T.C.

SELÇUK ÜNİVERSİTESİ

FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

ÜRİNER SİSTEM ENFEKSİYONLARINDAN İZOLE EDİLEN *KLEBSİELLA PNEUMONİAE*'LARIN BAZI ANTİBİYOTİK DUYARLILIKLARI, PLAZMİD PROFİLLERİ VE ESBL ÖZELLİĞİNİN ARAŞTIRILMASI

Mustafa Onur ALADAĞ

DOKTORA TEZİ

BİYOLOJİ ANABİLİM DALI

Konya, 2006

T.C.

SELÇUK ÜNİVERSİTESİ

FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

ÜRİNER SİSTEM ENFEKSİYONLARINDAN İZOLE EDİLEN *KLEBSİELLA PNEUMONİAE*'LARIN BAZI ANTİBİYOTİK DUYARLILIKLARI, PLAZMİD PROFİLLERİ VE ESBL ÖZELLİĞİNİN ARAŞTIRILMASI

Mustafa Onur ALADAĞ

DOKTORA TEZİ
BİYOLOJİ ANABİLİM DALI

Bu Tez 10 / 07 / 2006 Tarihinde Aşağıdaki Jüri Tarafından ……. ile Kabul edilmiştir.

Prof. Dr. Yusuf DURAK	Prof. Dr. Osman ERGANİŞ	Prof. Dr. Ali ATEŞ
(Danışman)	(Üye)	(Üye)

Prof. Dr. Sanver EKMEKÇİ	Yrd. Doç. Dr. Birol ÖZKALP
(Üye)	(Üye)

ÖZET

Doktora Tezi

ÜRİNER SİSTEM ENFEKSİYONLARINDAN İZOLE EDİLEN *KLEBSİELLA PNEUMONİAE'*LARIN BAZI ANTİBİYOTİK DUYARLILIKLARI, PLAZMİD PROFİLLERİ VE ESBL ÖZELLİĞİNİN ARAŞTIRILMASI

Mustafa Onur ALADAĞ

Selçuk Üniveristesi

Fen Bilimleri Enstitüsü

Biyoloji Anabilim Dalı

Danışman: Prof. Dr. Yusuf DURAK

2006, 81 Sayfa

Jüri: Prof. Dr. Yusuf DURAK

Jüri: Prof. Dr. Osman ERGANİŞ

Jüri: Prof. Dr. Ali ATEŞ

Jüri: Prof. Dr. Sanver EKMEKÇİ

Jüri: Yrd. Doç. Dr. Birol ÖZKALP

Klebsiella pneumoniae bakterileri; üriner sistem enfeksiyonları, üst solunum yolu enfeksiyonları ve hastane enfeksiyonlarının önemli bir ajanıdır.

Çalışmamızda; Ocak 2004 – Şubat 2005 tarihleri arasında, Ankara Numune Hastanesi, Ankara Hastanesi, Gazi Hastanesi, Ankara Üniversitesi İbni Sina Tıp Fakültesi Hastanesi ve Konya Numune Hastanesine başvuran üriner sistem enfeksiyon şüpheli hastalardan alınan idrar örneklerinden toplam 125 adet *K. pneumoniae* suşu izole edilmiş ve bazı antibiyotiklere karşı direnç durumları belirlenmiştir. Extended Spectrum Beta Lactamase (ESBL) üreten suş sayıları ile plazmid taşıyan suşların plazmid profilleri araştırılmıştır.

Tüm suşlar; Penicilline % 99.2, Ampicilline % 96 ve Chloramphenicole % 16.8 oranında dirençli bulunmuştur.

Aminoglikozid grubu antibiyotiklerden Amikacine % 8, Streptomycine % 22.4 ve Gentamicine ise % 15.2 oranında dirençli oldukları görülmüştür.

Sefalosporin grubu antibiyotiklerden Cefotaxime ve Ceftazidime % 22.4, Ceftriaxona % 19.2 oranında dirençli oldukları görülmüştür.

Toplam suşların % 36'sının ESBL ürettiği, % 65.6'sının plazmid taşıdığı, bu plazmid büyüklüklerinin 1.6 – 30.1 kb arasında değiştiği ve plazmidlerin sekiz farklı plazmid profili oluşturdukları belirlenmiştir.

Çoklu dirençli ve plazmid taşıyan verici *K. pneumoniae* suşları, alıcı *Salmonella* spp. suşu ile konjugasyona sokulmuş ve 19.3 kb büyüklüğünde plazmid taşıyan 5 adet suşun bu plazmidlerini aktardıkları görülmüştür.

K. pneumoniae suşlarının plazmid büyüklükleri ile antibiyotik dirençlilikleri arasında bir ilişki saptanamamış fakat büyük plazmidlerin küçük plazmidlere oranla ESBL üretiminde daha çok etkili oldukları sonucuna varılmıştır.

Anahtar Kelimeler: *Klebsiella pneumoniae,* plazmid profilleri, antibiyotik dirençliliği, konjugasyon, ESBL

ABSTRACT

Thesis of Doctorate

INVESTIGATION OF SOME ANTIBIOTIC SENSITIVITIES, PLASMİD PROFİLES AND ESBL CHARACTERISTIC OF *KLEBSİELLA PNEUMONİAE* ISOLATED FROM URINARY SYSTEM INFECTIONS

Mustafa Onur ALADAĞ

Selcuk University

Graduate School of Natural and Applied Sciences

Department of Biology

Supervisor: Prof. Dr. Yusuf DURAK

2006, 81 Page

Jury: Prof. Dr. Yusuf DURAK

Jury: Prof. Dr. Osman ERGANİŞ

Jury: Prof. Dr. Ali ATEŞ

Jury: Prof Dr. Sanver EKMEKÇİ

Jury: Yrd. Doç. Dr. Birol ÖZKALP

Klebsiella pneumoniae bacteria are an significant agent of urinary system infections, upper respiratory tract infections and nosocomial infections.

In our study, totally 125 *K. pneumoniae* strains were isolated from the urinary samples provided from suspected patients with urinary system infections applied to Ankara Numune Hospital, Ankara Hospital, Gazi Hospital, İbni Sina Medical School of Ankara University and Konya Numune Hospital from January 2004 to February 2005 and their resistant characteristics were investigated against antibiotics we used.

The number of the strains producing Extended Spectrum Beta Lactamase (ESBL) and plasmid profiles of the strains including plasmids were investigated.

All strains were found to be resistant to penicillin 99.2 %, to ampicillin 96 % and to chloramphenicol 16.8 %.

They were also determined to be resistant to some aminoglycosid group of antibiotics such as amikacin 8 %, streptomycin 22.4 % and gentamicin 15.2 %.

In addition, these strains were seen to be resistant to some antibiotics from cephalosporin group such as cefotaxime and ceftazidime 22.4 %, ceftriaxon 19.2 %.

It was determined that 36 % of all strains producing ESBL, 65.6 % contained plasmids, the size of these plasmids ranges 1.6 to 30.1 kb and these plasmids from eight different plasmid profiles.

Multiple resistant and plasmid-carrying donor *K. pneumoniae* strains were conjugated with recipient *Salmonella* spp. strains and five strains carrying plasmids in size of 19.3 kb were observed to transfer these strains.

No relationship was found between plasmid size of *K. pneumoniae* strains and their antibiotic resistance, but it was concluded that plasmids in larger size are more effective in ESBL production than smaller size plasmids.

Key Words : *Klebsiella pneumoniae*, plasmid profiles, antibiotic resistance, conjugation, ESBL

TEŞEKKÜR

Tez çalışmam sırasında çalışmalarımı büyük bir titizlikle yürüten, bilgi ve deneyimleri ile bana öncülük eden danışmanım Sn. Prof. Dr. Yusuf DURAK'a ve ikinci danışmanım Sn Prof. Dr. Leyla AÇIK'a, çalışmalarımda desteğini esirgemeyen Sn Yrd. Doç. Dr. Hasibe CİNGİLLİ VURAL'a, Sn Yrd. Doç. Dr. Seyit EMİROĞLU'na, Yrd. Doç. Dr. Birol ÖZKALP'a ve Yrd. Doç. Dr. Mustafa KUL'a, laboratuvar çalışmalarımda yardımcı olan Arş. Gör. Fatma ÖZTÜRK'e teşekkürü borç bilirim. Ayrıca desteklerini benden esirgemeyen anneme, babama, eşime ve kızım S. Süeda'ya teşekkür ederim.

Tez çalışmasının gerçekleştirilmesinde en büyük maddi desteği sağlayan S.Ü. Bilimsel Araştırma Projeleri Merkezine teşekkürlerimi sunmayı bir borç olarak kabul etmekteyim.

İÇİNDEKİLER

ÖZET ……. iii
ABSTRACT ……... v
TEŞEKKÜR …….. vii
İÇİNDEKİLER …….. viii
SİMGELER …… x
1. GİRİŞ ……. 1
2. KAYNAK ARAŞTIRMASI …….. 4
3. MATERYAL VE METOT ……. 14
3.1. Materyal ……. 14
3.1.1. Besiyeri ve çözeltiler ……... 14
3.1.2. Tampon ve Çözeltiler …….. 15
3.1.2.1. Plazmid DNA izolasyonu için gerekli çözeltiler …… 15
3.1.2.2. Agaroz jel için gerekli çözeltiler ……... 16
3.2. Metot …….. 16
3.2.1. Bakteri suşlarının izolasyonu ve identifikasyonu …… 16
3.2.2. Antibiyotik duyarlılık testleri …….. 17
3.2.2.1. Bakteri suşlarının hazırlanması ……. 17
3.2.2.2. Besiyerinin hazırlanması ……... 18
3.2.2.3. Petri kutularının hazırlanması ……... 18
3.2.2.4. Kağıt diskler …….. 19
3.2.2.5. Bakteri konsantrasyonlarının düzenlenmesi ve ekimi …….. 20
3.2.2.6. Mac Farland 0.5 nolu tüpün hazırlanması . 20
3.2.2.7. Disklerin yerleştirilmesi …… 20
3.2.2.8. Petri kutularının inkübe edilmesi, inhibisyon zonlarının ölçülmesi ve değerlendirilmesi ……... 21
3.2.3. ESBL deneyi ……... 21

3.2.4. Plazmid DNA'sının izolasyonu ……... 22
3.2.4.1. DNA görüntüleme yöntemi ……... 24
3.2.4.2. Plazmidlerin molekül büyüklüklerinin hesaplanması ……. 24
3.2.5. Konjugasyon deneyi …… 25
4. ARAŞTIRMA SONUÇLARI …… 27
4.1. *Klebsiella pneumoniae* suşlarının kullanılan antibiyotiklere karşı duyarlılık durumları ……..…..... 27
4.2. İstatistiki Sonuçlar …….. 32
4.3. *Klebsiella pneumoniae* suşlarının ESBL varlığı sonuçları ……. 33
4.4. *Klebsiella pneumoniae* suşlarının plazmid profilleri ve genetik benzerliklerinin karşılaştırılması ……..... 35
4.5. Konjugasyon deneyi sonuçları ……..… 50
5. TARTIŞMA ……... 54
6. SONUÇ VE ÖNERİLER ……... 63
7. KAYNAKLAR ……... 66

SİMGELER

β	Beta
bp	Base pair (Baz çifti)
kb	Kilobaz

Kısaltmalar

AK	Amikacin
AM	Ampicillin
C	Chloramphenicol
CAZ	Ceftazidim
CIP	Ciprofloxacin
CN	Gentamicin
CRO	Ceftriaxon
CTX	Cefotaxim
ÇDST	Çift Disk Sinerji Testi
EDTA	Etilen Diamin Tetra Asetik Asit
EMB	Eozin Metilen Blue
ESBL	Extended Spectrum Beta Lactamase (Geniş Spektrumlu Beta Laktamaz)
İMVİC	İndol, Metil Red, Voges Proskauer, Citrat Testi
LB	Luria Bertaini
M	Marker
MYTIC	Meropenem Yearly Susceptibility Test Information Collection
NCCLS	National Committee of Clinical Laboratory Standarts
P	Penicillin
PBP	Penisilin Bağlayıcı Proteinler
PEG	Polietilen Glikol
S	Streptomycin
SCF	Sulbactam/cefoperazon
SDS	Sodyum Dodesil Sülfat
TAE	Tris Asetat

TE	Tris EDTA
TRC	Transkonjugant
TSI	Triple Sugar Iron

1. GİRİŞ

Klebsiella cinsi bakteriler, hareketsiz, sporsuz, genellikle kapsüllü, gram negatif ve *Enterobacteriaceae* familyasının genel özeliklerini gösteren çomakçıklardır (Bilgehan 2000).

Klebsiella pneumoniae, insan sağlığı açısından çok önemli olan nazokomiyal enfeksiyonlar, üst solunum yolu enfeksiyonları, üriner sistem enfeksiyonları ve yara enfeksiyonları oluşmasında rol alan fırsatçı gram negatif patojenlerdir (Shen ve ark.2001, Rasool ve ark. 2003). *K. pneumoniae* insan kalın barsağında ve % 5-10 oranında da üst solunum yolları mikroflorasında bulunmaktadır. *Klebsiella* cinsi bakteriler bakteriyemilerin % 2'sinde, pnömonilerin %12'sinde ve cerrahi yaraların % 3'ünde etken olarak bulunmaktadır (Akova ve ark. 1992). İdrar yolu enfeksiyonlarında ikinci sıklıkta görülür (Khamaneh 2001).

Hastane ortamlarından izole edilen suşların dirençlilik düzeyi çok yüksek olmasına karşın, üst solunum yollarından elde edilenlerde ise oldukça düşüktür (Bilgehan 2000). Yenidoğanlarda, çocuklarda ve yetişkinlerde yüksek oranda mortaliteli menenjite'de neden olmaktadır (Zarnayova ve ark. 2005, Khamaneh 2001). Nazokomiyal enfeksiyon (hastane enfeksiyonu) hastaneye yatış sırasında olmayan veya kuluçka süresi içinde bulunmayan, hastanede kalma süresi içinde başlayan enfeksiyon olarak tanımlanır (Aktan 1989, Barros ve ark. 1999).

