle Klebsiellalar için dirençten sorumlu tutulmuştur. Ama topoizomerez değişikliği olmadan porin kaybı ya da aktif efflux kinolon direncinde anlamlı etkinlikte bulunmamıştır. Genişlemiş spektrumlu beta laktamların ve kinolonların fazla kullanılması direnç oluşumunda önemlidir. Bakımevinde kalma kinolon direnci için anlamlı bir risk faktörüdür (4).

GSBL'lerin hidrolizine karşı stabil antibiyotikler olan karbapenemlerin kullanılması önerilmektedir. Duyarlı ise siprofloksasin ve aminoglikozidler de kullanılabilir (Tablo 2.8).

Sefepim ilk seçenek tedavi olarak önerilmemektedir. Eğer sefepim MIK değeri < 2 µg/ml ise yüksek doz (2X2gr) kullanılabilir (4). GSBL üreten patojenlere karşı sefepim kullanımı ile ilgili literatürde sınırlı çalışma vardır (47).

Tablo 2.8 GSBL (+) mikroorganizmalarla oluşan enfeksiyonlarda tedavi seçimi
(4)

Enfeksiyon tipi	Tedavi seçimi	İkinci seçenek tedavi
İdrar yolu enfeksiyonu	Duyarlı ise kinolonlar	Amoksisilin-klavulonat
Bakteriyemi	Karbapenem	Duyarlı ise kinolonlar
Nosokomiyal pnömoni	Karbapenem	Duyarlı ise kinolonlar
İntraabdominal enfeksiyon	Karbapenem	Duyarlı ise kinolonlar + metronidazol
Menenjit	Meropenem	İntratekal polimiksin B

Karbapenemler: Karbapenemler (imipenem, meropenem) ve özellikle de imipenemin GSBL üreten *E.coli* ve *K. pneumoniae*'nin neden olduğu enfeksiyonlarda başarılı olduğu gösterilmiştir.

Avrupa ve Amerika'da The Meropenem Yearly Susceptibility Test Information Collection (MYSTIC) surveillance programı sonuçlarına göre karbapenemler GSBL üreten *E.coli* ve *Klebsiella* türlerine karşı yüksek bir aktiviteye sahip bulunmuşlardır (53,62).

Ciddi enfeksiyonlu, yüksek riskli hasta grubunda amprik tedavide diğer ajanlarla yapılan çalışmalarda daha iyi sonuç alınan karbapenemler önerilmektedir (19).

Türkiye'de yapılan çalışmalarda da karbapenem grubu antibiyotikler gram negatif izoatlar içinde duyarlılıkları açısından en etkili antibiyotiklerdir (63).

Aşırı karbapenem kullanımı tedavi maliyetlerinde artışa neden olurken karbapeneme dirençli mikroorganizmaların ortaya çıkışını hızlandırmaktadır (64).

Piperasilin-Tazobaktam: GSBL'lere karşı en etkili beta laktamaz inhibitörü tazobaktamdır. Piperasilin-tazobaktamın bu tip enfeksiyonların tedavisinde kullanımı ile ilgili birkaç çalışma bulunmasına rağmen bu konuda geniş, prospektif, randomize bir çalışma yoktur (47). Ciddi sistemik enfeksiyonlarda beta laktam/beta laktamaz inhibitörlerine aminoglikozid eklenmesi önerilmektedir (32).

Aminoglikozidler: GSBL üreten *E.coli* ve *Klebsiella* türlerinde GSBL(-) suşlarla karşılaştırıldığında Aminoglikozid direnci daha fazla görülmektedir (47).

Üriner sepsis varlığında amikasin gibi bir aminoglikozid tavsiye edilebilir. Fakat bu tavsiye antibiyotiğin duyarlılık paternine bağlıdır. Yaşlı hastalarda uzun süreli aminoglikozid tedavisi önerilmemektedir (19). Aminoglikozidlerin üriner sistem enfeksiyonları dışında tek başına kullanılmaları uygun değildir.

Florokinolonlar: Bu enfeksiyonların tedavisinde kinolonlar sınırlı bir başarıya sahiptirler. Özellikle üriner sistem enfeksiyonlarında yüksek konsantrasyonlara ulaşabilmeleri nedeni ile tedavide yararlıdır. Florokinolonlar ve GSBL üretiminin beraber görüldüğü direnç paternlerinde artış, kullanımını önemli ölçüde kısıtlamaktadır. GSBL(+) *E.coli* ve *K.pneumoniae* enfeksiyonlarında florokinolonlar için risk faktörleri; florokinolon kullanımı, aminoglikozid kullanımı ve bakım evinde kalmak olarak belirlenmiştir (47).

Sefepim: Dördüncü kuşak bir sefalosporin olan sefepim, bazı GSBL'lere karşı üçüncü kuşak sefalosporinlerden daha stabilken AmpC-type β -laktamazlara karşı oldukça stabildir (47). Sefepim, artan inokulum etkisine bağlı olarak inaktive edilebilir. GSBL varlığında ilk seçenek bir antibiyotik değildir. Özellikle ciddi

enfeksiyonlarda kullanılmamalıdır. Eğer kullanılacaksa yüksek dozda ya da kinolon veya aminoglikozid gibi antibiyotiklerle kombine edilerek kullanılmalıdır (20, 65).

3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1. Olguların Seçimi

1 Mayıs 2006 ve 1 Ocak 2007 tarihleri arasında Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Klinik Bakteriyoloji ve Enfeksiyon Hastalıkları Bakteriyoloji Laboratuvarı ve Dışkapı Yıldırım Bayezit Eğitim ve Araştırma Hastanesi Mikrobiyoloji Laboratuvarı'na gelen çeşitli poliklinik hastalarına ait idrar örneklerinde GSBL (+) *E.coli* ürettiği belirlenen hastalardan son 3 ayda hastanede yatma hikayesi olmayan 33 hasta çalışmaya dahil edildi. Son 3 ayda hastanede yatış öyküsü olmayan ve idrarında GSBL(-) *E.coli* ürettiği belirlenen 70 hasta da kontrol grubu olarak belirlendi. Bakımevinde yatan ve hastanede yatan hastalar çalışmaya alınmadı. Komplike ve nonkomplike idrar yolu enfeksiyonlu hastalarda 100.000 koloni/ml ve üzeri üremesi olan hastalar çalışmaya dahil edildi. Tekrarlayan izolatlar tek vaka olarak değerlendirildi.

3.2. Verilerin Toplanması

Sonuç almaya gelen hasta ve hasta yakınlarının sorgulanması ya da telefon aracılığı ile hasta bilgilerine ulaşılması ile verilere ulaşıldı. Yaş, cinsiyet, altta yatan hastalık (DM, üriner sistem anomalileri), son 3 aydan önce hastanede yatış öyküsü, son 1 yıl içinde cerrahi operasyon öyküsü, kalıcı idrar sondası veya son 3 ayda 1 haftadan uzun idrar sondası varlığı, immunsupresyon, son 3 ayda en az 48 saat süreyle antibiyotik kullanma hikayesi gibi veriler hazırlanan hasta formlarına kaydedildi (Ek-1).

Üriner sistem anomalileri başlığı altında ürolojik cerrahi hikayesi, nefrolitiazis, üriner sistem konjenital anomalileri, vezikoüretal reflü, nörojenik mesane verileri kaydedildi.