Klebsiella pneumoniae; nazokomiyal enfeksiyon oluşturan etkenler arasında *Esherichia coli*'den sonra ikinci sıradadır ve nazokomiyal enfeksiyonların % 3-17'sinden sorumludur (Duggan ve ark. 1985, Gikas ve ark. 1998). Üriner sistem enfeksiyonları, % 40 görülme sıklığı ile en sık görülen nazokomiyal enfeksiyonlardır (Köksal 2000). *K. pneumoniae* türü bakteriler yenidoğan yoğun bakım birimlerinde en çok salgın yapan bakterilerdir (Baran ve ark. 1994).

Antibiyotiklerin yaygın kullanımı, hastane enfeksiyonlarına neden olan çoklu dirençli suşların artmasında çok etkilidir (Sahly ve ark. 2004). Yapılan çalışmalarda; hastaların hastaneye yattıktan sonraki birkaç saat içinde, özellikle boğaz ve barsak

floralarında değişikliklerin başladığı ve hastaların hastane ortamındaki mikroorganizmalarla bulaştığı gösterilmiştir. Yatarak tedavi gören hastaların yaklaşık yarısı antimikrobiyal tedavi almaktadır (Akın 1997). Nazokomiyal enfeksiyonları oluşturan mikroorganizmaların kaynağı diğer hastalar, hastane ortamı, sağlık çalışanları ve kendi florasıdır (Nester ve ark. 2004). *K. pneumoniae'*nın nazokomiyal enfeksiyonlarda kolonizasyon oranının yüksek olması, hastanede tedavi görmekten ziyade, antibiyotik tedavisi ile yakından ilişkilidir (Podschun ve Ullmann 1998). A.B.D. ve Avrupa'da nazokomiyal enfeksiyonların % 8'inden *K. pneumoniae'*nın sorumlu olduğu bildirilmiştir. Bu oran gittikçe de artmaktadır (Martinez ve ark. 2004).

Son yıllarda antibiyotiklere karşı giderek artan direnç sorunu dünyayı tehdit eder hale gelmiştir (Akçam ve ark. 2004). Günümüzde antibiyotiklerin yaygın kullanımı, dirençten sorumlu plazmidlerin bakteriler arasında yayılmasına neden olmuştur. Plazmidler bakterilerin yaşaması için gerekli değildir fakat taşıdıkları genler sayesinde bakterilerin uygun olmayan koşullarda yaşamasını kolaylaştırırlar (Khamaneh 2001). Plazmidler, bakterilerde antibiyotik uygulamasından önce de var olan, kromozom dışında, kromozomdan bağımsız olarak replike olabilen içinde bulundukları bakterilere bazı özellikler kazandıran ve bu özellikleri genetik kontrol altında tutabilen DNA parçacıklarıdır. Plazmidler birkaç yüz genden oluşabilen büyüklüktedirler. Bütün plazmidlerin ortak özelliği replikon olmalarıdır (Nester ve ark. 2004). Plazmid genleri, genellikle ilaçları parçalayan enzimlerin üretilmesinden sorumludurlar (Akın 1997). *Klebsiella pneumoniae*'nın çoklu direnç geni taşıyan plazmidleri bulundurmaları, bu bakterilerin birçok antibiyotiğe karşı direnç kazanmalarına neden olmuştur. Bu nedenle de önemli hastane patojenidirler (Gold 1994).

Penicillinin kliniklerde kullanılmaya başlamasıyla bakteriyemilerden ölüm oranı hayli azalmıştır. Birkaç yıl sonra gelişen penicillin direnci nedeniyle 1960'lı yıllarda penicillinaza dirençli penicillinler geliştirilmiş ve enfeksiyonlarda azalma gözlenmiştir (Marei 1998). Fakat ilerleyen zamanlarda bu ilaçlara da direnç gelişmeye başlamış ve tüm dünyada hızla yayılarak özellikle hastane ortamında sağaltımın sorun olmaya başladığı belirtilmiştir (Archibald ve ark. 1997).

Klebsiella spp. aminoglikozidlere doğal olarak duyarlıdırlar. 1970 ve 1980'li yıllarda *K. pneumoniae* suşlarına aktarılabilen ve plazmidler tarafından kodlanan aminoglikozid direncinin varlığı gözlenmiştir (Casewell ve Philips 1981). Bu mikroorganizmalar aynı yıllarda gram negatif enfeksiyonların tedavisi için kullanılan gentamicin, ampicillin ve I. kuşak sefalosporinlere dirençli idi (Markowitz ve ark. 1980). Son yıllarda çoklu dirençli *K. pneumoniae* suşlarının bir ve daha fazla aminoglikozidlere karşı ürettikleri ESBL (Extended Spectrum Beta Lactamase: Geniş Spektrumlu Beta Laktamaz) ile en yeni kuşak sefalosporinlere dirençli oldukları gözlendi . Aminoglikozid ve sefalosporinlere karşı direnci kodlayan genleri aktarılabilen aynı plazmidi taşıdığı ortaya çıkmıştır (Macrae ve ark. 2001).

Beta laktam antibiyotiklerini hidrolize eden ve inaktif hale getiren beta laktamaz üretimi Enterobacteriaceae üyeleri ve diğer bakteriler için önemli direnç mekanizması olmuştur. Yapılan araştırmalarda sayıları 350'ye ulaşan beta laktamaz enzimlerinden 150 tanesinin ESBL olup plazmidlerce kodlandıkları ve çeşitli yollarla da bakteriler arasında aktarımlarının yapılabildiği saptanmıştır (Akçam ve ark. 2004, Fierer ve Guinery 1999).

ESBL üreten mikroorganizmalar, 1980'lerin ortalarından bu yana yaygın bir sorun olmaya başlamıştır. Gram-negatif bakterilerde ESBL üretiminin çok yaygın olduğu ve bununla birlikte *K. pneumoniae* suşlarının da yüksek oranda ESBL üreticisi olduğu bildirilmiştir (Bradford 2001, Sanders ve Sanders 1992). Gram negatif bakteriler arasında, bakteriyel direnç mekanizmalarından birisi β laktamaz enzimi üretmeleridir (Freitas ve ark. 2003). Geniş spektrumlu beta laktamaz enziminin bakteriler tarafından üretilmesini sağlayan şey çoklu direnç geni taşıyan plazmidlerdir (Podschun ve Ullmann 1998).

Bu çalışmanın başlıca amacı, idrar yolu enfeksiyonlarına neden olan *K. pneumoniae* suşlarının bazı antibiyotiklere dirençliliğini, ESBL oranlarını ve plazmid büyüklüklerini belirlemek, plazmid büyüklüğü ile suşların antibiyotik dirençliliği ve ESBL üretimi arasındaki ilişkiyi tespit etmektir.

2. KAYNAK ARAŞTIRMASI

Enterobacteriaceae üyesi *Klebsiella pneumoniae* bakterileri ilk kez 1885 yılında Ehrlish tarafından dışkıdan izole edilmişlerdir. Gram negatif, kapsüllü, hareketsiz, fakültatif anaerop basillerdir. Bakteriyel pnömonilerin yaklaşık % 2'sini oluştururlar. Üst solunum yolu ve dışkı florasında bulunabilen *K. pneumoniae* bakterileri, bulundukları yerde uygun koşulların oluşması veya yerlerini değiştirerek diğer organ ve sistemlere yerleşmeleri halinde birçok hastalıklara neden olurlar (Khamaneh 2001, Krieg ve Holt 1984).

Son yıllarda, özellikle hastane ortamlarında kemöterapötiklere direnç kazanmış olan suşların yaptığı hastane enfeksiyonları yüzünden bu bakterinin önemi artmıştır. *K. pneumoniae* idrar yolu enfeksiyonları ile hastane ortamında artış göstermektedirler. Piyelit, piyelonefrit ve sistit şeklinde ortaya çıkan bu tip enfeksiyonlar, antibiyotiklerle yapılan tedavilerde oldukça dirençli oldukları görülmüştür (Bilgehan 2000, Akan 1993). *K. pneumoniae*, idrar yolu enfeksiyonlarına yaygın olarak neden olan bakteriler sıralamasında *Escherichia coli*'den sonra ikinci sıradadır (Pais ve ark. 2002, Shehabi ve ark. 2000). Smith ve ark. (1982) yaptıkları *Klebsiella* spp. çalışmasında üriner sistemden elde edilen *Klebsiella*'ların % 40'ının antibiyotiklere dirençli olduğunu belirlemişlerdir.

1986-2003 yılları arasında nazokomiyal enfeksiyonları izleme komitesinden alınan verilere göre, yoğun bakım ünitelerinden elde edilen gram negatif basillerin oluşturdukları hastane enfeksiyonları septisemi, üriner sistem enfeksiyonları ve pnömonidir (Gaynes ve Edwards 2005).

β-laktam antibiyotikler, yapılarında bulunan 4 atomlu bir β-laktam halkası nedeniyle bu adı almışlardır. β-laktam halkasına bağlı değişik kimyasal halka ve yan zincirlerle farklı kimyasal ve antibakteriyel özelliklere sahip moleküller ortaya çıkmaktadır. Günümüzde β-laktam antibiyotikler 4 farklı antibiyotik grubuna sahiptir. Bunlar penicillin'ler, sefalosporinler (I. Kuşak, II. Kuşak, III. Kuşak ve IV Kuşak) , mono-baktamlar ve karbapenemler'dir (Türkmen, 1998).

Tedavide kullanılan cefotaxim ve ceftazidim gibi geniş spektrumlu sefalosporinler, bakteriler tarafından sentezlenen ESBL enzimleri tarafından hidrolize edildiği ve ESBL enzimlerinin sefamisin ve carbanepenem'e karşı etkili olduğu belirtilmiştir (Philippon ve ark. 1989).

ESBL üreten *Klebsiella pneumoniae*'nin yayılmasının kateter kullanımı, trekostomi, endotrakeal tüp, nazogastrik tüp, merkezi venöz katater gibi tıbbi uygulamalar ile ilişkisinin yüksek olduğu ileri sürülmüştür (Lin ve ark. 2003).

Beta-laktamaz enzimlerinin yapıları bakterilerin bazı yaşamsal öneme sahip enzimlerinin benzeridir. Beta laktamların en önemli özelliği mevcut antibiyotiklere karşı direnç oluşturmadan çok, mutasyonel değişiklikler ile yeni bir beta-laktam grubu antibiyotiğe karşı da direnç geliştirebilmeleridir. ESBL enzimleri, beta-laktam grubu antibiyotiklere ve özellikle ceftazidim ve cefotaxim gibi oksimino beta-laktamlara ve aztreonam gibi mono-baktamlara direnç oluştururlar (Jacoby ve Han 1996, Jacoby ve Medeiros 1991). Bu enzimleri kodlayan genlerin büyük bir çoğunluğu R-plazmidleri aracılığıyla taşınır. Jel elektroforez deneylerinde tespit edildiği gibi ESBL genlerini taşıyan plazmidlerin boyutları 80-300 kb (kilobaz) arasında değişmektedir. ESBL genlerini taşıyan ($\geq$ 80 kb) plazmidlerin çoklu dirençten sorumlu ve büyük oldukları görülmüştür (Yuan ve ark. 2000).

ESBL'yi oluşturan direnç genlerinin konjugasyonla aktarılabildiği ve büyük plazmidler tarafından taşındığı bildirilmektedir. Kromozomal DNA üzerinde taşınan ESBL gen sayıları oldukça azdır (Preston ve ark. 1997). ESBL'den sorumlu plazmidler TEM ve SHV gibi genler ile aminoglikozid ve birçok antibiyotiğe karşı direnç oluşturan genlere rastlanmaktadır. Bu plazmidler, konjugatif genler taşıdıkları için toplumda ve hastane ortamında kolaylıkla yayılırlar (Khamaneh 2001). Aminoglikozidlere karşı direncin kazanılmasında en önemli mekanizma, plazmid kontrolünde sentezlenen enzimler ile bu antibiyotiklerin yapısında oluşturulan değişikliklerdir (Karatay 1994).

Tüm beta-laktam antibiyotikler, bakterilerin sitoplazmik zarları üzerindeki Penisilin Bağlayıcı Proteinlere (PBP) bağlanarak, peptidoglikan sentezinin inhibisyonuna ve hücre duvarı yapısının bozulmasına neden olmaktadırlar. Bakteriler de beta-laktamaz enzimleri sentezleyerek antibiyotiklerin beta-laktam halkalarını parçalar ve PBP'nin yapısında değişiklik yaparak antibiyotiklerin bağlanmasını

önlemektedirler. Gram-negatif bakterilerde ise bunlara ek olarak dış çeperlerinde bulunan açıklıkları daraltarak veya sayılarını azaltarak direnç geliştirirler (Akyıldız ve ark. 1998).

ESBL enzimleri TEM (TEM-3, TEM-28, TEM-42, TEM-43, TEM-46 ve TEM-91) veya SHV (SHV-1, SHV-2, SHV-12 ve SHV-13) beta laktamaz genlerinden nokta mutasyonu ile meydana gelmektedirler. Bu mutasyonlar sonucu orijinal enzimin aktif bölgesinde aminoasit dizilimi değişir. Bu değişimler enzimin oksimino-sefalosporinler (cefotaxim, ceftazidim, ceftriaxon v.b.) ve mono-baktam grubu antibiyotiklere (aztreonam) afinitesini yükseltmektedir. Böylece sayıları her yıl daha da artan bu enzim türleri ampicillin ve birinci kuşak sefalosporinlerin yanısıra ceftazidim, cefotaxim, ceftriaxon ve diğer yeni sefalosporinlere de direnç sağlamaktadırlar. Bu enzimlerin bir çoğu ceftazidim ve aztreonamı, cefotaxime oranla daha yüksek oranda hidrolize ederler ancak enzimin 283. aminoasit pozisyonunda glisin yerine serinin yerleşmesi bu enzimin cefotaxime karşı da aktivitesini yükseltmektedir (Chanal ve ark. 1988, Jacoby 1997, Khamaneh 2001, Kurokawa ve ark. 2003, Tzelepi ve ark. 2003, Pieboji ve ark. 2005). Plazmid ya da kromozom tarafından kodlanan SHV-1 β-laktamaz genellikle *K. pneumoniae*'nin ampicillin ve amoksasiline direncinden sorumludur (French ve ark. 1996, Yuan ve ark. 2000).