3.3. Mikrobiyolojik Çalışma

Mikrobiyolojik çalışmalarda GSBL(-) kontrol suş olarak *E.coli* ATCC 25922, GSBL(+) kontrol suş olarak *K. pneumoniae* ATCC 700603 kullanıldı.

Disk Difüzyon Testi: Tüm izolatlar CLSI disk difüzyon prosedürlerine göre tarandı. Buna göre inhibisyon zonlarının CAZ(30µg) $\leq$ 22mm, CRO(30µg) $\leq$ 25mm, ATM(30µg) $\leq$ 27mm ve CTX(30µg) $\leq$ 27mm olması durumunda GSBL'den şüphelenildi ve doğrulanmaya çalışıldı.

Cift Disk Sinerji Testi: Disk difüzyon standartları sağlanarak 0.5 Mc Farland bakteri süspansiyonu Mueller-Hinton agara yayıldı. Agar yüzeyine diskler merkezden merkeze 20 mm olacak şekilde yerleştirildi. AMC diski çevresine ATM, FOX, CAZ (30µg) ve CTX (30µg) bu şartlara uygun olarak yerleştirildi. 35⁰C de 18-20 saat inkübasyon sonrası besiyerleri incelendi. CAZ ve CTX inhibisyon zonlarının klavulonik asit karşısında bozularak genişlemesi ya da iki inhibisyon zonu arasındaki bakteri üreyen alanda üreme olmayan bir bölgenin görülmesi GSBL(+) olarak kabul edildi.

Double Disk Doğrulama Testi: Disk difüzyon standartları sağlanarak 0.5 Mc Farland bakteri süspansiyonu Mueller-Hinton agara yayıldı. CTX(30 µg) ve CAZ(30 µg) diskleri ve bunların klavulonik asitli (10 µg) diskleri plağa yerleştirildi. Disklerin çevresindeki zon çaplarında klavulonik asitli disk lehine 5 mm'lik artış olması GSBL (+) olarak kabul edildi.

E-test: MİK belirlenmesi ve GSBL varlığını ortaya koymak amacıyla E-test yapıldı. Disk difüzyon standartları sağlanarak 0.5 Mc Farland bakteri süspansiyonu Mueller-Hinton agara yayıldı. Bir ucunda CAZ (0.5-32µg/ml) diğer ucunda CAZ-K (0.064-4µg/ml) içeren E-test (AB Biodisk) stripler 35⁰C de 18 saat inkübasyonun ardından

değerlendirildi. Oluşan elips şeklindeki zonun plastik stripi kestiği nokta o suş için MİK değeri olarak kabul edildi. MİK değerinde CAZ-K bulunan uçta ≥ 8 kat ya da ≥ 3 dilüsyonluk azalma pozitif olarak kabul edildi. Yine E-test çevresinde oluşan Fantom zon varlığı GSBL(+) olarak kabul edildi.

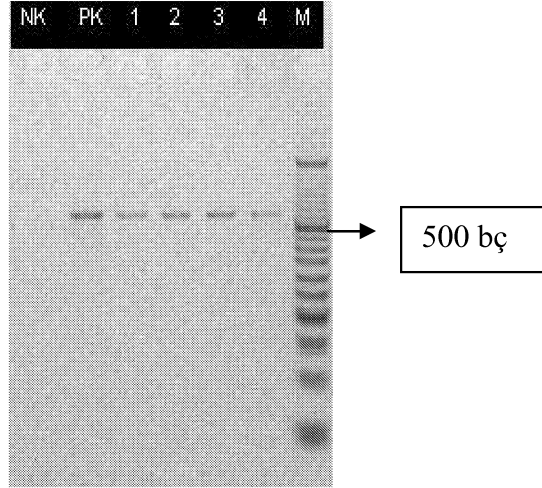
3.4. Moleküler analiz

DNA eldesi: Genomic DNA from Tissue (Nucleospin Tissue / Macherey-Nagel, Almanya) kiti ile üretici firmanın önerileri doğrultusunda yapıldı.

Plazmid eldesi: GeneJET Plazmid Miniprep Kit (Fermentas, Lituanya) ile üretici firmanın önerileri doğrultusunda gerçekleştirildi.

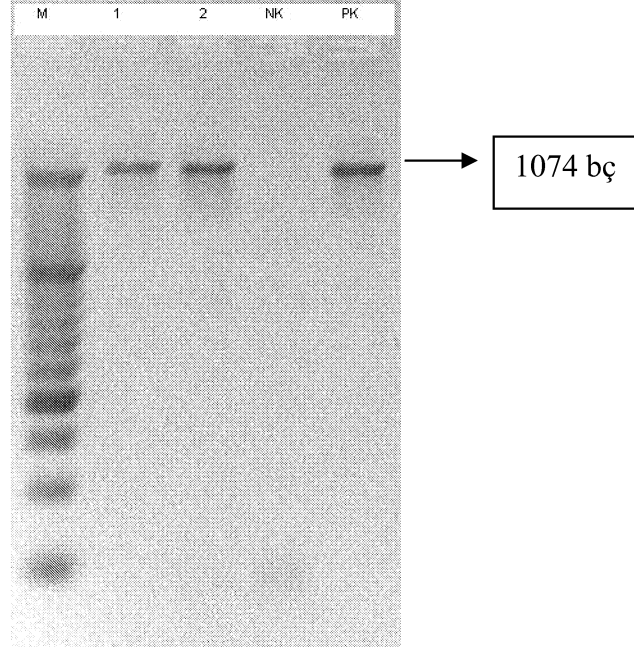
Polimeraz zincir reaksiyonu: Polimeraz zincir reaksiyonu (PZR) kromozomal ve plazmid DNA'ları ile ayrı ayrı çalışıldı. Reaksiyonlar 50 µl toplam hacim içerisinde her primerden 50 pmol olacak şekilde, 200 µm dNTP mix, 2 mM MgCl₂, 10x reaksiyon tamponu (160 mM (NH₄)₂SO₄, 670 mM Tris HCl pH8.8, %0.1 Tween 80), 1U Taq DNA polimeraz (Fermentas, Lituanya) ve 30 ng DNA ile oluşturuldu. PCR reaksiyonları Techgene (Techne FTGENE 5D) ısı döngü cihazında (termal cyclers) gerçekleştirildi. Sıcaklık döngüleri TEM için; 94⁰C'de 5 dakikalık başlangıç denatürasyonu sonrasında, 30 döngü 94⁰C'de 1 dakika, 55⁰C'de 1 dakika, 72⁰C'de 1 dakika ve son uzama 72⁰C'de 10 dakika olacak şekilde ayarlandı. SHV için; 94⁰C'de 5 dakikalık başlangıç denatürasyonunu takiben, 30 döngü 94⁰C'de 30 saniye, 66⁰C'de 30 saniye, 72⁰C'de 50 saniye ve 72⁰C'de 10 dakikalık son uzama olarak gerçekleştirildi. CTX-M için; 94⁰C'de 5 dakikalık başlangıç denatürasyonu, daha sonra 35 döngü 94⁰C'de 45 saniye, 46⁰C'de 45 saniye, 72⁰C'de 45 saniye ve son uzama 72⁰C'de 10 dakika olacak şekilde yapıldı.

Görüntüleme: TEM için 1074 baz çifti (bç), SHV için 1016 bç ve CTX-M için 550 bç'lik PZR ürünleri 0.5x TBE tamponu içinde 0.5 µl etidyum bromid içeren %2'lik agaroz jelde 100 V elektrik akımında elektroforez ile yürütüldü ve UV transilluminatör (TFX 20M, Vilber Lourmat, Fransa) ile görüntülendi (Fotoğraf 3.1 ve Fotoğraf 3.2). Amplifikasyon ürünlerinin büyüklüklerinin değerlendirilmesinde belirteç olarak O'RangeRuler 50 bç DNA Ladder Plus (Fermentas, Lituanya) kullanıldı. Kullanılan oligonükleotid primerleri tablo 3.1'de gösterilmiştir.



NK: negatif kontrol, PK: Pozitif kontrol, 1, 2, 3, 4: Pozitif örnekler, M: Moleküler belirteç (O'RangeRuler 50 bç)

Resim 3.1. *E.coli* CTX-M sonuçları



M: Moleküler belirteç (O'RangeRuler 50 bç); 1, 2: Pozitif örnekler; NK: negatif kontrol; PK: Pozitif kontrol

Resim 3.2. *E.coli* TEM sonuçları

Tablo 3.1 TEM ve SHV tespitinde kullanılan oligonükleotid primerler

	Oligonükleotid Primer Aminoasit dizilimi		Referans
bla _{TEM}	1. 5'-GAA GAC GAA AGG GCC TCG TG-3'	1074 bp	27,34
	2. 5'-GGT CTG ACA GTT ACC AAT GC-3'		
bla _{SHV}	1. 5'-CGC CGG GTT ATT CTT ATT TGT CGC-3'	1016 bp	27
	2. 5'-TCT TTC CGA TGC CGC CGC CAG TCA-3'		
bla _{CTX-M}	A. 5'-CGC TTT GCG ATG TGC AG-3'	550 bp	26,66,67
	B. 5'-ACC GCG ATA TCG TTG GT-3'		

3.5. İstatistiksel Analiz

Toplum kökenli GSBL üreten *E.coli* ile kolonizasyon veya enfeksiyon için potansiyel risk faktörleri tek değişkenli analiz ile tanımlandı. Kategorik değişkenlerin karşılaştırılmasında ki-kare testi kullanıldı. Tek değişkenli analizde istatistiksel olarak anlamlı bulunan değişkenlere lojistik regresyon analizi ile çok değişkenli analiz yapıldı. $p \leq 0.05$ değeri istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi. Tüm analizler için Stata versiyon 8.0 istatistik programı kullanıldı.

4. BULGULAR

Hasta özellikleri, epidemiyolojik veriler ve tek değişkenli analizde GSBL üreten *E.coli* 'lerle ilişkili bulunan tüm değişkenler tablo 4.1'de gösterilmiştir.

GSBL (+) gruptaki hastaların yaş ortancası 48 olup 23'ü kadın, 10'u erkekti. GSBL(-) grupta yer alan hastaların yaş ortancası 45 idi ve 63'ü kadın 7'si erkekti.

GSBL (+) grubun %58'i erkek, %26'sı kadındı ve bu fark istatistiksel olarak anlamlı bulundu ($p=0.01$).

İleri yaş (50 yaş üzeri), GSBL pozitifliği açısından risk faktörü olarak tespit edilmedi ($p= 0.217$).

Son 3 aydan önce ve 1 yıl içindeki hastanede yatış öyküsü GSBL pozitifliği açısından risk faktörü olarak tespit edildi ($p<0.01$)

Son 3 ayda antibiyotik kullanımı GSBL pozitifliği açısından risk faktörü olarak tespit edildi ($p<0.01$).

Antibiyotik öyküsü ayrı ayrı değerlendirildiğinde siprofloksasin kullanım öyküsü ve aminopenisilin kullanım öyküsü ve GSBL ilişkisi istatistiksel olarak anlamlıydı (sırasıyla $p=0.041$, $p=0.013$). TMP-SMZ, aminoglikozid ve ikinci kuşak sefalosporin kullanım öyküsü ile istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki tespit edilmedi.

Üriner anomali varlığı ve GSBL (+)'liği arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki tespit edildi ($p<0.01$).

Altta yatan hastalıklar içinde en sık gördüğümüz DM ile GSBL (+)'liği arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki tespit edildi ($p=0.03$).

GSBL üretiminde rolü olduğu düşünülen ve tek değişkenli analizde anlamlı bulunan üriner anomaliler, antibiyotik kullanımı, eski yatış öyküsü ve cinsiyet çok değişkenli analizde tekrar değerlendirildi (Tablo 4.2).

Antibiyotik kullanım öyküsü ve cinsiyet istatistiksel olarak anlamlı bulundu (sırasıyla OR=11,4 p=0.007, OR=0.08 p=0.034).

GSBL(+) 33 *E.coli* suşunda kinolon direnci %85, gentamisin direnci %42, TMP-SXT direnci %73, amikasin direnci %12, piperasilin-tazobaktam direnci %18 idi. Karbapenem direnci her iki grupta da saptanmadı (Tablo 4.3).

Siprofloksasin, amikasin ve gentamisin direnci GSBL (+) *E.coli*'lerde GSBL (-) *E.coli*'lere göre istatistiksel olarak anlamlı bulundu (sırasıyla p<0.01, p=0,03, p<0.01).

GSBL (+) grupta %61 TEM ve %85 CTX-M pozitifliği elde edildi. SHV tespit edilemedi. Moleküler çalışma sonunda elde edilen toplam GSBL yüzdesi %94'tü (Tablo 4.4).

GSBL belirlemek için yapılan e-test, double disk sinerji (DDS), sefalosporin/klavulonat kombinasyon diskleri (seftazidim-klavulonat/ sefotaksim-klavulonat), altın standart olarak moleküler yöntemler temel alındığında e-test ile %94, DDS yöntemi ile %23, seftazidim-klavulonat kombinasyon diski ile %74, sefotaksim-klavulonat kombinasyon diski ile %96 oranında GSBL (+)'liği belirlendi.