Nokta mutasyonlar sonucu oluşan TEM ve SHV tipi ESBL enzimlerinin dışında plazmid kaynaklı yeni bir ESBL enzim tipi olan CTX-M β-laktamaz enzimi tanımlanmıştır. CTX-M enziminin 30'dan fazla tipi olduğu tespit edilmiştir. Bu enzimler cefotaxim ve ceftazidime karşı oldukça aktiftir (Du Bois ve ark. 1995, Xiong ve ark. 2004, Boyd ve ark. 2004). ESBL enziminin yukarıda belirtilen tipleri dışında SFO, VEB ve GES tipleri de ortaya konmuştur (Matsumoto ve Inoue 1999, Girlich ve ark. 2001). GES tipi beta laktamazlar arasında GES-1'in Fransa'da 1998 yılında *K. pneumoniae* tarafından üretildiği saptanmıştır (Wachino ve ark. 2004). Japonya'da 24 adet Toho-1 tipi ESBL enzimi rapor edilmiştir (Yagi ve ark. 2000).

Çoklu dirençli *K. pneumoniae* suşlarında birkaç tane plazmid bulunduğu ve bu plazmidlerden birisi olan pJHCMW1'ın amikacin, kanamisin, tobramisin ve ampicilline direnç özelliği taşıdığı bildirilmiştir (Tolmasky ve ark. 1986).

Plazmidlere bağlı ESBL direnci, ayrıca aminoglikozidler, tetracyclin, chloramphenicol ve trimetoprim-sulfametaxazol gibi β-laktam dışında, farklı sınıflardan antibiyotiklere karşı da dirençten sorumlu olduğu belirtilmiştir (Bal 2002). Hibridizasyon deneyi ile ESBL'lerin TEM-1, TEM-2 ve SHV-1 beta-laktamaz genlerinde meydana gelen basit nokta mutasyonları sonucunda ortaya çıktığı, TEM-1 ve TEM-2'nin enterik bakterilerin farklı gruplarına ait plazmidler tarafından taşındığı ve transpozonlarla yer değiştirdiği saptanmıştır (Matthew ve ark. 1976, Hedges ve Jacob 1974).

RAPD-PCR ile karakterize edilen *Klebsiella pneumoniae*'larda yaklaşık 160 kb büyüklüğünde konjuge edilebilen plazmidler üzerinde kodlanmış aminoglikozidleri modifiye edebilen ve geniş spektrumlu β-laktamaz SHV-5 ve TEM-5 tipi enzimler elde edilmiş ve TEM-5 ile SHV-5 üreten bakterilerin direnç mekanizmalarının RAPD tiplendirmelerinin farklı olduğu gözlenmiştir (Shannon ve ark. 1998)

Geniş spektrumlu beta-laktamazlara ilk kez 1983 yılında Almanya'da rastlanmıştır. ancak 1985-1987 yılları arasında Fransa'da TEM-3 enzimi üreten *Klebsiella pneumoniae* suşlarının yayılması ile bu suşlar önem kazanmıştır. 1985 yılında Paris'in 20 hastanesinden izole edilen hastane kaynaklı *K. pneumoniae* suşlarının % 1'inin ESBL ürettiği belirlenmiş, bu oran 1997 yılında %14-16 olarak saptanmıştır (Quinn 1994).

1980'lerin sonunda Amerika'da ESBL'li *K. pneumoniae* suşları ile oluşan hastane kaynaklı epidemiler gözlenmiştir. yapılan çalışmalara göre yoğun bakım ünitelerinde yatan hastalardan izole edilen ceftazidime dirençli *Klebsiella* suşlarının izolasyon sıklığı Fransa'da % 13, Londra'da % 15, Chicago'da % 20, Bangkok'ta % 50, Bangladeş'de % 39.5 oranında saptanırken, İskandinav ülkelerinde bu suşlara nadiren rastlanmıştır (Quinn 1994, Rahman ve ark. 2004).

ESBL yaklaşık 20 yıl önce Avrupa'da ilk tespit edildikten sonra yavaş yavaş gelişmiştir. MYTIC (Meropenem Yearly Susceptibility Test Information Collection) program raporlarında ESBL fenotip oranları *Klebsiella* cinsinde % 32.8 ve *E. coli*'de % 14.4 olarak görülmüştür. En yüksek ESBL oranları Doğu Avrupa'da bulunmuştur. Karbapenemlerin ESBL üreten suşlara karşı aktiviteleri kalıcı iken aminoglikozidler,

floroquinolonlar ve piperacillin-tazobactam gibi diğer ajanların etkilerinin önemli ölçüde azaldığı bildirilmiştir (Jones ve Pfaller 2003, Bush ve Jacoby 1997).

Doğu Avrupa, Latin Amerika ve bazı ülkelerde *K. pneumoniae* tarafından ESBL üretimi % 50'lere yaklaştığı, 7 ülkede 12 hastaneden elde edilen *K. pneumoniae*'lerin % 18.7'sinde ESBL varlığının tespit edildiği, ESBL üreten *Klebsiella pneumoniae* suşlarının çoklu direnç mekanizmalarının geliştiği ve bunun da tedavide büyük sorunlar oluşturduğu belirtilmiş fakat karbapenemler (özellikle imipenem)'in vitro koşullarda ESBL üreten *K. pneumoniae* bakterileri üzerinde diğer antibiyotiklerden daha etkili olduğu ortaya konmuştur (Paterson ve ark. 2003).

Hollanda'da 11 hastanede yapılan araştırmada ESBL üreten *K. pneumoniae* ve *E. coli* suş sayılarının % 1'den daha az olduğu gözlenmiştir (Tassios ve ark. 1999). ESBL üreten *K. pneumoniae* suş oranının Fransa'da % 11.4 olduğu tespit edilmiştir (Albertini ve ark. 2002).

Ülkemizde geniş spektrumlu beta laktamazlar'ın *Klebsiella* türleri arasında % 60, *Pseudomonas aeruginosa*'da % 10 ve *Acinetobacter* türleri arasında % 50 olarak görülmüştür (Vahaboğlu ve ark. 1997, Vahaboğlu 1998, Rice ve Bonomo 2000)

Tankhiwale ve ark. (2004), yaptıkları çalışmada üriner sistem enfeksiyonlu hastalardan izole edilen 217 gram negatif bakteri suşunun 87'sinin cefotaxime karşı dirençli olduğunu belirtmiş ve bunların % 48.3'ünde de ESBL varlığı bildirilmiştir. Simpson ve ark. (1980) çalışmalarında üriner sistemden izole edilen *K. pneumoniae* suşlarının % 30.3'ünün ampicilline dirençli ve bunların da % 74.5 'de ESBL varlığı tespit etmişlerdir.

Üriner sistemden elde edilen 58 adet *K. pneumoniae* suşunun antibiyotik duyarlılıkları NCCLS (National Committee of Clinical Laboratory Standarts) doğrulama testi ile ESBL varlığı ise ÇDST (Çift Disk Sinerji Testi) ile araştırılmıştır. Suşların % 40'ında ESBL varlığı tespit edilmiştir. ESBL üreten *K. pneumoniae* suşlarının % 12'sinin ceftazidim ve cefotaxime dirençli olduğu gözlenmiştir (Babypadmini ve Appalaraju 2004).

3. ve 4. kuşak sefalosporinlere, sefamisinlere ve aminoglikozidlere yüksek oranda dirençli *Klebsiella pneumoniae* suşları idrardan izole edilmiştir. Bunların ESBL özellikleri izoelektrik fokuslama ile belirlendikten sonra *E. coli* suşları ile konjugasyona sokulmuş ve *E coli* den elde edilen ESBL lerin izoelektrik fokuslaması

da aynı izoelektrik noktayı gösterdiği görülmüştür. Bu ESBL'nin de 3. ve 4. kuşak sefalosporinlerden, monobactamlardan ve diğer antibiyotiklerden sorumlu oldukları kanısına varılmıştır (Laksai ve ark. 2000).

ESBL'ler üçüncü kuşak sefalosporinleri ve aztreonamı hidrolize eder ve beta-laktam antibiyotiklerle tedaviyi güçleştirirler. ESBL'ler genellikle beta-laktamaz inhibitörleri ile hidrolize edilebilirler ve bu enzimler karbapenemlere (imipenem, meropenem), sefamisinlere (cefoxitin, moksalaktam) ve temocilline etkili değildir (Hoşgör ve ark. 1998).

Knothe ve ark. (1983), Almanya'da yaptıkları çalışmada; *K. pneumoniae* ve *Serratia marcescens*'ın klinik izolatları arasında direncin aktarıldığını göstermiş ve bu direncin ESBL'ye bağlı olduğunu açıklamışlardır.

Yücel ve ark. (2003), yenidoğan yoğun bakım ünitesindeki hastalardan izole ettikleri 53 adet *Klebsiella pneumoniae* suşunun hepsinde çift disk sinerji testi ve E-test yöntemi ile yaptıkları ESBL varlığını incelemeleri sonucunda izolatların tümünün ESBL ürettiklerini bildirmişlerdir. Ayrıca suşların % 86,8'inin gentamicin, tobramisin, metisilin ve amikacine aynı anda dirençli oldukları sonucuna varmışlardır (Vrabelova ve ark 2004).

Klebsiella, E. coli ve *Proteus* suşlarının ESBL üretimi ÇDST yöntemi ile saptanmış ve *Klebsiella* suşlarının ESBL üretimi % 35, *E. coli*'nin ESBL üretimi % 7.2 olarak tespit edilirken *Proteus* suşları ESBL üretmemiştir. E-test yöntemi ile yapılan çalışmada ise *Klebsiella* suşlarının ESBL üretimi % 37.5 iken *E. coli*' suşlarının üretimi % 7.2 olarak ortaya konmuştur (Akçam ve ark. 2004). Aynı yöntemler kullanılarak yapılan başka bir çalışmada ise *E. coli* suşlarının ESBL üretiminin % 36.2 olduğu ve *K. pneumoniae* suşlarının ESBL üretiminin de % 54.5 olduğu gözlenmiştir (Kızırgil ve ark. 2004).

Çeşitli klinik materyallerden izole edilen ve API ile identifiye edilen ESBL (+) 60 adet *Klebsiella pneumoniae*'nin 59'unun (% 98.3) çift disk sinerji testi yöntemi ile, 58'inin (% 96,6) hızlı duyarlılık testi (DSM:Dio-sensimedia) ile ESBL ürettikleri tespit edilmiştir (Çağatay ve ark. 2003).

Yoğun bakım ünitesinde yatan hastalardan izole edilen *Klebsiella* spp.'lerin gentamicine % 71.9, aztreonama % 65.6, amikacine % 59.4, ceftazidime % 56.2, chloramphenicole % 59.4 ve ciprofloxacine de % 4 dirençli bulunmuştur (Küçükateş

ve Kocazeybek 2002). Nazokomiyal solunum sistemi enfeksiyonlu hastalardan elde edilen *Klebsiella* spp. izolatlarında ise aynı antibiyotiklere karşı dirençlilikleri şu şekilde görülmüştür. Gentamicine % 17.9, aztreonama % 57.1, amikacine % 7.1, ceftazidime % 28.6 ve ciprofloxacine % 7.1 dirençlidirler (Gönlügür ve ark. 2004).

Kandan izole edilen ve ESBL üreten *K. pneumoniae* suşlarının mikrodilüsyon yöntemi ile belirlenen antibiyotiklere dirençlilikleri; ciprofloxacin için % 71.4 ve amikacin için ise % 16.7 olarak belirlenirken ESBL üretmeyen *K. pneumoniae* suşları için bu oranlar ciprofloxacin için % 6.7 olarak görülmüştür (Kızırgil ve ark. 2004).

Taşlı ve Bahar (2005), çalışmalarında *Enterobacteriaceae* üyesi ESBL üreten bakterilerin TEM ve SHV türevli ESBL enzim tipini tespit etmek için transfer deneyleri, izoelektrik fokuslama, PCR, PCR restriksiyon fragment polimorfizm ve DNA sekanslama işlemlerini yapmışlardır. PCR sonuçlarına göre alıcı suşların % 52.7'si TEM, %.74.3'ü SHV, % 32.4'ü hem TEM hem de SHV genleri taşıdığını belirlemişlerdir. PCR/*NheI* restriksiyon analizi ile transkonjugantlarda tespit edilen 46 ESBL nin 45 inin SHV türevli olduğunu gözlemişlerdir. Ayrıca yaptıkları DNA sekanslama analizinde SHV-2, SHV-5 ve SHV-12 türevli enzimlere rastlanmış ve bunların Türkiye'de tanımlanan ilk SHV-12 türevli ESBL olduğunu tespit etmişlerdir.

Kolombiya'nın Bogota Medellin ve Cali şehirlerindeki 8 hastanenin yoğun bakım ünitelerinden izole edilen 1074 adet *E. coli* ve 394 adet *K. pneumoniae* suşlarının ESBL üretip üretmedikleri ve bu ESBL'lerin tiplendirilmesi yapılmıştır. *K. pneumoniae* suşlarının % 32.6'sı, *E. coli* suşlarının % 11.8'inin ESBL ürettikleri görülmüştür. Bu ESBL'lerin SHV, TEM ve CTX-M tipinde β-laktamazlar olduğu tespit edilmiştir (Villegas ve ark. 2004).

Kore'deki Dankook ve Seul Üniversite Hastanelerinden izole edilen 90 adet *K. pneumoniae* suşları ile yapılan çalışmada SHV-12 ve SHV-2a tipi ESBL'lerin çok yaygın olduğu rapor edilirken, CMY-1 plazmid tarafından kodlanan bir AmpC enzimi olduğu ortaya konmuştur. Tespit edilen bu her üç tip enzim de *K. pneumoniae* suşlarında oldukça yaygın bulunmuştur. Bunun dışında yine aynı ülkede *E. coli* ve *K. pneumoniae*'den izole edilen TEM tipi ESBL'lerin TEM-52 olduğu gözlenmiştir. (Kim ve ark. 1998, Pai ve ark. 1999).