Tablo 4.1 Toplumda GSBL üreten *E.coli*'nin neden olduğu üriner sistem enfeksiyonlarıyla hasta özellikleri, epidemiyolojik ve klinik değişkenlerin ilişkisi (Tek değişkenli analizi)

	GSBL (+)(n=33)	GSBL (-)(n=70)	P
Kadın/Erkek	23(%26)/10(%58)	63(%73)/7(%41)	0.01
Yaş ortancası	48	45	
İleri yaş(50 yaş üzeri)	16(%48)	25(%36)	0.21
Hastanede yatış öyküsü	10(%30)	7(%10)	0.01
Üriner anomaliler	16(%80)	10(%30)	<0.01
Son 3 ayda antibiyotik kullanımı	23(%70)	26(%37)	0.002
İkinci kuşak sefalosporin kullanımı	6(%20)	6(%17)	0.76
Siprofloksasin kullanımı	20(%67)	14(%41)	0.04
Aminoglikozid kullanımı	6(%19)	3(%9)	0.20
Aminopenisilin kullanımı	5(%17)	16(%46)	0.01
TMP-SMZ kullanımı	7(%23)	3(%9)	0.10
DM	8(%24)	6(%9)	0.03

Tablo 4.2 GSBL üreten ve üretmeyen toplum kökenli *E.coli* izole edilen hastalara ait anlamlı risk faktörlerinin çok değişkenli ileri analizi

	Odds Ratio	Std. Err.	P*	%95 Güven aralığı
Üriner anomali	1.54	1.40	0.636	0.25-9.24
Antibiyotik kullanımı	11.42	10.24	0.007	1.97-66.20
Eski yatış öyküsü	8.28	9.51	0.066	0.87-78.71
Cinsiyet	0.81	0.09	0.034	0.007-0.82

*Lojistik regresyon analizi

Tablo 4.3 GSBL (+) ve GSBL (-) *E.coli*’lerde antibiyotik duyarlılıkları

		İmipenem Sayı (%)	Gentamisin Sayı (%)	Amikasin Sayı (%)	Siprofloksasin Sayı (%)	TMP- SMZ Sayı (%)	TZP
GSBL(+)	Duyarlı	33(100)	19(58)	29(88)	5(15)	9(27)	27(82)
	Dirençli	0	14(42)	4(12)	28(85)	24(73)	6(18)
GSBL(-)	Duyarlı	70(100)	62 (89)	70(100)	50(71)	30(43)	63(90)
	Dirençli	0	8 (11)	0	20(29)	40(57)	7(10)

Tablo 4.4 ESBL (+) olduğu düşünölen gruptaki moleköler çalışma sonuçları

TEM Kromozom	%12		
TEM Plazmid	%61	TEM (Plazmid+Kromozomal)	%61
CTX-M Kromozom	%21		
CTX-M Plazmid	%82	CTX-M (Plazmid+Kromozomal)	%85
SHV Kromozom	0		
SHV Plazmid	0	0	0
ESBL Pozitifliği (Toplam)	%94		

5. TARTIŞMA

İlk kez 1983 yılında oksiminino-sefalosporinlerin kullanımının artışı ile ortaya çıktığı bilinen ve sıklıkla *K. pneumoniae* ve *E.coli*'de gördüğümüz GSBL'ler dünyada ve ülkemizde hızla yayılmaktadırlar ve önemli bir mortalite ve morbidite nedeni olarak karşımıza çıkmaktadırlar (30). Bu konuda tedbir alabilmek için hazırlayıcı risk faktörlerini belirlemek önem kazanmaktadır ve bu konuyla ilgili pek çok çalışma yapılmaktadır. Biz de bu çalışmamızda moleküler tiplendirmenin yanında bu risk faktörlerini belirlemeye çalıştık.

Erkek cinsiyet, önceden antibiyotik kullanımı (özellikle kinolon ve aminopenisilin grubu), hastanede yatış öyküsü, üriner anomaliler (ürolojik cerrahi hikayesi, nefrolitiazis, üriner sistem konjenital anomalileri, vezikoüretral reflü, nörojenik mesane), son 3 ayda antibiyotik kullanım öyküsü, DM risk faktörü olarak tespit edildi.

Toplum kökenli idrar yolu enfeksiyonlarında ampirik antibiyotik tedavisinin yaygın olarak benimsenmiş olması dirençli suşların ortaya çıkmasında etkili bir faktördür. Antibiyotik kullanım hikayesi, üzerinde çok durulan ve önemli bir risk faktörü olarak karşımıza çıkmaktadır. İlk çalışmalarda genişlemiş spektrumlu sefalosporinler, florokinolon, TMP-SMZ ve aminoglikozid gibi farklı grup antibiyotiklerin kullanımı ile direnç arasındaki ilişki gösterilmiştir (68). Colodner ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada GSBL üretimi ile ikinci kuşak sefalosporin, kinolon ve penisilin kullanımı ilişkili bulunmuş fakat TMP-SMZ ve aminoglikozitlerle böyle bir ilişki gösterilememiştir (50). Bizim çalışmamızda ise önceden antibiyotik kullanımının bir risk faktörü olduğu tespit edildi ($p<0.01$). Tüm antibiyotikler içinde siprofloksasin ve aminopenisilin kullanımı ile GSBL ilişkisi istatistiksel olarak anlamlı bulundu (sırasıyla $p=0.04$, $p=0.01$). Toplumumuzda üriner sistem enfeksiyonlarının ampirik tedavisinde kinolonların ve üst solunum yolu enfeksiyonlarının ampirik tedavisinde de aminopenisilinlerin çok tercih ediliyor olması bu durumu açıklayabilir.

GSBL ile siprofloksasin direnci arasında bir ilişki olduğu pek çok çalışmada gösterilmiştir (30,51). Arslan ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada siprofloksasin kullananlarda GSBL (+)'liğinin siprofloksasin kullanmayalara göre yaklaşık iki kat fazla olduğu belirlenmiştir (sırasıyla %15'e %7.4) (69). Bu birliktelik florokinolonların başta toplumda olmak üzere çok sık kullanılan ajanlar olması ve GSBL kodlayan genleri taşıyan plazmidlerde çoklu direnç genlerinin birlikte bulunması ile açıklanabilir (68).

Bazı çalışmalarda ikinci kuşak sefalosporinlerle toplum kökenli GSBL üretimi arasında ilişki gösterilmiştir (50,70). Bizim çalışmamızda bununla paralel bir sonuç elde edilmedi. Toplumumuzda artık ikinci kuşak sefalosporinlerin erişkin hastalarda daha az kullanılıyor olması bu durumu açıklayabilir.

Pek çok çalışmada altta yatan hastalık varlığının GSBL üretimi için risk faktörü olduğu gösterilmiştir. DM, üriner anomaliler ve sık üriner sistem enfeksiyonu hikayesi pek çok çalışmada risk faktörü olarak karşımıza çıkmaktadır (50,51,70,71). Bizim çalışmamızda da altta yatan hastalık varlığı istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur. Özellikle üriner anomaliler ve DM ile GSBL ilişkisi istatistiksel olarak anlamlıydı (sırasıyla $p<0.01$ ve $p=0.03$).

Çoğu çalışmada hastanede yatış öyküsü bir risk faktörü olarak belirlenmiştir. (50,70,71). Bizim çalışmamızda da son 1 yıl içindeki yatış öyküsü ile GSBL üretimi istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ($p=0.01$). Hastanede yatış öyküsünün altta yatan hastalıkla paralellik göstereceği unutulmamalıdır.

Pek çok çalışmada 60 yaş üzeri hastalarla GSBL üretimi arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki bulunmaktadır (50,71). Bizim çalışmamızda böyle bir ilişki bulunamaması çalışma grubumuzdaki 60 yaş üstü hasta sayısının az olmasına bağlanabilir.

Çalışmamızda erkek cinsiyetle GSBL üretimi arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki bulundu. Pek çok çalışmada erkek cinsiyetle anlamlı bir ilişki bulunmaktadır (50). Bu durum erkekte komplike üriner sistem enfeksiyonun daha sık görülmesine bağlanabilir (50). Ayrıca bizim çalışmamızda altta yatan hastalığı olanların %71'i erkek, %35'i kadındı ve bu fark istatistiksel olarak da anlamlıydı

($p=0.006$). Bu durum bizim çalışmamız için erkek cinsiyet ve GSBL ilişkisini açıklayan diğer bir faktördür.

Fenotipik analizlerde GSBL olduğu belirlenen 30 *E.coli* suşunun hepsinde CTX-M ya da TEM ya da her ikisi birden tespit edildi. CTX-M tipi beta laktamazların hastane ortamı dışında toplumda hızla yayılımı endişe vericidir. *ISEcp1* gibi mobil elementlerle CTX-M β -laktamazı kodlayan genlerin ilişkisi toplumdaki bu yayılımı açıklayabilir (30). Suşların hiçbirinde SHV tespit edilmedi. Bizim çalışmamız idrardaki *E.coli*'leri kapsadığından ve SHV'lerin daha çok *Klebsiella* türlerinde gösterilen GSBL'ler olması bu durumu açıklayabilir.

GSBL direnci ve diğer antibiyotiklere karşı direnç karşılaştırıldığında, GSBL üreten suşların diğer antibiyotik gruplarına karşı daha fazla direnç gösterdiği görülmektedir. Bizim çalışmamızda da siprofloksasin, amikasin ve gentamisin direnci GSBL (+) *E.coli*'lerde GSBL (-) *E.coli*'lere göre istatistiksel olarak anlamlı bulundu (sırasıyla $p<0.01$, $p=0,03$, $p<0.01$). Bu durum diğer direnç genlerinin, GSBL genleri ile aynı plazmidlerle aktarılmasının bir sonucu olabilir.

Calbo ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada siprofloksasin direnci %31.5, TMP-SMZ direnci %73.6 bulunmuş ama aminoglikozid direnci ile bir ilişki tespit edilmemiştir (70). Bizim çalışmamızda ise kinolon, amikasin ve gentamisin direnci ve GSBL direnci ilişkisi anlamlı bulunurken (sırasıyla $p<0.01$, $p=0,03$, $p<0.01$) TMP-SMZ ile böyle bir ilişki gösterilemedi. Kinolonlar GSBL (+) gram negatif bakterilerle gelişen enfeksiyonların tedavisinde önemli bir alternatiftirler. Kinolon direncinin yüksek olması GSBL pozitif enfeksiyonlar için önemli bir seçenek oluşturan kinolonların kullanımını kısıtlamaktadır. Uygun olmayan kinolon kullanımının engellenmesi bu anlamda çok önemlidir.

Çok değişkenli analizde antibiyotik kullanım öyküsü ve cinsiyet istatistiksel olarak anlamlı bulundu (sırasıyla $OR=11,4$ $p=0.007$, $OR=0.08$ $p=0.034$).

Bir çalışmada GSBL belirlemek için yapılan E-test ile %54 oranında, DDS ile de %67 oranında GSBL belirlenmiştir (72). Bizim çalışmamızda ise E-test ile %94, DDS yöntemi ile %24 oranında GSBL belirlendi. DDS'deki bu düşük oran diskler arasındaki mesafenin standardizasyonunun olmaması ile ilgili olabilir.

6. SONUÇ

Hastalara ait çeşitli risk faktörlerinin ve çeşitli klinik özelliklerin GSBL üretimindeki katkıları aşıkardır. Bizim çalışmamızda çok değişkenli analizde cinsiyet ve önceden antibiyotik kullanımı risk faktörleri olarak karşımıza çıkmıştır.

Daha çok nozokomiyal enfeksiyonlar olarak karşımıza çıkan GSBL'lerin artık toplumda da sık görünmeleri bu konuda bir an önce önlem alınması gerekliliğini gözler önüne sermektedir. TEM ve SHV gibi çok yaygın görülen GSBL'ler dışında 1995 yılından beri prevalansı günden güne artan ve özellikle *E.coli* 'lerde görülen CTX-M'ler toplumda artış göstermeye başlamıştır (30,70).

Özellikle toplum kökenli izolatlar için çoğu laboratuvar GSBL araştırmasını rutin olarak yapmamaktadır. GSBL'nin hastane kaynaklı izolatlarda olduğu kadar toplum kökenli izolatlarda da rutin olarak izlenmesi ve yayılım takip edilmesi önemlidir.

GSBL üretimini önlemek için uygun olmayan ve gereksiz antibiyotik kullanımından kaçınılmalı, sürveyans programları uygulanarak direnç izlenmeli ve direnç yayılımını azaltmada enfeksiyon kontrol önlemlerine uyulmalıdır.

ÖZET

Toplum Kökenli Üriner Sistem Enfeksiyonlarında GSBL (+) *E. coli* İzolatlarında Risk Faktörleri ve Moleküler Tiplendirme

Nozokomiyal enfeksiyon olarak karşımıza çıkan GSBL üreten *E.coli*’ler toplumda da görülmeye başlanmıştır ve günden güne sıklık ve sayıları artmaktadır. Bizim çalışmamızdaki amaç toplum kökenli idrar izolatlarındaki GSBL üreten *E.coli*’ler için risk faktörlerini belirlemek ve GSBL’leri moleküler olarak tiplendirmektir.

1 Mayıs 2006 ve 1 Ocak 2007 tarihleri arasında iki merkeze gelen toplum kökenli üriner sistem enfeksiyonu olan çeşitli poliklinik hastalarına ait idrar örneklerinde GSBL (+) *E.coli* ürettiği 33 hasta çalışma grubu ve GSBL(-) *E.coli* ürettiği belirlenen 70 hasta da kontrol grubu olarak belirlendi. Potansiyel risk faktörü olabilecek veriler toplandı. Fenotipik testlerle GSBL olduğu düşünülen bu 33 hastanın PCR ile CTX-M, TEM ve SHV açısından moleküler analizi yapıldı.

Risk faktörleri tek değişkenli analizle değerlendirildiğinde kadın cinsiyet ($p=0.01$), hastanede yatış öyküsü ($p=0.01$), üriner anomaliler ($p<0.01$), son 3 ayda antibiyotik kullanımı ($p<0.01$), siprofloksasin kullanımı ($p=0.04$), aminopenisilin kullanımı ($p=0.01$), DM ($p=0.03$) GSBL üreten *E.coli*’nin neden olduğu toplum kökenli üriner sistem enfeksiyonları ile ilişkili bulundu. Çok değişkenli analizde ise cinsiyet (OR, 0.81; CI 95%, 0.007-0.82; $p=0.034$) ve antibiyotik kullanım öyküsü (OR, 11.42; CI 95%, 1.97-66.20; $p=0.007$) GSBL üretimi ile ilişkili bulunmuştur.

GSBL (+) grupta moleküler analiz sonucunda %85 CTX-M, %61 TEM tespit edilirken SHV tespit edilemedi.

Hastane kökenli enfeksiyonlarda tespit edilen TEM ve CTX-M tipi GSBL’lerin toplumda görülüyor olması bu durumun ne kadar ciddi olduğunun ve derhal önlem alınması gerektiğinin önemli bir işaretidir. Doğru antibiyotik kullanımı GSBL(+) mikroorganizmalarla oluşan enfeksiyonları azaltmada önem taşımaktadır. Hastaneden topluma taşınan ya da toplumda kazanılan GSBL’lerin, doğru antibiyotik

kullanımı ve enfeksiyon kontrol önlemleri ile yayılımını ve sayısını kısıtlamak mümkün olabilir.