Kim ve ark. (2005), klinik materyallerden izole ve identifiye ettikleri 443 *E. coli* ve *K. pneumoniae* suşlarının 63 tanesinde ESBL varlığını tespit etmişlerdir. Bu enzimlerin plazmidik AmpC β-laktamaz olduğunu PCR ve sekanslama ile, ESBL üretimini de ÇDST yöntemi ile gerçekleştirmişlerdir. Plazmidik AmpC β-laktamaz enzimlerinin dört tanesinin ACT-1, CMY-1, CMY-2 ve DHA-1 olarak belirlemişlerdir. ESBL üreten izolatların ESBL üretmeyenlere göre tetracyclin, sulfametaxazol, streptomycin, kanamicin, gentamicin ve tobramycin'e daha dirençli oldukları tespit edilmiştir.

Karatay (1994), yatan hastalardan izole edilen 80 *Klebsiella* spp. suşlarının % 54'ünün gentamicine, %51'inin tobramycin'e % 46'sının netilmicin'e, % 65'inin kanamicin'e dirençli olduğunu; suşların % 69'unun plazmid taşıdığını aminoglikozidleri etkisiz kılan enzimlerin plazmidlerin kontrolünde sentezlendiğini ve konjugasyon yoluyla diğer duyarlı bakterilere aktarılabildiğini ileri sürmüştür.

Geniş spektrumlu sefalosporinler ve aztreonama dirençli 12 adet *K. pneumoniae* suşunun ESBL aktivitesi araştırılmıştır. Bu suşların gentamicin, kanamicin, tetracyclin ve chloramphenicole dirençli, tobramicin, amikacin, imipenem ve cefoxitine ise duyarlı bulunmuştur.. Bütün suşların ortalama 87 kb büyüklüğünde plazmid taşıdıkları tespit edilmiştir. *E. coli* ile konjugasyon sonucunda ve akridin orange (akridin boyaları plazmidlerin giderilmesi için kullanılmaktadır) ile muamele edilerek plazmidin aktarılması sonucu beta laktamlara, aminoglikozidlere, tetrasikline ve chloramphenicole karşı direncin kaybolduğu görülmüştür. Alıcı bakterilerin plazmid profillerinin verici olan *K. pneumoniae* ile aynı olduğu belirlenmiştir. Alıcıların ekstraktının izolelektrik fokuslama ile analizi sonucunda pI 5,4 ve 8,2 olan iki tane beta laktamaz gözlenmiştir. Alıcıların biri tarafından taşınan bir plazmidin hibridizasyonla analizi sonucunda bla_{SHV} ve bla_{TEM} genlerinin varlığı gösterilmiştir. Sekanslama ve klonlama metodu ile bla_{SHV} ve bla_{TEM} genlerinin ESBL aktivitesinden sorumlu olduğu tespit edilmiş ve ESBL'nin de SHV tipinde, transfer edilebilen bir enzim olduğu kanısına varılmıştır (Araque ve ark. 2000).

Shehabi ve ark. (2000) E testini kullanarak *E. coli*, *Enterobacter* ve *Klebsiella* spp. suşlarında ESBL varlığını araştırmışlardır. Tüm suşlar imipenem'e duyarlı fakat ciprofloxacin ve amikacine az dirençli bulunmuştur.

Hadziyannis ve ark. (2000), *E. coli* ve *K. pneumoniae* suşlarında ESBL taraması yapmış; aztreonam ve geniş spektrumlu sefalosporinlere dirençli ve orta duyarlı suşların ESBL üreten suşlar olduğunu rapor etmişlerdir. *K. pneumoniae* suşlarının % 86'sında, *K. oxytoca* suşlarının % 100'ünde ve *E. coli* suşlarının % 20'sinde ESBL varlığını, duyarlı suşlarda ise ESBL tespit etmemişlerdir.

Morfolojik, kültürel ve biyokimyasal özelliklerine dayanılarak identifiye edilen *Klebsiella oxytoca*, *Klebsiella pneumoniae* ve *Klebsiella ozaenae* türlerinin ampicillin, streptomycin, gentamicin, ofloksasin, tetrasiklin ve chloramphenicole farklı derecelerde direnç gösterdikleri ve suşlardan bazılarının akridin orange ile işlemden sonra direnç özelliklerini kaybettikleri bildirilmiştir (Rasool ve ark. 2003).

Geniş spektrumlu sefalosporinlere dirençli ve gastroenteridis'e neden olan 12 adet *Salmaonella typhimiurium* suşlarının CTX-M tipinde ESBL ürettiği tespit edilmiş ve bu enzimin de 12 kb büyüklüğünde plazmid tatafından kodlandığı görülmüştür. Suşların aynı tipte kromozoma sahip oldukları pulsed-field elektroforez ile ortaya konmuştur (Tassios ve ark. 1999).

Nazokomiyal *Klebsiella* enfeksiyonlarının baş sorumlusu *K. pneumoniae*'dır. *K. pneumoniae* dışında *Klebsiella oxytoca*'da çok az sayıda insan klinik örneklerinden izole edilmiştir. A.B.D. ve Avrupa'da bakteriyel nazokomiyal enfeksiyonların % 8'ine *Klebsiella* spp. in neden olduğu belirtilmiştir. Amerika, İngiltere ve Almanya'daki hastanelerde çok önemli 8 patojen arasında bakteriyel nazokomiyal enfeksiyonlarının % 3-7'sini *Klebsiella*'ların oluşturduğu bildirilmiştir (Horan ve ark. 1988, Bergogne-Berezin 1995, Ullmann 1986). Plazmid kaynaklı AmpC β-laktamaz üreten *Klebsiella* spp.'in oluşturduğu çoğu nazokomiyal enfeksiyonların dünya çapında yayılmış bir enfeksiyon olarak ortaya çıktığı ileri sürülmüştür (Black ve ark. 2005).

Çoklu direnç taşıyan bakteri suşlarının neden olduğu hastane enfeksiyonları endişe vericidir. 1970'lerde bu suşlar başlıca aminoglikozidlere dirençli *Klebsiella* suşları idi. 1982'den bu yana geniş spektrumlu sefalosporinlere karşı direnç oluşturan ESBL üreten suşları ortaya çıktı. Ceftazidime dirençli *K. pneumoniae* ve *K. oxytoca* suşları görüldü. Avrupa'da ceftazidime dirençli *Klebsiella* suşlarının ürettiği beta laktamazlarda SHV 5 tipi yaygınken A.B.D.'de TEM 10 ve TEM 12 tipi yaygındı

(Bauernfeind ve ark. 1993, French ve ark 1996, Shiappa ve ark. 1996, Venezia ve ark. 1995).

Nazokomiyal üriner sistem enfeksiyonlarının oluşumundan sorumlu olan faktörlerden birisi de sonda kullanımı sırasında olan bulaşmalardır. Eğer sonda kısa süreli kullanıyorsa genellikle tek bir tür enfeksiyona neden olur. Bu tip enfeksiyona neden olan bakteri türleri: *E. coli, K. pneumoniae, P. aeruginosa, Enterobacter* spp. *S. epidermidis* ve *S. aureus*'dur. Uzun süreli sonda kullanımında ise genellikle bulaşmaya birden fazla bakteri türü neden olur. bu tip bulaşmaya ise *E. coli, P aeroginosa, Proteus mirabilis* ve daha az sıklıkla rastlanan *Providencia* spp. ve *Morganella morganii* türü bakterilerin neden olduğu bildirilmiştir (Köksal 2003).

Farklı hastalardan elde edilen 100 adet *K. pneumoniae*'nın 6 ve daha fazla serotipi tespit edilmiştir. Bunların tiplerine bakılmaksızın suşların çoğunun MacConkey agarda ve kanda mukoid koloniler şeklinde kolonizasyon oluşturdukları ve izolatların % 26'sının en az bir antimikrobiyal ajana dirençli olduğu gözlenmiştir. 25 gün içinde hastaneye giriş yapan hastalardan izole edilen suşların tümünün antimikrobiyal ajanlara duyarlı olduğu tespit edilmiştir (Smith ve ark. 1982).

Nazokomiyal patojenler; antibiyotik kullanımı ve tıbbi uygulamalardaki değişikliklerle yavaş yavaş değişmişlerdir. 1984'den bu yana çoklu dirençli *Klebsiella pneumoniae* suşlarının hastane kaynaklı enfeksiyonlara neden olma oranı her geçen gün artmaktadır. *K. pneumoniae* suşları geniş spektrumlu sefalosporinler ve aminoglikozidlere direnç kazanmışlardır. Bu dirençten bakterilerin taşıdığı plazmidler tarafından kodlanan ESBL ve aminoglikozid modifiye enzimler sorumludur. Çoklu dirençli ve *K. pneumoniae* gibi nazokomiyal yayılış gösteren patojenlerin hastanelerdeki mortalite ve morbidite oranlarında ve tedavi maliyetleri üzerinde önemli etkileri vardır (Meyer ve ark. 1993, Sirot ve ark. 1988, Eisen ve ark. 1995).

3. MATERYAL VE METOT

3.1. Materyal

Bu çalışmada Ocak 2004 - Şubat 2005 tarihleri arasında Ankara Numune Hastanesi, Ankara Hastanesi, Gazi Hastanesi, Ankara Üniversitesi İbni Sina Tıp Fakültesi Hastanesi ve Konya Numune Hastanesinde, üriner sistem enfeksiyonlu hastalardan izole edilen *Klebsiella pneumoniae* suşları alınarak Sağlık Hizmetleri Meslek Yüksek Okulu laboratuvarına getirilmiş ve tür teşhisleri doğrulanmaya çalışılmıştır.

Klebsiella pneumoniae NCTC 5049 (S.Ü. Vet. Fak. Suş No:161) suşu (Laktoz (+), H_2S (-), Üre (-), Hareket (-), Gaz oluşumu (+), Mannitol (+), Oksidaz (-), İMVİC= (- - + +)), referans suş olarak kullanılmıştır. Konjugasyon için alıcı suş olarak kullanılan *Salmonella enteritidis* ATCC 13076 (S.Ü. Vet. Fak. Suş No:88) (Laktoz (-), H_2S (+), Üre (-), Hareket (+), Gaz oluşumu (+/-), Mannitol (+), Oksidaz (-), İMVİC= (- + - +)) yine aynı kolleksiyondan sağlanmıştır.

3.1.1. Besiyerleri ve Çözeltiler

Besiyeri olarak, Koyun Kanlı Agar (Merck), Eosin Metilen Blue (EMB) Agar (Merck), Nutrient Broth (Merck), Brain Heart Infusion Broth (Merck), Mueller Hinton Agar (Merck), LB (Luria Bertaini) Broth (Sigma) ve LB (Luria Bertaini) Agar (Sigma) kullanılmıştır.

Penicillin (P), Ampicillin (AM), Chloramphenicol (C), Amicasin (AK), Gentamicin (CN), Streptomycin (S), Cefotaxime (CTX), Ceftazidime (CAZ), Ceftriaxone (CRO), Sulbactam/cefoperazona (SCF) ve Ciprofloxacin (CIP), antibiyotik diskleri (Oxoid) firmasından sağlanmıştır.

Fenol, kloroform, izoamil alkol, EDTA (Etilen Diamin-Tetra-Asetik-Asit disodyum tuzu) ve glikoz gibi kimyasal maddeler Merck firmasından alınmıştır.

Agaroz, tris, glasial asetik asit, bromfenol blue mavisi, ksilen siyanol, etidyum bromür, NaOH, SDS (Sodyum Dodesil Sülfat), HCl (Hidroklorik Asit), NaCl (Sodyum Klorür) ve izopropanol gibi kimyasal maddeler de (Sigma-Aldrich Chemie Gmbh, 89552, Steinheim, Almanya) firmasından sağlanmıştır.

3.1.2. Tampon ve Çözeltiler

3.1.2.1. Plazmid DNA izolasyonu için gerekli çözeltiler

- TE (Tris EDTA) tamponu: 10 mM Tris-HCl (pH 8.0), 1 mM EDTA, (pH 8.0),
- Solüsyon I: 50 mM Tris-HCl, 10mM EDTA, 50 mM glukoz (pH 8.0),
- Solüsyon II: %1 SDS, 0,2 N NaOH (pH 8.0),
- Solüsyon III: 60 ml 5M potasyum asetat, 11,5 ml glasial asetik asit 28,5 ml distile su ile hazırlanmıştır.
- PEG (Polietilen glikol) 8000: %13 polietilen glikol 8000, 1,6 g NaCl
- Fenol / kloroform / izoamil alkol : 25 / 24 / 1 oranında karıştırılarak hazırlanmıştır.
- Kloroform – izoamil alkol çözeltisi: 24 : 1 oranında kloroform ile izoamil alkol karıştırılarak hazırlanmıştır.

- Etanol + amonyum asetat: 1000 ml etanole 10 M amonyum asetat ilave edilerek hazırlanmıştır.

3.1.2.2. Agaroz jel elektroforezi için gerekli çözeltiler

- Agaroz: 0.18 g agaroz, 30 ml TAE, 3 µl etidyum bromür
- Tris asetat (TAE) tamponu, pH 8.0 (x50/litre): 242 g Tris base, 57.1 ml glasial asetik asit, pH 8.0'e ayarlanmış 100 ml 0.5 M EDTA
- 6X Yükleme tamponu (bromfenol mavisi): %30 gliserol, %0.25 bromfenol mavisi, %0.25 Ksilen siyanol FF
- Etidyum bromür: 10 mg/ml konsantrasyonda hazırlanan çözelti koyu renkli şişelerde muhafaza edilmiştir.

3.2. Metod

3.2.1. Bakteri suşlarının izolasyon ve identifikasyonu

İzole edilen suşlar Mac Conkey agarda laktoz pozitif, EMB agarda ise renkli ve mukoid koloniler meydana getirmişler ve gram boyası ile boyandıklarında gram negatif basil şeklinde görülmüşlerdir. Morfolojik özellikleri belirlenen bakterilerin tür teşhisleri rutin yöntemlere göre yapılmıştır. Tür teşhisi için yapılan biyokimyasal deneylerde TSI'de (Triple Sugar Iron) şekerleri fermente etmiş ve 44,5 ^{o}C'de gaz

oluşturmuşlardır. Hareketsiz olan suşlar üreyi parçalayabilme yeteneğine sahip ve mannitolu da kullanmışlardır. H_2S negatif bulunmuştur. İMVİC (İndol, Metil kırmızısı, Voges Proskauer, Sitrat) testi = - - + + olarak belirlenmiştir (Krieg ve Holt 1984, Lassen 1975).