Anahtar Sözcükler: CTX-M , *E.coli*, risk faktörleri, TEM, Toplum kökenli GSBL enfeksiyonları.

SUMMARY

Risk factors and molecular typing of community-acquired urinary tract infections with ESBL (+) *E.coli*

ESBL producing *E.coli* is a well known etiologic agent of nosocomial infections. The incidence of community-acquired ESBL producing *E. coli* infections is increasing. The aim of this study is, to determine the risk factors for urinary tract infections (UTI) caused by ESBL producing *E.coli* and define the molecular types of ESBLs.

Thirty-three patients who have community acquired UTI with ESBL producing *E.coli*, between 1st May 2006 and 1st Jan 2007, included in the study. Control group was consisted of 70 patients who have UTI with non-ESBL producer *E.coli*. Data were collected by the help of a standardized survey form. Strains which were detected as ESBL producer by phenotypic tests, controlled by PCR.

In univariate analysis, female gender ($p=0.01$), previous hospitalization ($p=0.01$), urinary system abnormalities ($p<0.01$), antibiotic consumption in the previous three months ($p<0.01$), ciprofloxacin use ($p=0.04$), aminopenicillin use ($p=0.01$), having diabetes mellitus ($p=0.03$) were found to be significant as risk factors. Any kind of antibiotic consumption in the previous three months (OR, 11.42; CI 95%, 1.97-66.20; $p=0.007$) and female gender (OR, 0.81; CI 95%, 0.007-0.82; $p=0.034$) were found to be significant in logistic regression analysis.

ESBL enzymes detected were 85% CTX-M, and 61% TEM. No SHV enzyme was detected.

Community acquired infections with ESBL producing *E. coli* worth of concern. Judicious use of antibiotics is essential in the control of infections caused by resistant microorganisms. It may be possible to stop the spread of such resistant organisms by appropriate antibiotic consumption policies and infection control measures, both in the community and hospital.

Key Words: CTX-M , *E.coli*, risk factors, TEM, community-acquired infections with ESBL.

KAYNAKLAR

- 1- Gür D. Bakterilerde antibiyotiklere karşı direnç. In: Topçu AW, Söyletir G, Doğanay M, eds. İnfeksiyon Hastalıkları ve Mikrobiyolojisi. İstanbul: Nobel tıp kitabevleri, 2002: 182-192
- 2- Hancock REW. Resistance mechanisms in *Pseudomonas aeruginosa* and other nonfermentative gram negative bacteria. Clin Infect Dis. 1998; 27(suppl 1): 93-99
- 3- Gür D. β -Laktamazlar. Hacettepe Tıp Dergisi 2002; 33: 102-109
- 4- Paterson DL, Bonomo RA. Extended-Spectrum β -Lactamases: a Clinical Update. Clinical Microbiology Reviews 2005; 18: 657-686
- 5- Gür D. Toplumdan kazanılmış infeksiyonlarda beta-laktamazların rolü. Ankem Dergisi 2006; 20: 274-277
- 6- Pfaller MA, Segreti J. Overview of the Epidemiological Profile and Laboratory Detection of Extended-Spectrum β -Lactamases. Clinical Infectious Diseases 2006; 42: 153-63
- 7- Gür D. Beta-Laktamazlar. In: Ulusoy S.(ed) Beta laktamazlar ve klinik önemi. Ankara: Bilimsel Tıp Yayınevi; 2005, 35-44
- 8- Dizbay M. Beta-laktamazlar ve klinik önemi. In: Arman D, Leblebicioğlu H, eds. Hastane infeksiyonu etkeni gram-negatif mikroorganizmalar ve direnç sorunu. Ankara: Bilimsel Tıp Yayınevi; 2004, 49-59
- 9- Chaudhary U, Aggarwal R. Extended spectrum,lactamases (ESBL) – An emerging threat to clinical therapeutics. Indian Journal of Medical Microbiology 2004; 22: 75-80
- 10- Akova M. Genişletilmiş spektrumlu Beta-laktamazlar ve klinik önemi. In:Ulusoy S, Leblebicioğlu H, Arman D, eds. Önemli ve sorunlu gram-negatif bakteri infeksiyonları. Ankara: Bilimsel Tıp Yayınevi; 2004, 85-95)
- 11-Livermore DM. Beta-lactamases in laboratory and clinical resistance. Clin Microbiol Rev. 1995; 8: 557-84
- 12- Gür D. Hastane infeksiyonlarında önem kazanan gram-negatif bakterilerde antibiyotiklere direnç mekanizmaları. Hastane İnfek Derg. 1997; 24: 19-45
- 13- Gülay Z. Antibiyotik duyarlılık testlerinin yorumu. Toraks Dergisi 2002; 3: 75-88

- 14- Sanders CC, Sanders WE Jr. β -lactamases in Gram negative bacteria global trends and clinical impact. *Clinical Infectious Diseases* 1992; 15: 824-829
- 15- Philippon A, Arlet G, Jacoby GA. Plasmid-determined AmpC-type β -lactamases. *Antimicrob Agents Chemother.* 2002; 46: 1-11.
- 16- Turner PJ. Extended-spectrum beta-lactamases. *Clinical Infectious Diseases* 2005; 41(suppl): 273-5
- 17- Giamarellou H. Multidrug resistance in Gram-negative bacteria that produce extended-spectrum β -lactamases (ESBLs). *Clin Microbiol Infect.* 2005; 11: 1-16
- 18-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
- 19- Rodriguez- Baño J, Paterson DL. A change in the epidemiology of infections due to extended-spectrum β -lactamase-producing organisms. *Clinical Infectious Diseases* 2006; 42: 935-7
- 20-Stürenburg E, Mack D. Extended-spectrum β -lactamases: implications for the clinical microbiology laboratory, therapy, and infection control. *Journal of Infection* 2003; 47: 273-295
- 21-Jacoby GA, Medeiros AA. More extended-spectrum β -lactamases. *Antimicrob Agents Chemother.* 1991; 35: 1697-1704).
- 22-Rahal JJ. Extended-spectrum beta-lactamases: how big is the problem? *Clin Microbiol Infect.* 2000; 6 (suppl 2): 2-6
- 23-Gniadkowski M. Evolution and epidemiology of extended-spectrum β -lactamases (ESBLs) and ESBL-producing microorganisms. *Clin Microbiol Infect.* 2001; 7: 597-608
- 24- Gür D, Pitt TL, Hall LMC, Akalin HE, Livermore DM. Diversity of *Klebsiella* with extended-spectrum β -lactamases at a Turkish university hospital. *J Hosp Infect.* 1992; 22: 163-78)
- 25-Weldhagen GF, Poirel L, Nordmann P. Ambler class A extended-spectrum β -lactamases in *Pseudomonas aeruginosa*: Novel developments and clinical impact. *Antimicrob Agents Chemother.* 2003; 47: 2385-92)
- 26-Paterson DL, Hujer KM, Hujer MA, Yeiser B, Bonomo MD, Rice LB, Bonomo RA, and the International *Klebsiella* Study Group. Extended-spectrum beta-lactamases in *Klebsiella pneumoniae* bloodstream isolates from seven countries:

Dominance and widespread prevalence of SHV- and CTX-M-type beta-lactamases. *Antimicrob Agents Chemother.* 2003; 47: 3554-60

27- Taşlı H, Bahar İH. Molecular Characterization of TEM- and SHV-Derived Extended-Spectrum Beta-Lactamases in Hospital-Based Enterobacteriaceae in Turkey. *Jpn. J. Infect. Dis.* 2005; 58: 162-167

28- Durmaz R, Durmaz B, Koroğlu M, Tekerekoglu MS. Detection and typing of extended-spectrum beta-lactamases in clinical isolates of the family Enterobacteriaceae in a medical center in Turkey. *Microb Drug Resist.* 2001; 7: 171-5

29- Brigante G, Luzzaro F, Perilli M, Lombardi G, Coli A, Rossolini GM, Amicosante G, Toniolo A. Evolution of CTX-M-type β -lactamases in isolates of *Escherichia coli* infecting hospital and community patients. *International Journal of Antimicrobial Agents* 2005; 25: 157-162

30-Pitout JDD, Nordmann P, Laupland KB, Poirel L. Emergence of Enterobacteriaceae producing extended-spectrum β -lactamases (ESBLs) in the community. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy* 2005; 56: 52-59

31-Poirel L, Naas T, Le Thomas I, Karim A, Bingen E, Nordmann P. CTX-M-type extended-spectrum-beta-lactamase that hydrolyzes ceftazidime through a single amino acid substitution in the omega loop. *Antimicrob Agents Chemother* 2001; 45: 3355-3561.

32-Bonnet R. Growing group of extended-spectrum-beta-lactamases: the CTX-M enzymes. *Antimicrob Agents Chemother.* 2004; 48: 1-14

33-Lartigue MF, Poirel L, Heritier C, Tolun V, Nordmann P. First description of CTX-M-15 producing *Klebsiella pneumoniae* in Turkey. *J Antimicrob Chemother.* 2003; 52: 315-316

34-Açıkgöz ZC, Gülay Z, Biçmen M, Göçer S, Gamberzade Ş. CTX-M-3 Extended-spectrum β -lactamase in a *Shigella sonnei* clinical isolate: First report from Turkey. *Scand J Infect Dis.* 2003; 35: 503-505

35-Bahar G, Mert A, Catania MR, Koncan R, Benvenuti C, Mazzariol A. A strain of *Salmonella enterica* serovar Virchow isolated in Turkey and Carrying a CTX-M-3 extended-spectrum beta-lactamase. *J Chemother.* 2006; 18: 307-310

36-Aktaş Z, Gönüllü N, Schneider I, Bal Ç, Bauernfeind A. Hastanede yatan bir hastanın idrar örneğinden izole edilen *Escherichia coli* suşunda CTX-M-15 tipi genişlemiş spektrumlu beta-laktamazın tanımlanması. *Mikrobiyol Bült.* 2005; 39: 421-429

- 37-Nordmann P, Ronco E, Naas T, Duport C, Yvon MB, Labia R. Characterization of a novel extended spectrum β -lactamase from *Pseudomonas aeruginosa*. *Antimicrob Agents Chemother*. 1993; 37: 962-9
- 38-Danel F, Hall LMC, Gür D, Akalın HE, Livermore DM. Transferable production of PER-1 β -lactamase in *Pseudomonas aeruginosa*. *J Antimicrob Chemother*.1995; 35: 281-94
- 39-Akyıldız R, Özsoy MF, Alyunay H, Koçak N, Çavuşlu Ş, Yenen OŞ. *Klebsiella pneumoniae* suşlarında genişlemiş spektrumlu beta-laktamaz sıklığı ve beta-laktam antibiyotik direncinin araştırılması. *Klinik Dergisi* 1998; 11:53-58
- 40-Gülay Z. ESBL'lerin tanı yöntemleri.In: Ünal S, Vahaboğlu H, Leblebicioğlu H, Öztürk R, Köksal İ.(eds). Yeni ve yeniden gündeme gelen enfeksiyonlar Genişlemiş spektrumlu beta-laktamazlar. Ankara: Bilimsel Tıp Yayınevi; 2004; 13-26)
- 41- Moland ES, Thomson KS. Extended spectrum β -lactamases of Enterobacteriaceae. *J Antimicrob Chemother* 1994; 33: 666-8.
- 42- Sirot D. Extended-spectrum-plasmid-mediated β -lactamases. *J Antimicrob Chemother* 1995; 36(Suppl A): 19-34
- 43- Tzouvelekis LS, Tzelepi E, Mentis AF, Tsakris A. Identification of a novel plasmid-mediated beta-lactamase with chromosomal cephalosporinase characteristics from *Klebsiella pneumoniae*. *J Antimicrob Chemother* 1993; 31: 645-54
- 44- Karakoç AE. Hastane enfeksiyonu etkeni gram-negatif bakterilerde antibiyotik duyarlılık testleri ve yorumlama kriterleri. In: Arman D, Leblebicioğlu H, eds. Hastane enfeksiyonu etkeni gram-negatif mikroorganizmalar ve direnç sorunu. Ankara: Bilimsel Tıp Yayınevi; 2004, 33-48)
- 45- Clinical and Laboratory Standards Institute. Performance standards for antimicrobial susceptibility testing; Fifteenth informational supplement. CLSI document M100-S15 Pennsylvania: CLSI, 2005.
- 46-Dolapçı İ. Genişlemiş spektrumlu beta laktamazlar: Klinik mikrobiyoloji laboratuvarı, tedavi ve enfeksiyon kontrolündeki rolleri. *Mikrobiyol Bül.* 2005; 39: 229-240
- 47-Ramphal R, Ambrose PG. Xtended-spectrum β -lactamases and clinical outcomes: Current data. *Clinical Infectious Diseases* 2006; 42: 164-72
- 48- Rodriguez- Baño J, Navarro MD, Romero L, Muniain MA, Perea EJ, Perez-Cano R, Hernandez JR, Pascual A. Clinical and molecular epidemiology of extended-spectrum β -lactamase-producing *Escherichia coli* as a cause of nosocomial infection

or colonization: Implications for control. *Clinical Infectious Diseases* 2006; 42: 37-45

49- Valverde A, Coque TM, Sanchez-Moreno MP, Rollan A, Baquero F, Canton R. Dramatic increase in prevalence of fecal carriage of extended-spectrum β -lactamase-producing Enterobacteriaceae during nonoutbreak situations in Spain. *J Clin Microbiol.* 2004; 42: 4769-75

50- Colodner R, Rock W, Chazan B, Keller N, Guy N, Sakran W, Raz R. Risk factors for the development of extended-spectrum beta-lactamase-producing bacteria in nonhospitalized patients. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis.* 2004; 23: 163-167

51- Rodriguez- Baño J, Navarro MD, Romero L, Martinez-Martinez L, Muniain MA, Perea EJ, Perez-Cano R, Pascual A. Epidemiology and clinical features of infections caused by extended-spectrum beta-lactamase-producing *Escherichia coli* in nonhospitalized patients. *Journal of Clinical Microbiology* 2004; 42: 1089-1094

52- Gür D, Gültekin M, Ogunç D, Gülay Z, Yulug N, Sümerkan B, Korten V, Mülazımoğlu L, Günaydın M, Leblebicioğlu H: Comparative in vitro activity of piperacillin-tazobactam against gram-negative nosocomial pathogens. The 21 st International Congress of Chemotherapy, 4-7 July 1999, Birmingham, UK.