3.2.2. Antibiyotik duyarlılık testleri

İzolasyon ve identifikasyonları yapılan *K. pneumoniae* suşlarının penicillin, ampicillin, chloramphenicol, amikacin, gentamicin, streptomycin, cefotaxime, ceftazidime, ceftriaxone, sulbactam/cefoperazona ve ciprofloxacine karşı duyarlılıklarının belirlenmesinde, Kirby Bauer tarafından açıklanmış disk difüzyon yöntemi kullanılmıştır (Biemer 1973).

3.2.2.1. Bakteri suşlarının hazırlanması

Antibiyotik duyarlılıkları belirlenmiş olan *K. pneumoniae* suşlarının öncelikle saf kültürleri hazırlanmıştır. İdentifikasyonu yapılarak belirlenen *K. pneumoniae* suşlarının EMB besiyerinde üreyen kolonilerinden alınarak saf kültür yapılmıştır. Saf kültürler Nutrient Broth sıvı besiyerine ekilerek 37^0C'de 1 gece inkübe edilmiş ve istenilen üreme konsantrasyonu elde edilmiştir.

Nutrient Broth Besiyeri (Merck):

Pepton : 5.0 g

Meat ekstrakt : 3.0 g

Hazırlanışı: Yukarıda karışımı verilmiş toz, 1 litre distile suya 25 g katılarak manyetik karıştırıcı (ElektroMag) ile iyice karıştırıldıktan sonra dispenser ile tüplere 5 ml dağıtılmış pH 'sı 7.0'ye ayarlanmıştır. 121^0C'de, 15 dakika otoklavda sterilize edilmiştir.

3.2.2.2. Besiyerinin hazırlanması

Mueller Hinton Agar besiyeri çalışmada kullanılmıştır.

Mueller Hinton Agar Besiyeri (Merck) :

Meat İnfüzyon	2.0 g
Kazein hidrolizate	17.5 g
Nişasta	1.5 g
Agar-agar	13.0 g

Hazırlanışı : 1 l distile suya 34.0 g Mueller Hinton Agar besiyeri katılarak benmaride tamamen çözülünceye kadar ısıtılmıştır. Otoklavda 121^0C'de 15 dakika steril edilen besiyeri pH'sı 7.4 olarak ayarlanmıştır.

3.2.2.3. Petri kutularının hazırlanması

Çalışmada, 9 cm çapındaki steril petri kutuları kullanılmıştır. Otoklavda sterilizasyonu yapılan Mueller Hinton Agar besiyeri petri kutularına ortalama 25-30

ml civarında dökülmüştür. Burada besiyeri kalınlığının 4 mm'yi geçmemesine dikkat edilmiştir. Katılaşan besiyeri plakları 1 gece oda ısısında bekletilerek sterilizasyon kontrolü yapılmış ve üreme olmayan plaklar kullanılıncaya kadar $+4^0$C'de buzdolabında bekletilmiştir. Hazırlanan plaklar 2 haftalık süre içinde kullanılmıştır.

3.2.2.4. Kağıt diskler

Çalışmada, kullanılan Oxoid marka kağıt diskler çizelge 3.1.'de verilmiştir.

Çizelge 3.1. Kullanılan antibiyotik disklerinin kısaltmaları, etken madde miktarları, inhibisyon zonları ve anlamları (Bilgehan 2004).

Antibiyotiğin Adı	Kısaltmalar	İçerik (µg)	Dirençli	Orta duyarlı	Duyarlı
Penicillin G	P	10 U	≤ 11	12-21	≥ 22
Ampicillin	AM	10	≤ 11	12-13	≥ 14
Chloramphenicol	C	30	≤ 12	13-17	≥ 18
Amicasin	AK	30	≤ 14	15-16	≥ 17
Gentamicin	CN	10	≤ 12	13-14	≥ 15
Streptomycin	S	10	≤ 11	12-14	≥ 15
Cefotaxime	CTX	30	≤ 14	15-22	≥ 23
Ceftazidime	CAZ	30	≤ 14	15-17	≥ 18
Cefriaxone	CRO	30	≤ 13	14-20	≥ 21
Sulbactam/cefoperazona	SCF	30+75	≤ 11	12-13	≥ 14
Ciprofloxacin	CIP	5	≤ 15	16-20	≥ 21

3.2.2.5. Bakteri konsantrasyonlarının düzenlenmesi ve ekimi

Sıvı besiyeri içinde bulunan saf kültürler, ekim için bakteri konsantrasyonları 0.5 nolu MacFarland tüpünün bulanıklığı esas alınarak hazırlanmıştır.

3.2.2.6. Mac Farland 0.5 nolu tüpün hazırlanması

1. Çözelti: $BaCl_2$ - H_2O = 0.048 M çözeltisinden 0.5 ml

Bu molaritede bir çözeltinin hazırlanması için 11.725 g $BaCl_2$ – $2H_2O$ alınarak bir litre suya ilave edilmelidir.

2. Çözelti: H_2SO_4 = 0.36 N çözeltisinden 99.5 ml

Bu normalitede bir çözelti hazırlanması için 17.654 g H_2SO_4 alınarak birlikte suya ilave edilmelidir. Daha sonra 1 no'lu çözeltiden 0.5 ml ve 2 nolu çözeltiden 99.5 ml alınarak ayrı bir erlenmayer içinde karıştırılır. Steril bir pipetle deney tüpüne bu karışımdan 10 ml konarak Mac Farland 0.5 nolu tüp bulanıklığı hazırlanır. Bu tüp bulanıklığı esas alınarak bakteri kültürlerinin üreme konsantrasyonları hazırlanmıştır (Çetin ve Gürler 1989).

3.2.2.7. Disklerin yerleştirilmesi

Ekim için hazırlanmış sıvı besiyerindeki bakteri suşu kültürlerinden 0.2 ml alınarak Mueller Hinton agarlı besiyeri plaklarına konarak drigalski özesi yardımıyla

yayılmıştır. Sıvı kültürün katı besiyeri yüzeyine homojen olarak yayılması için petri kutusu döndürülerek yayılma sağlanmıştır. Yüzeyin kuruması için 10-15 dakika oda ısısında bekledikten sonra antibiyotik diskleri her bir plağa 6 adet olmak üzere yerleştirilmiştir (Gürler 1989).

3.2.2.8. Petri kutularının inkübe edilmesi, inhibisyon zonlarının ölçülmesi ve değerlendirilmesi

Petri kutuları 37^0C'de 1 gece inkübe edilmiştir. Petri kutuları inkübasyondan sonra aydınlık bir ortamda incelenmiştir. İnhibisyon zon çapı, zonun bir kenarından çemberin çapı doğrultusunda diğer kenarına kadar olan mesafe bir cetvel ile mm olarak ölçülmüştür. Kullanılan antibiyotiklerin çeşitli bakteri suşlarına karşı oluşturduğu inhibisyon zonları çizelge 3.1'de verilmiştir. Zon çapları değerlendirilmesinde NCCLS (National Committee of Clinical Laboratory Standards) kriterleri esas alınmıştır. (Karatay 1994, Akyıldız ve ark. 1998).

3.2.3. ESBL deneyi

ESBL enzimlerinin klavulanik asite duyarlı olmalarından yola çıkılarak bu enzimi taşıyan suşların tespiti için Coudron ve ark. (1997) tarafından önerilen çift disk sinerji testi yöntemi uygulanmıştır. Bu yönteme göre, NCCLS'nin disk difüzyon yönteminde önerdiği inokülüm miktarı (0.2 ml) kullanılmıştır. Deneyin tüm aşamalarında disk difüzyon yönteminin standartları sağlanmıştır. *K. pneumoniae* suşlarının katı besiyerindeki kültüründen 5 ml Nutrient Broth bulunan cam deney

tüplerine ekim yapılarak, 37 ^{o}C'de 4 saat inkübe edilmiştir. Petri kutularına 4 mm kalınlığında dökülmüş Mueller-Hinton agar kullanılmıştır. Agar yüzeyine Mac Farland 0.5 tüpü yoğunluğundaki bakteri süspansiyonu inoküle edilmiştir. Suşların yayıldığı Mueller Hinton agarın ortasına yerleştirilen 30 µg'lık amoxicilin clavulonic acid diskinden 20'şer mm'lik uzağa 30 µg'lık ceftazidim, cefotaxim, ceftriaxon diskleri eşit açılarla dizilmiştir. Plaklar 18-20 saat süreyle 35 ^{0}C'de inkübasyona bırakılmıştır. İnkübe edilen besiyerleri incelendiğinde ceftazidim, cefotaxim, ceftriaxon ait inhibisyon zonlarının klavulanik asit diski karşısında bozularak genişlemesi ya da iki inhibisyon zonu arasındaki bakteri üreyen alanda üreme olmayan bir bölgenin görülmesi veya başka bir değişle, klavulanik asiti'in diğer antibiyotikler ile sinerjik etki göstermesi o suşun ESBL ürettiğine işaret etmektedir (Akyıldız ve ark. 1998, Thomson ve Sanders 1992).

3.2.4. Plazmid DNA'sının izolasyonu

Kromozomal DNA ve plazmid DNA çoğu kez deterjan ve lizozim ile işleme tabi tutularak hücrelerden izole edilir. Plazmid DNA, RNAase ile muamele ve kesme aşaması ile sarmal yapıdan ayrılır. Plazmid DNA'nın ethidium bromid içeren sezyum klorid (C_2Cl) içinde santrifügasyon yapılarak kovalent bağlı sarmal molekülleri çözülür. Plazmid DNA'sı yüksek pH'da kromozomal DNA'ya nazaran daha dirençlidir. Bu nedenle plazmid DNA'sının izolasyonu için alkali lizis yöntemi kullanılmıştır. Kado ve Liu (1981), tarafından ileri sürülen bu yöntem ve büyük ve küçük plazmidlerin izolasyonu yapılmıştır (Sambrook ve Russell 2001, Temizkan ve Arda 2004).

1. Bakteriler bir gece LB besiyerinde (5 ml) 37^{0}C'de 1 gece inkübe edilmiştir.
2. Kültür 1,5 ml'lik ependorf tüplere aktarılmış ve 4000 devirde, +4^{0}C'de, 8 d. santrifüj edilmiştir. Süpernatant atılmıştır. 5 ml'lik besiyerinin tamamının

kullanılması ve yeterince çökelti elde edilmesi için bu işlem 5 ml'lik miktar bitinceye kadar tekrar edilmelidir.

3. Çökelti üzerine 100 µl solüsyon I ilave edilmiş ve homojen bir karışım sağlanıncaya kadar vortekslenmiş ve buzda 10 dakika bekletilmiştir.
4. Üzerine 200 µl taze hazırlanmış solüsyon II eklenmiş, yoğunluğu değişinceye kadar alt üst edilerek karıştırılmıştır. Amaç bakteri hücrelerinin iyice parçalanmasıdır.
5. 150 µl solüsyon III ilave edilmiş, süt beyazı görünümü elde edilinceye kadar alt üst edilerek karıştırılmıştır. 5 d buzda bekletilmiştir.
6. 12000 devirde, $+4^0$C'de, 10 d Santrifüj edilmiş, süpernatant yeni bir ependorf tüpüne aktarılmış ve süpernatant hacminin % 60'ı kadar (yaklaşık 210µl) izopropanol eklenmiştir, 30 dakika buzda bekletilmiş, 12000 devirde, $+4^0$C'de 10 d. santrifüj edilmiştir.
7. Süpernatant atılmış, çökelti kurutulmuş, 0,5 ml TE tamponunda çözülmesi sağlanmıştır.
8. Üzerine RNase solüsyonu (20 µl/ml) eklenmiş ve 30 d oda ısısında bekletilmiştir.
9. Eşit miktarda (0,5 ml) PEG 8000 eklenmiş ve 15 d buzda bekletilmiştir.
10. 12000 devirde, $+4^0$C'de 10 d santrifüj edilmiştir. Süpernatant atılmış ve çökeltinin 400 µl TE tamponunda çözülmesi sağlanmıştır.
11. Üzerine 100 µl. doymuş fenol çözeltisi eklenmiş, hafifçe karıştırıldıktan sonra, 10000 devirde, $+4^0$C'de 4 d santrifüj edilmiştir. Organik faz (üst sıvı) yeni ependorf tüpüne aktarılmıştır.
12. 200 µl fenol / kloroform / izoamil alkol eklenmiş ve 10000 devirde $+4^0$C'de 4 d. santrifüj edilmiştir. Süpernatant yeni ependorf tüpe aktarılmıştır.
13. Üzerine 100 µl kloroform / izoamil alkol eklenmiş ve 10000 devirde, $+4^0$C'de 4 d. santrifüj edilmiştir. Süpernatant yeni ependorf tüpe aktarılmıştır.
14. Üzerine 1 ml soğuk etanol + amonyum asetat ilave edilmiş ve 30 d buzda bekletilmiştir.
15. 12000 devirde, $+4^0$C'de 10 d santrifüj edilmiş, süpernatant tamamen atılmış ve çökelti 5 d. havada kurutulmuş ve 50 µl TE'de çözülmüştür.

3.2.4.1. DNA görüntüleme yöntemi

1. % 0.6 oranında küçük küvet boyu agaroz jel hazırlanmıştır.
2. 10 µl DNA çözeltisi alınarak 2 µl 6X yükleme tamponu ile agarozun kuyucuklarına aktarılmıştır.
3. 80 voltta, 60 d yürütülmüş ve UV kaynağı üzerinde (Transilliminatör) görüntülenmiştir.
4. Görüntülenen jelin fotografı polaroid makina (DS34 Polaroid Direct Sceen Instant Camera 100X81 mm) kullanılarak çekilmiştir.

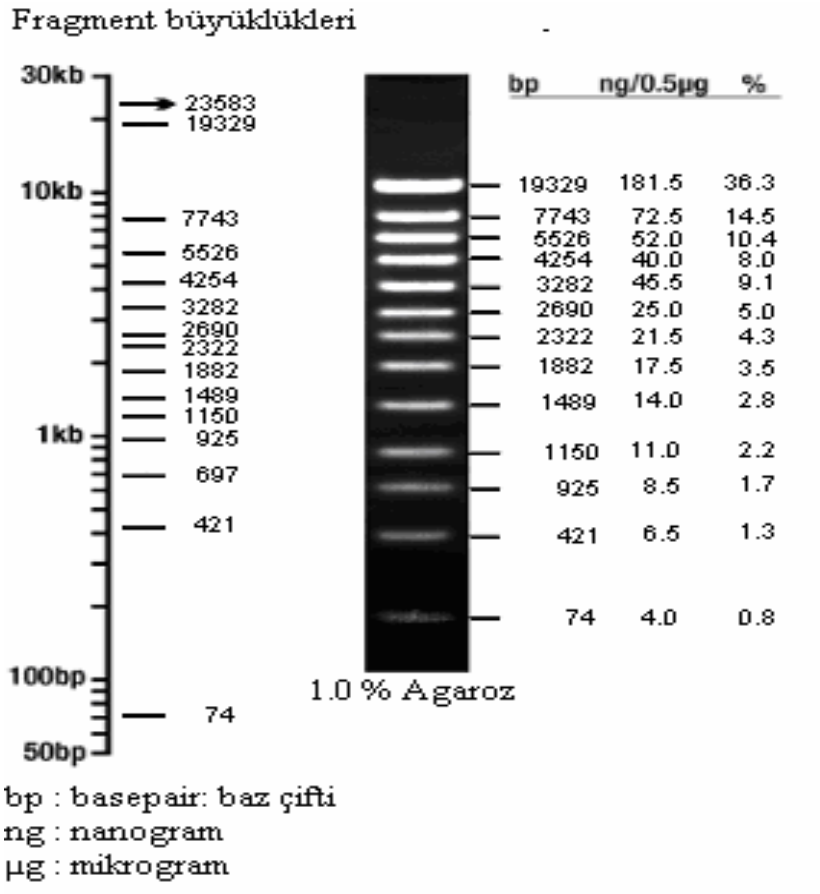
3.2.4.2. Plazmidlerin molekül büyüklüklerinin hesaplanması

Plazmidlerin molekül ağırlıkları (kb) hesaplanırken, agaroz jeldeki görüntüler üzerinde öncelikle marker'ın oluşturdukları bandlarla yükleme kuyucukları arasındaki mesafe mm olarak belirlenmiştir. Daha sonra örneklerin oluşturdukları bandlarla yükleme kuyucuğu arasındaki mesafeler tespit edilmiştir.

Örnek Molekül ağırlığı (MW) = log MW = Rf + 3.04

Rf = -log [Marker MW] formülleri ile örneklerin molekül ağırlıkları belirlenmiştir (Coplin, 1981).

Plazmidlerin molekül büyüklükleri hesaplanırken, Lambda-pUC Mix marker 4 (Fermentas) kullanılmıştır (Vrabelova ve ark. 2004). Kullanılan marker'ın fragmentlerinin moleküler ağırlıkları Şekil 3.1.'de verilmiştir.



Şekil 3.1. Lambda-pUC Mix marker 4'ün fragment büyüklükleri

3.2.5. Konjugasyon deneyi

Antibiyotik duyarlılık testlerinde en az 3 antibiyotiğe çoklu dirençlilik gösteren ve elektroforetik yöntemle plazmide sahip olduğu görülen *Klebsiella pneumoniae* bakteri suşlarının plazmidlerini alıcı *Salmonella* spp. suşuna aktarılıp aktarılmadığı araştırılmıştır.

Disk difüzyon metodu ile çoklu dirençli bulunan verici laktoz (+) *Klebsiella pneumoniae* suşları ve alıcı laktoz (-) *Salmonella* spp. suşları ayrı ayrı buyyona ekilerek, 5-6 saat süreyle 37^0C'de inkübe edilmiştir. İçerisinde 5'er ml buyyon

bulunan tüplere 0,5 ml *K. pneumoniae* suşu kültüründen, 0,1 ml'de *Salmonella* spp. suşu kültüründen aktarılarak 37^0C'de bir gece inkübasyona bırakılmıştır.

Konjugasyonda verici olarak kullanılan *K. pneumoniae* suşlarının direnç gösterdiği fakat alıcı olarak kullanılan *Salmonella* spp. suşunun duyarlı olduğu üç antibiyotiği (CTX, 30 mcg/ml CAZ, 30 mcg/ml ve CRO 30 mcg/ml) ayrı ayrı içeren Mac Conkey agar plaklarına ekim yapılarak 37^0C'de 18-20 saat inkübasyona bırakılmıştır. Karışımlardan ekim yapılan besiyerlerinde inkübasyon sonunda üreyen, laktoz (-) koloniler seçilerek plazmidlerin aktarılıp aktarılmadığının tespiti için plazmid izolasyonları yapılmıştır (Akman 1977, Durak ve Arıkan 1987, Neşati 1995).

4. ARAŞTIRMA SONUÇLARI

4.1. *Klebsiella pneumoniae* suşlarının kullanılan antibiyotiklere karşı duyarlılık durumları

Bu çalışmada, izole ve identifiye edilen 125 adet *K. pneumoniae* suşunun antibiyotiklere duyarlılık durumları araştırılmıştır.

Bu suşların 124 tanesi (% 99.2) penicilline dirençli bulunurken 1 tanesi (% 0.8) penicilline orta duyarlı bulunmuştur. 120 adet *K. pneumoniae* suşu (% 96) ampicilline dirençli olduğu tespit edilirken 1 adeti (%0.8) orta duyarlı ve 4 adeti (% 3.2) ise duyarlı olarak tespit edilmiştir. Chloramphenicole suşların 101'inin (% 80.8) duyarlı, 3'ünün (% 2.4) orta duyarlı ve 21'inin (% 16.8) dirençli olduğu gözlenmiştir. Antibiyogramda kullanılan aminoglikozid türü antibiyotiklerden amikacine 107'sinin (% 85.6) duyarlı, 8'inin (% 6.4) orta duyarlı ve 10'unun (% 8) dirençli olduğu tespit edilmiştir. Streptomycine 90 adet suşun (% 72) duyarlı olduğu, 7 adet suşun (% 5,6) orta duyarlı olduğu ve 28 adet suşun da (% 22,4) dirençli olduğu gözlenmiştir. Gentamicine ise suşların 102'sinin (% 81.6) duyarlı, 4'ünün (% 3.2) orta duyarlı ve 19'unun (% 15.2) dirençli olduğu görülmüştür (Çizelge 4.1 ve Çizelge 4.2).

Duyarlılık testinde kullanılan sefalosporin grubu antibiyotiklerde ise durum şu şekildedir. Cefotaxime suşların 83'ü (%66,4) duyarlı, 14'ü orta duyarlı (%11.2) ve 28'i (% 22.4) dirençli bulunmuştur. Ceftazidime 93 adet suşun (% 74,4) duyarlı, 4 adet suşun (% 3.2) orta duyarlı ve 28 adet suşun (% 22.4) ise dirençli olduğu gözlenmiştir. Ceftriaxon için ise durum şu şekildedir: Suşların 92'si (% 73.6) duyarlı, 9'u (% 7.2) orta duyarlı ve 24'ü (% 19.2) dirençli görülmüştür (Çizelge 4.1 ve Çizelge 4.2).

Ciprofloxacine suşların 100'ünün (% 80) duyarlı, 6'sının (% 4.8) orta duyarlı ve 19'unun (% 19.2) dirençli olduğu tespit edilmiştir. Sulbactam/cefoperazon kompleks antibiyotiğinde ise sonuçlar şu şekildedir: Tüm suşların 117'si (% 93.6) duyarlı, 1'i (% 0.8) orta duyarlı ve 7'si (% 5.6) dirençli olarak gözlenmiştir (Çizelge 4.1 ve Çizelge 4.2).

Çizelge 4.1. *Klebsiella pneumoniae* suşlarının antibiyotiklere duyarlılıkları, inhibisyon zonları ve Duncan testi sonuçları

	P	AM	C	AK	CTX	CAZ	CN	S	CIP	CRO	SCF
1	R^{B}	R^{E}	25^{EFG}	23^{CDE}	28^{DEF}	17^{L}	21^{CD}	20^{CDE}	22^{IJK}	26^{DEF}	28^{BCD}
2	R^{B}	R^{E}	25^{EFG}	21^{EFG}	30^{BCD}	28^{BC}	20^{CDE}	20^{CDE}	30^{BC}	26^{DEF}	30^{AB}
3	R^{B}	R^{E}	18^{LMN}	20^{FGH}	31^{BC}	25^{DEF}	15^{HI}	20^{CDE}	26^{EFG}	24^{FGH}	27^{BCDE}
4	R^{B}	R^{E}	19^{KLM}	21^{EFG}	24^{HIJ}	18^{KL}	19^{DEF}	19^{DEF}	24^{GHI}	20^{JK}	28^{BCD}
5	R^{B}	R^{E}	23^{GHI}	20^{FGH}	25^{GHI}	19^{JKL}	18^{EFG}	21^{CD}	26^{EFG}	23^{GHI}	30^{AB}
6	R^{B}	R^{E}	24^{FGH}	21^{EFG}	26^{FGH}	20^{IJK}	17^{FGH}	18^{EFG}	28^{CDE}	21^{IJ}	26^{CDEF}
7	R^{B}	R^{E}	$\mathbf{32^{A}}$	22^{DEF}	30^{BCD}	25^{DEF}	20^{CDE}	18^{EFG}	$\mathbf{34^{A}}$	21^{IJ}	R^{Q}
8	R^{B}	R^{E}	26^{DEF}	15^{KLM}	R^{R}	R^{N}	R^{K}	15^{HIJ}	24^{GHI}	R^{N}	22^{GHIJ}
9	R^{B}	13^{D}	22^{HIJ}	20^{FGH}	26^{FGH}	27^{CD}	17^{FGH}	16^{GHI}	23^{HIJ}	23^{GHI}	24^{EFGH}
10	R^{B}	18^{B}	22^{HIJ}	20^{FGH}	28^{DEF}	22^{GHI}	18^{EFG}	16^{GHI}	30^{BC}	24^{FGH}	30^{AB}
11	R^{B}	R^{E}	25^{EFG}	22^{DEF}	31^{BC}	30^{B}	20^{CDE}	19^{DEF}	30^{BC}	$\mathbf{32^{A}}$	30^{AB}
12	R^{B}	R^{E}	26^{DEF}	22^{DEF}	30^{BCD}	27^{CD}	20^{CDE}	18^{EFG}	30^{BC}	30	26^{CDEF}
13	R^{B}	R^{E}	29^{BC}	24^{BCD}	29^{CDE}	28^{BC}	20^{CDE}	20^{CDE}	15^{M}	26^{DEF}	22^{GHIJ}
14	R^{B}	R^{E}	R^{O}	26^{B}	30^{BCD}	25^{DEF}	22^{BC}	22^{C}	R^{O}	$\mathbf{32^{A}}$	28^{BCD}
15	R^{B}	R^{E}	21^{IJK}	R^{O}	13^{Q}	15^{M}	19^{DEF}	R^{K}	28^{CDE}	R^{N}	20^{IJKL}
16	R^{B}	R^{E}	28^{BCD}	25^{BC}	31^{BC}	26^{CDE}	19^{DEF}	20^{CDE}	26^{EFG}	30^{AB}	26^{CDEF}
17	R^{B}	R^{E}	R^{O}	19	R^{R}	R^{N}	R^{K}	18^{EFG}	R^{O}	R^{N}	16^{MNOP}
18	R^{B}	R^{E}	24^{FGH}	20^{FGH}	25^{GHI}	24^{EFG}	15^{HI}	R^{K}	26^{EFG}	25^{EFG}	22^{GHIJ}
19	R^{B}	R^{E}	26^{DEF}	20^{FGH}	29^{CDE}	28^{BC}	18^{EFG}	19^{DEF}	27^{DEF}	30^{AB}	21^{HIJK}
20	R^{B}	R^{E}	21^{IJK}	22^{DEF}	22^{JKL}	26^{CDE}	18^{EFG}	18^{EFG}	21^{JK}	28^{BCD}	30^{AB}
21	R^{B}	R^{E}	24^{FGH}	R^{O}	R^{R}	R^{N}	R^{K}	R^{K}	18^{L}	R^{N}	R^{Q}
22	R^{B}	R^{E}	R^{O}	21^{EFG}	R^{R}	R^{N}	R^{K}	15^{HIJ}	28^{CDE}	R^{N}	18^{KLMN}
23	R^{B}	R^{E}	22^{HIJ}	17^{IJK}	28^{DEF}	24	16^{GHI}	15^{HIJ}	25^{FGH}	25^{EFG}	18^{KLMN}
24	R^{B}	R^{E}	24^{FGH}	R^{O}	R^{R}	R^{N}	14^{IJ}	R^{K}	22^{IJK}	R^{N}	R^{Q}
25	R^{B}	R^{E}	30^{AB}	12	R^{R}	R^{N}	14^{IJ}	R^{K}	21^{JK}	R^{N}	R^{Q}
26	R^{B}	R^{E}	20^{JKL}	15^{KLM}	R^{R}	R^{N}	17^{FGH}	15^{HIJ}	R^{O}	R^{N}	16^{MNOP}
27	R^{B}	R^{E}	26^{DEF}	22^{DEF}	R^{R}	R^{N}	R^{K}	20^{CDE}	R^{O}	R^{N}	24^{EFGH}
28	R^{B}	R^{E}	26^{DEF}	22^{DEF}	30^{BCD}	26^{CDE}	18^{EFG}	14^{IJ}	26^{EFG}	26^{DEF}	26^{CDEF}
29	R^{B}	R^{E}	25^{EFG}	16^{JKL}	R^{R}	R^{N}	R^{K}	16^{GHI}	R^{O}	R^{N}	19^{JKLM}
30	R^{B}	R^{E}	25^{EFG}	26^{B}	$\mathbf{34^{A}}$	28^{BC}	20^{CDE}	19^{DEF}	28^{CDE}	26^{DEF}	30^{AB}
31	R^{B}	R^{E}	20^{JKL}	22^{DEF}	26^{FGH}	22^{GHI}	18^{EFG}	19^{DEF}	24^{GHI}	28^{BCD}	22^{GHIJ}
32	R^{B}	R^{E}	26^{DEF}	22^{DEF}	30^{BCD}	26^{CDE}	18^{EFG}	18^{EFG}	22^{IJK}	30^{AB}	28^{BCD}
33	R^{B}	R^{E}	28^{BCD}	19^{GHI}	R^{R}	R^{N}	18^{EFG}	16^{GHI}	R^{O}	R^{N}	15^{NOP}
34	R^{B}	R^{E}	25^{EFG}	22^{EFG}	26^{FGH}	26^{CDE}	R^{K}	R^{K}	R^{O}	28^{BCD}	16^{MNOP}
35	R^{B}	R^{E}	20^{JKL}	15^{KLM}	R^{R}	R^{N}	16^{GHI}	R^{K}	R^{O}	R^{N}	15^{NOP}
36	R^{B}	R^{E}	27^{CDE}	21^{EFG}	25^{GHI}	18^{KL}	16^{GHI}	16^{GHI}	26^{EFG}	24^{FGH}	27^{BCDE}
37	R^{B}	R^{E}	24^{FGH}	20^{FGH}	24^{HIJ}	21^{HIJ}	17^{FGH}	R^{K}	24^{GHI}	24^{FGH}	18^{KLMN}
38	R^{B}	R^{E}	23^{GHI}	13^{MN}	R^{R}	R^{N}	12^{J}	R^{K}	18^{L}	R^{N}	R^{Q}
39	R^{B}	R^{E}	23^{GHI}	R^{O}	R	R^{N}	14^{IJ}	20^{CDE}	18^{L}	R^{N}	14^{OP}
40	R^{B}	R^{E}	19^{KLM}	14^{LMN}	R^{R}	R^{N}	16^{GHI}	13^{J}	R^{O}	R^{N}	28^{BCD}

Çizelge 4.1.'in devamı

	P	AM	C	AK	CTX	CAZ	CN	S	CIP	CRO	SCF
41	**12^{A}**	**20^{A}**	26^{DEF}	20^{FGH}	28^{DEF}	24^{EFG}	18^{EFG}	16^{GHI}	30	24^{FGH}	28^{BCD}
42	R^{B}	R^{E}	26^{DEF}	19^{GHI}	28^{DEF}	22^{GHI}	18^{EFG}	15^{HIJ}	30^{BC}	25^{EFG}	20^{IJKL}
43	R^{B}	R^{E}	R^{O}	20^{FGH}	R^{R}	18^{KL}	18^{EFG}	16^{GHI}	25^{FGH}	R^{N}	15^{NOP}
44	R^{B}	18^{B}	R^{O}	24^{BCD}	18	18^{KL}	22^{BC}	18^{EFG}	25^{FGH}	18^{KL}	30^{AB}
45	R^{B}	R^{E}	22^{HIJ}	18^{HIJ}	25^{GHI}	21^{HIJ}	16^{GHI}	15^{HIJ}	22^{IJK}	22^{HIJ}	15^{NOP}
46	R^{B}	R^{E}	R^{O}	19^{GHI}	16^{OP}	22^{GHI}	R^{K}	R^{K}	25^{FGH}	18^{KL}	16^{MNOP}
47	R^{B}	R^{E}	28^{BCD}	**30^{A}**	32^{AB}	**32^{A}**	24^{B}	24^{B}	R^{O}	30^{AB}	**32^{A}**
48	R^{B}	R^{E}	25^{EFG}	22^{DEF}	26^{FGH}	23^{FGH}	19^{DEF}	R^{K}	30^{BC}	30^{AB}	22^{GHIJ}
49	R^{B}	R^{E}	28^{BCD}	24^{BCD}	32^{B}	20^{IJK}	20^{CDE}	19^{DEF}	30^{BC}	30^{AB}	30^{AB}
50	R^{B}	R^{E}	23^{GHI}	22^{DEF}	32^{AB}	18^{KL}	18^{EFG}	R^{K}	27^{DEF}	30^{AB}	22^{GHIJ}
51	R^{B}	R^{E}	25^{EFG}	22^{DEF}	22^{JKL}	25^{DEF}	15^{HI}	14^{IJ}	22^{IJK}	22^{HIJ}	15^{NOP}
52	R^{B}	R^{E}	R^{O}	15^{KLM}	R^{R}	19^{JKL}	R^{K}	19^{DEF}	R^{O}	R^{N}	22^{GHIJ}
53	R^{B}	R^{E}	26^{DEF}	14^{LMN}	R^{R}	R^{N}	14^{IJ}	R^{K}	21^{JK}	R^{N}	R^{Q}
54	R^{B}	R^{E}	30^{AB}	22^{DEF}	30^{BCD}	25^{DEF}	19^{DEF}	18^{EFG}	28^{CDE}	26^{DEF}	28^{BCD}
55	R^{B}	R^{E}	25^{EFG}	21^{EFG}	26^{FGH}	22^{GHI}	17^{FGH}	R^{K}	R^{O}	25^{EFG}	19^{JKLM}
56	R^{B}	R^{E}	24^{FGH}	21^{EFG}	26^{FGH}	24^{EFG}	18^{EFG}	16^{GHI}	24^{GHI}	25^{EFG}	27^{BCDE}
57	R^{B}	15^{C}	22^{HIJ}	24^{BCD}	30^{BCD}	25^{DEF}	20^{CDE}	18^{EFG}	26^{EFG}	29^{BC}	28^{BCD}
58	R^{B}	R^{E}	16^{N}	21^{EFG}	26^{FGH}	R^{N}	18^{EFG}	20^{CDE}	30^{BC}	28^{BCD}	24^{EFGH}
59	R^{B}	R^{E}	22^{HIJ}	26^{B}	30^{BCD}	26^{CDE}	20^{CDE}	20^{CDE}	30^{BC}	30^{AB}	30^{AB}
60	R^{B}	R^{E}	20^{JKL}	25^{BC}	29^{CDE}	25^{DEF}	20^{CDE}	19^{DEF}	32^{B}	28^{BCD}	**32^{A}**
61	R^{B}	R^{E}	20^{JKL}	20^{FGH}	30^{BCD}	24^{EFG}	**28^{A}**	20^{CDE}	28^{CDE}	28^{BCD}	30^{AB}
62	R^{B}	R^{E}	18^{LMN}	22^{DEF}	18NO	30^{B}	19^{DEF}	22^{C}	26^{EFG}	28^{BCD}	30^{AB}
63	R^{B}	R^{E}	R^{O}	20^{FGH}	14^{PQ}	R^{N}	R^{K}	R^{K}	28^{CDE}	16^{LM}	R^{Q}
64	R^{B}	R^{E}	25^{EFG}	18^{HIJ}	24^{HIJ}	30^{B}	16^{GHI}	18^{EFG}	24^{GHI}	26^{DEF}	28^{BCD}
65	R^{B}	R^{E}	25^{EFG}	19^{GHI}	28^{DEF}	25^{DEF}	15^{HI}	16^{GHI}	25^{FGH}	26^{DEF}	28^{BCD}
66	R^{B}	R^{E}	26^{DEF}	20^{FGH}	28^{DEF}	19^{JKL}	18^{EFG}	R^{K}	28^{CDE}	25^{EFG}	22^{GHIJ}
67	R^{B}	R^{E}	25^{EFG}	22^{DEF}	25^{GHI}	24^{EFG}	18^{EFG}	15^{HIJ}	25^{FGH}	24^{FGH}	25^{DEFG}
68	R^{B}	R^{E}	25^{EFG}	20^{FGH}	26^{FGH}	20^{IJK}	17^{FGH}	15^{HIJ}	27^{DEF}	28^{BCD}	18^{KLMN}
69	R^{B}	R^{E}	R^{O}	20^{FGH}	18NO	R^{N}	18^{EFG}	16^{GHI}	R^{O}	16^{LM}	24^{EFGH}
70	R^{B}	R^{E}	R^{O}	16^{JKL}	R^{R}	R^{N}	17^{FGH}	15^{HIJ}	R^{O}	R^{N}	20^{IJKL}
71	R^{B}	R^{E}	26^{DEF}	22^{DEF}	32^{B}	25^{DEF}	20^{CDE}	R^{K}	28^{CDE}	30^{AB}	22^{GHIJ}
72	R^{B}	R^{E}	28^{BCD}	22^{DEF}	28^{DEF}	27^{CD}	19^{DEF}	16^{GHI}	30^{BC}	24^{FGH}	26^{CDEF}
73	R^{B}	R^{E}	30^{AB}	22^{DEF}	30^{BCD}	27^{CD}	19^{DEF}	18^{EFG}	30^{BC}	26^{DEF}	28^{BCD}
74	R^{B}	R^{E}	30^{AB}	21^{EFG}	28^{DEF}	26^{CDE}	19^{DEF}	16^{GHI}	28^{CDE}	28^{BCD}	28^{BCD}
75	R^{B}	R^{E}	25^{EFG}	20^{FGH}	23^{IJK}	25^{DEF}	16^{GHI}	16^{GHI}	28^{CDE}	26^{DEF}	20^{IJKL}
76	R^{B}	R^{E}	25^{EFG}	21^{EFG}	21^{KLM}	18^{KL}	17^{FGH}	16^{GHI}	26^{EFG}	21^{IJ}	15^{NOP}
77	R^{B}	R^{E}	26^{DEF}	20^{FGH}	26^{FGH}	28^{BC}	18^{EFG}	**28^{A}**	30^{BC}	30^{AB}	28^{BCD}
78	R^{B}	R^{E}	R^{O}	20^{FGH}	19^{MN}	22^{GHI}	R^{K}	R^{K}	26^{EFG}	18^{KL}	19^{JKLM}
79	R^{B}	R^{E}	R^{O}	18^{HIJ}	R^{R}	R^{N}	R^{K}	R^{K}	13^{N}	R^{N}	14^{OP}
80	R^{B}	R^{E}	R^{O}	20^{FGH}	22^{JKL}	18^{KL}	18^{EFG}	R^{K}	24^{GHI}	24^{FGH}	18^{KLMN}
81	R^{B}	R^{E}	26^{DEF}	22^{DEF}	30^{BCD}	22^{GHI}	18^{EFG}	R^{K}	22^{IJK}	22^{HIJ}	20^{IJKL}
82	R^{B}	R^{E}	28^{BCD}	20^{FGH}	26^{FGH}	26^{CDE}	18^{EFG}	R^{K}	26^{EFG}	22^{HIJ}	21^{HIJK}
83	R^{B}	R^{E}	30^{AB}	21^{EFG}	25^{GHI}	30^{AB}	19^{DEF}	17^{FGH}	28^{CDE}	26^{DEF}	20^{IJKL}
84	R^{B}	R^{E}	30^{AB}	23^{CDE}	24^{HIJ}	26^{CDE}	18^{EFG}	17^{FGH}	30^{BC}	24^{FGH}	20^{IJKL}
85	R^{B}	R^{E}	22^{HIJ}	20^{FGH}	26^{FGH}	22^{GHI}	18^{EFG}	17^{FGH}	26^{EFG}	28^{BCD}	28^{BCD}

Çizelge 4.1.'in devamı

	P	AM	C	AK	CTX	CAZ	CN	S	CIP	CRO	SCF
86	R^{B}	R^{E}	R^{O}	20^{FGH}	20^{LMN}	23^{FGH}	R^{K}	R^{K}	25^{FGH}	23^{GHI}	20^{IJKL}
87	R^{B}	R^{E}	26^{DEF}	22^{DEF}	30^{BCD}	26^{CDE}	19^{DEF}	16^{GHI}	30^{BC}	26^{DEF}	17^{LMNO}
88	R^{B}	R^{E}	26^{DEF}	22^{DEF}	30^{BCD}	23^{FGH}	19^{DEF}	18^{EFG}	28^{CDE}	28^{BCD}	17^{LMNO}
89	R^{B}	R^{E}	28^{BCD}	20^{FGH}	30^{BCD}	25^{DEF}	20^{CDE}	20^{CDE}	28^{CDE}	22^{HIJ}	20^{IJKL}
90	R^{B}	R^{E}	20^{JKL}	20^{FGH}	26^{FGH}	22^{GHI}	16^{GHI}	17^{FGH}	25^{FGH}	24^{FGH}	18^{KLMN}
91	R^{B}	R^{E}	18^{LMN}	23^{CDE}	R^{R}	R^{N}	R^{K}	R^{K}	20^{KL}	R^{N}	18^{KLMN}
92	R^{B}	R^{E}	R^{O}	18^{HIJ}	20^{LMN}	R^{N}	15^{HI}	R^{K}	20^{KL}	16^{LM}	21^{HIJK}
93	R^{B}	R^{E}	28^{BCD}	25^{BC}	30^{BCD}	30^{AB}	19^{DEF}	20^{CDE}	30^{BC}	30^{AB}	30^{AB}
94	R^{B}	R^{E}	23^{GHI}	23^{CDE}	30^{BCD}	26^{CDE}	16^{GHI}	R^{K}	28^{CDE}	30^{AB}	20^{IJKL}
95	R^{B}	R^{E}	25^{EFG}	20^{FGH}	25^{GHI}	23^{FGH}	15^{HI}	15^{HIJ}	28^{CDE}	25^{EFG}	25^{DEFG}
96	R^{B}	R^{E}	25^{EFG}	14^{LMN}	R^{R}	R^{N}	R^{K}	14^{IJ}	R^{O}	R^{N}	15^{NOP}
97	R^{B}	R^{E}	R^{O}	19^{GHI}	15^{PQ}	20^{IJK}	R^{K}	R^{K}	25^{FGH}	14^{M}	14^{OP}
98	R^{B}	R^{E}	22^{HIJ}	18^{HIJ}	24^{HIJ}	20^{IJK}	15^{HI}	16^{GHI}	25^{FGH}	24^{FGH}	20^{IJKL}
99	R^{B}	R^{E}	30^{AB}	20^{FGH}	30^{BCD}	228^{BC}	16^{GHI}	17^{FGH}	28^{CDE}	30^{AB}	27^{BCDE}
100	R^{B}	R^{E}	30^{AB}	20^{FGH}	30^{BCD}	25^{DEF}	18^{EFG}	17^{FGH}	28^{CDE}	28^{BCD}	28^{BCD}
101	R^{B}	R^{E}	30^{AB}	22^{DEF}	30^{BCD}	26^{CDE}	19^{DEF}	14^{IJ}	30^{BC}	29^{BC}	24^{EFGH}
102	R^{B}	R^{E}	R^{O}	21^{EFG}	27^{EFG}	22^{GHI}	17^{FGH}	15^{HIJ}	25^{FGH}	25^{EFG}	16^{MNOP}
103	R^{B}	R^{E}	21^{IJK}	16^{JKL}	R^{R}	R^{N}	16^{GHI}	15^{HIJ}	R^{O}	R^{N}	13^{P}
104	R^{B}	R^{E}	21^{IJK}	16^{JKL}	R^{R}	R^{N}	16^{GHI}	15^{HIJ}	28^{CDE}	25^{EFG}	20^{IJKL}
105	R^{B}	R^{E}	R^{O}	21^{EFG}	28^{DEF}	24^{EFG}	17^{FGH}	17^{FGH}	27^{DEF}	28^{BCD}	28^{BCD}
106	R^{B}	R^{E}	23^{GHI}	21^{EFG}	27^{EFG}	23^{FGH}	15^{HI}	16^{GHI}	24^{GHI}	23^{GHI}	22^{GHIJ}
107	R^{B}	R^{E}	18^{LMN}	20^{FGH}	26^{FGH}	24^{EFG}	17^{FGH}	16^{GHI}	27^{DEF}	25^{EFG}	23^{FGHI}
108	R^{B}	R^{E}	R^{O}	17^{IJK}	R^{R}	R^{N}	R^{K}	17^{FGH}	26^{EFG}	26^{DEF}	24^{EFGH}
109	R^{B}	R^{E}	26^{DEF}	19^{GHI}	28^{DEF}	22^{GHI}	18^{EFG}	15^{HIJ}	25^{FGH}	28^{BCD}	26^{CDEF}
110	R^{B}	R^{E}	17^{MN}	18^{HIJ}	23^{IJK}	22^{GHI}	15^{HI}	16^{GHI}	26^{EFG}	25^{EFG}	25^{DEFG}
111	R^{B}	R^{E}	18^{LMN}	22^{DEF}	25^{GHI}	23^{FGH}	18^{EFG}	18^{EFG}	27^{DEF}	26^{DEF}	20^{IJKL}
112	R^{B}	R^{E}	24^{FGH}	20^{FGH}	28^{DEF}	21^{HIJ}	16^{GHI}	16^{GHI}	30^{BC}	30^{AB}	22^{GHIJ}
113	R^{B}	R^{E}	22^{HIJ}	22^{DEF}	25^{GHI}	22^{GHI}	15^{HI}	13^{J}	24^{GHI}	28^{BCD}	27^{BCDE}
114	R^{B}	R^{E}	24^{FGH}	22^{DEF}	28^{DEF}	24^{EFG}	16^{GHI}	19^{DEF}	26^{EFG}	24^{FGH}	23^{FGHI}
115	R^{B}	R^{E}	25^{EFG}	20^{FGH}	27^{EFG}	25^{DEF}	15^{HI}	15^{HIJ}	25^{FGH}	26^{DEF}	25^{DEFG}
116	R^{B}	R^{E}	R^{O}	20^{FGH}	R^{R}	20^{IJK}	R^{K}	20^{CDE}	20^{KL}	24^{FGH}	30^{AB}
117	R^{B}	R^{E}	26^{DEF}	20^{FGH}	25^{GHI}	21^{HIJ}	16^{GHI}	14^{IJ}	26^{EFG}	27CDE	24^{EFGH}
118	R^{B}	R^{E}	30^{AB}	19^{GHI}	15	R^{N}	18^{EFG}	15^{HIJ}	R^{O}	15^{M}	23^{FGHI}
119	R^{B}	R^{E}	25^{EFG}	20^{FGH}	24^{HIJ}	18^{KL}	18^{EFG}	16^{GHI}	25^{FGH}	25^{EFG}	24^{EFGH}
120	R^{B}	R^{E}	25^{EFG}	23^{CDE}	24^{HIJ}	15^{M}	18^{EFG}	19^{DEF}	26^{EFG}	28^{BCD}	29^{ABC}
121	R^{B}	R^{E}	24^{FGH}	20^{FGH}	28^{DEF}	22^{GHI}	17^{FGH}	17^{FGH}	29^{CD}	24^{FGH}	23^{FGHI}
122	R^{B}	R^{E}	22^{HIJ}	22^{DEF}	20^{LMN}	R^{N}	16^{GHI}	18^{EFG}	23^{HIJ}	26^{DEF}	20^{IJKL}
123	R^{B}	R^{E}	R^{O}	22^{DEF}	R^{R}	21^{HIJ}	18^{EFG}	16^{GHI}	25^{FGH}	R^{N}	17^{LMNO}
124	R^{B}	R^{E}	23^{GHI}	21^{EFG}	23^{IJK}	24^{EFG}	17^{FGH}	17^{FGH}	25^{FGH}	24^{FGH}	25^{DEFG}
125	R^{B}	R^{E}	16^{N}	21^{EFG}	22^{JKL}	17^{L}	16^{GHI}	14^{IJ}	22^{IJK}	25^{EFG}	30^{AB}

P: Penicillin, AM: Ampicillin, C: Chloramphenicol, AK: Amikacin, CTX: Cefotaxime, CAZ: Ceftazidime, CN: Gentamicin, S: Streptomycin, CIP: Ciprofloxacin, CRO: Ceftriaxone, SCF: Sulbactam/cefoperazona, R: Dirençli

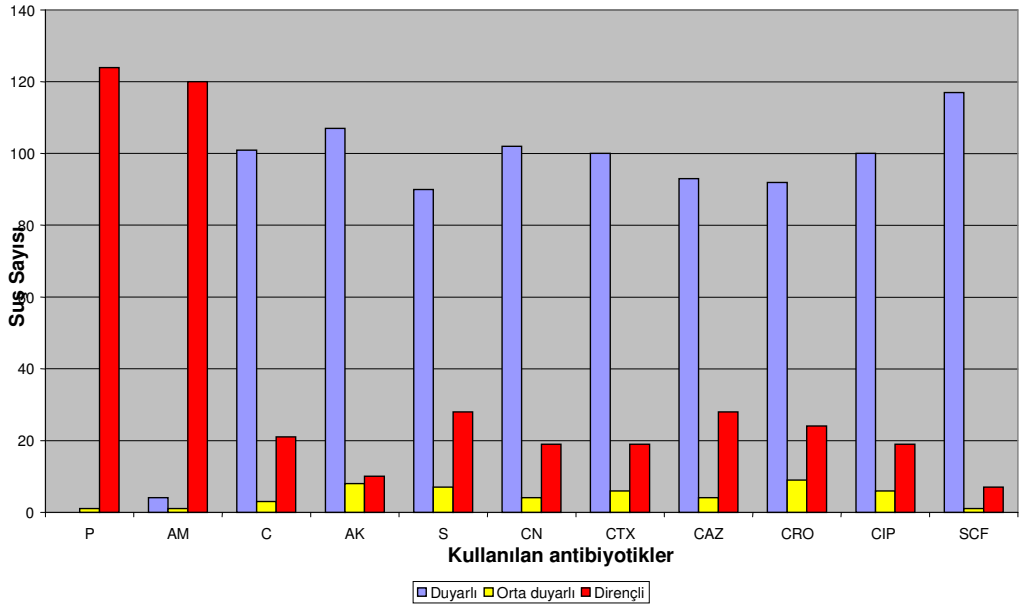
Çizelge 4.2. Kullanılan antibiyotiklere karşı *Klebsiella pneumoniae* suşlarının duyarlı, orta duyarlı ve dirençli % sayıları

	Duyarlı	Orta Duyarlı	Dirençli
Penicillin	% 0	% 0.8	% 99.2
Ampicillin	% 3.2	% 0.8	% 96
Chloramphenicol	% 80.8	% 2.4	% 16.8
Amikacin	% 85.6	% 6.4	% 8
Cefotaxime	% 66.4	% 11.2	% 22.4
Ceftazidime	% 74.4	% 3.2	% 22.4
Gentamicin	% 81.6	% 3.2	% 15.2
Streptomycin	% 72	% 5.6	% 22.4
Ciprofloxacin	% 80	% 4.8	% 15.2
Ceftriaxone	% 73.6	% 7.2	% 19.2
Sulbactam/cefoperazona	% 93.6	% 0.8	% 5.6

4.2. İstatistiki Sonuçlar

Yapılan istatistiki çalışmada her bir suş için kullanılan antibiyotiklerin etkisi önemli bulunmuştur ($p<0.001$). Uygulanan Duncan testinde ise penicillinin en etkili olduğu suş 41 no'lu suş, ampicillinin de en etkili suş yine 41 no'lu suş olarak tespit edilmiştir. Chloramphenicol 7 no'lu suş, amikacin 47 no'lu suş ve cefotaxim 30 no'lu suş üzerinde en çok etki göstermiştir. Aminoglikozid grubu antibiyotiklerden gentamicin 61 no'lu suşa, streptomycin ise 77 no'lu suşa en üst düzeyde etki etmiştir. Ciprofloxacin 7 no'lu suş, ceftriaxon 11 ve 14 no'lu suşlar ve sulbactam/cefoperazon 47 ve 60 no'lu suşlar üzerinde etkilerinin en fazla olduğu gözlenmiştir. Ayrıca

kullanılan antibiyotiklerin bütün suşlar üzerindeki etkilerinin istatistiki sonuçları verilmiştir (Çizelge 4.1).



Şekil 4.1. Kullanılan antibiyotiklere duyarlı, orta duyarlı ve dirençli suş sayılarının karşılaştırılması

4.3. *Klebsiella pneumoniae* suşlarının ESBL varlığı sonuçları

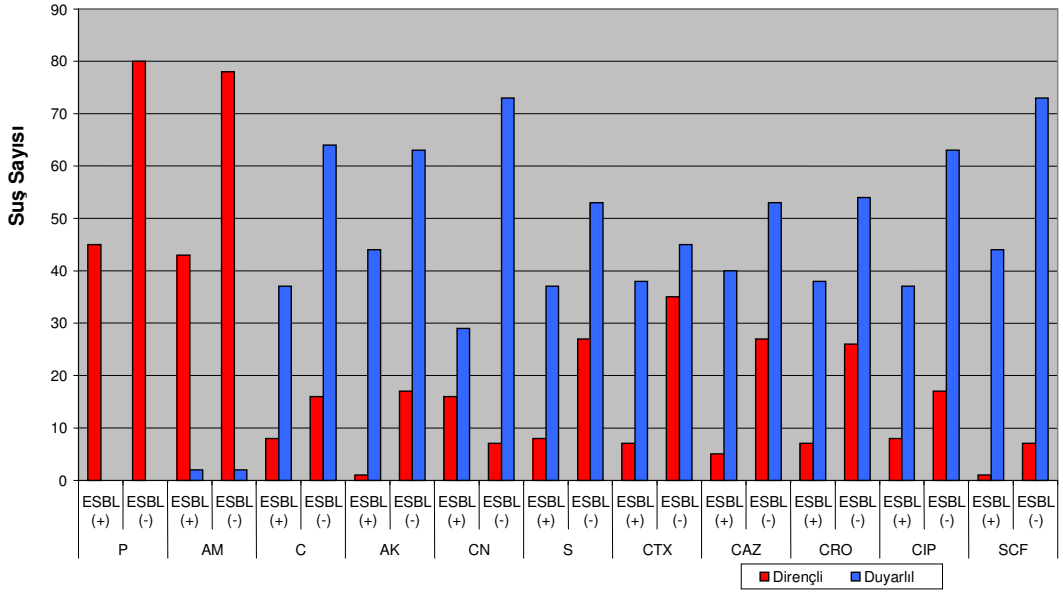
Üriner sistem enfeksiyonlarından izole edilen 125 adet *K. pneumoniae* suşunun antibiyotiklere duyarlılıkları Çizelge 4.1.'de verilmiştir. Bu suşların ESBL varlığı Çift Disk Sinerji Testi ile (ÇDST) araştırılmıştır. 45 adedi (% 36) ESBL üretirken 80 adeti (% 64) ESBL üretmeyen suşlardan oluştuğu görülmüştür. ESBL üreten ve üretemeyen suşların kullanılan antibiyotiklere duyarlılıkları Çizelge 4.3.'de verilmiştir.

Çizelge 4.3. ESBL üreten ve üretemeyen *K. pneumoniae* suşlarının kullanılan antibiyotiklere dirençli, duyarlı sayıları ve % oranları

Kullanılan antibiyotikler	ESBL üreten suşlar N:45		ESBL üretmeyen suşlar n: 80	
	Dirençli (%)	Duyarlı (%)	Dirençli (%)	Duyarlı(%)
Penicillin (P)	45 (%100)	0	80 (%100)	0
Ampicillin (AM)	43 (%95.5)	2 (% 4.5)	78 (%97.5)	2 (%2.5)
Chloramphenicol (C)	8 (%17.8)	37 (%82.2)	16 (%20)	64 (%80)
Amikacin (AK)	1 (%2.3)	44 (%97.7)	17 (%21.3)	63 (%78.7)
Gentamicin (CN)	16 (%35.6)	29 (%64.4)	7 (% 8.8)	73 (%91.2)
Streptomycin (S)	8 (%11.8)	37 (%82.2)	27 (%33.8)	53 (%66.2)
Cefotaxime (CTX)	7 (%15.6)	38 (%84.4)	35 (%43.7)	45 (%56.3)
Ceftazidime (CAZ)	5 (%11.2)	40 (%88.8)	27 