53- Garcia-Rodriguez JA, Jones RN, the MYSTIC Study Group. Antimicrobial resistance in gram-negative isolates from European intensive care units: data from the meropenem yearly susceptibility test information collection (MYSTIC) programme. *J Chemother.* 2002; 14: 25-32

54- Kocazeybek BS. Antimicrobial resistance surveillance of gram-negative bacteria isolated from intensive care units of four different hospitals in Turkey. Evaluation of prevalence of extended-spectrum and inducible beta-lactamases using different E-test strips and direct induction methods. *Chemotherapy* 2001; 47: 396-408

55- Leblebicioğlu H, Günaydın M, Esen S, Tuncer I, Fındık D, Ural O, Saltoğlu N, Yaman A, Taşova Y. Surveillance of antimicrobial resistance in gram-negative isolates from intensive care units in Turkey: Analysis of data from the last 5 years. *J Chemother.* 2002; 14: 140-146

56- Gülay Z, Thomson CJ, Yulug N, Amyes SG. High prevalence of extended spectrum beta lactamase production among *Klebsiella pneumoniae* strains isolated at a university hospital in Turkey. *J Chemother.* 2000; 12: 145-152

57- Gülay Z, Yüce A, Yuluğ N. *Klebsiella pneumoniae* ve *E.coli* suşlarında değişik beta-laktamaz inhibitörleri kullanılarak genişlemiş spektrumlu beta-laktamaz üretiminin saptanması. *Ankem Dergisi* 1998; 12: 469

- 58- Mumcuoğlu İ, Gündüz T, Baydur H. *Escherichia*, *Klebsiella* ve *Proteus* suşlarında genişlemiş spektrumlu beta-laktamaz varlığı ve çeşitli antibiyotiklere direnç durumu. *Ankem Dergisi* 2004; 18: 9-11
- 59- Akata F, Tatman-Otkun M, Ozkan E, Tansel O, Otkun M, Tugrul M. Prevalence of extended-spectrum beta-lactamases produced by nosocomial isolates of Enterobacteriaceae in Trakya University Hospital, Turkey. *New Microbiol.* 2003; 26: 257-262.
- 60- Danel F, Hall LMC, Duke B, Gür D, Livermore DM. OXA-14, another extended spectrum variant of OXA-10 (PSE-2) β -lactamase, from *Pseudomonas aeruginosa*. *Antimicrob Agents Chemother.* 1995; 39: 1881-1884
- 61- Gülay Z, Biçmen M, Atay T. Cefotaximase-M type beta-lactamase production in *Escherichia coli* isolated at a university hospital in Turkey. 13th European Congress of Clinical Microbiology and Infectious Diseases. 10-13 May 2003, Glasgow, UK.
- 62- Pfaller MA, Jones RN, Biedenbach DJ. Antimicrobial resistance trends in medical centers using carbapenems: report of 1999 and 2000 results from the MYSTIC program (USA). *Diagn Microbiol Infect Dis* 2001; 41: 177-82
- 63- Aksaray S, Dokuzoğuz B, Güvener E, Yücesoy M, Yulug N, Kocagöz S, Ünal S, Çetin S, Çalangu S, Günaydın M, Leblebicioğlu H, Esen S, Bayar B, Willke A, Fındık D, Tuncer I, Baysal B, Günseren F, Mamıkoğlu L. Surveillance of antimicrobial resistance among Gram negative isolates from intensive care units in eight hospitals in Turkey. *J Antimicrob Chemother* 2000; 45: 695-699
- 64- Rahal JJ. Class restriction of cephalosporin use to control total cephalosporin resistance in nosocomial *klebsiella*. *JAMA* 1998; 280: 1233-7
- 65- Paterson DL. Recommendation for treatment of severe infections caused by Enterobacteriaceae producing extended-spectrum beta-lactamases (ESBLs). *Clin Microbiol Infect.* 2000; 6: 460-3
- 66- Bonnet R, Dutour C, Sampaio JL, Chanal C, Sirot D, Labia R, De Champs C, Sirot J. Novel cefotaximase (CTX-M-16) with increased catalytic efficiency due to substitution Asp-240→Gly. 2001; 45: 2269-2275
- 67- Dutour C, Bonnet R, Marchandin H, Boyer M, Chanal C, Sirot D, Sirot J. CTX-M-1, CTX-M-3, and CTX-M-14 β -lactamases from Enterobacteriaceae isolated in France. 2002; 46: 534-537
- 68- Lautenbach E, Patel JB, Bilker WB, Edelstein PH, Fishman NO. Extended-spectrum beta-lactamase-producing *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae*: risk factors for infection and impact of resistance on outcomes. *Clin Infect Dis.* 2001; 32: 1162-71

- 69- Arslan H, Azap OK, Ergönül O, Timurkaynak F; Urinary Tract Infection Study Group. Risk factors for ciprofloxacin resistance among *Escherichia coli* strains isolated from community-acquired urinary tract infections in Turkey. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy* 2005; 56: 914-918
- 70-Calbo E, Romani V, Xercavins M, Gomez L, Vidal CG, Quintana S, Vila J, Garau J. Risk factors for community-onset urinary tract infections due to *Escherichia coli* harbouring extended-spectrum β -lactamases. 2006; 57: 780-783
- 71- Arpin C, Dubois V, Maugein J, Jullin J, Dutilh B, Brochet JP, Larribet G, Fischer I, Quentin C. Clinical and molecular analysis of extended-spectrum β -lactamase-producing *Enterobacteria* in the community setting. *Journal of Clinical Microbiology* 2005; 43: 5048-5054
- 72- d'Azevedo PA, Gonçalves AL, Musskopf MI, Ramos CG, Dias CA. Laboratory tests in the detection of extended spectrum beta-lactamase production: National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS) screening test, the E-test, the double disk confirmatory test, and cefoxitin susceptibility testing. *Braz J Infect Dis.* 2004; 8: 372-7

EK-1

HASTA BİLGİ FORMU

Adı Soyadı:

Dosya no:

Yaş:

Telefon:

Cinsiyet:

Geldiği Bölge:

Patojen mikroorganizma ve izolasyon tarihi:

Koloni sayısı:

Hastanede yatış öyküsü var mı?(son 3 aydan önce): Var ☐ Yok ☐

Hastanede yattıysa yatış süresi:

Son 3 ay içinde antibiyotik kullanım öyküsü var mı? Var ☐ Yok ☐

Kullanılan antibiyotiğin adı ve süresi:

1.

2.

Altta yatan hastalık var mı? Var ☐ Yok ☐

Kalp Hastalığı ☐

KBB ☐

DM ☐

GIS ☐

Nörolojik Hastalık ☐

Solunum Sistemi ☐

GÜS ☐

İmmunsupresyon ☐

Rekürren İYE ☐

Hematolojik Malignite ☐

Herhangi bir kateter var mı? Var ☐ Yok ☐

Santral venöz kateter ☐

İdrar sondası ☐

Diğer;

Cerrahi girişim hikayesi var mı? Var ☐ Yok ☐

Antibiyotik duyarlılıkları: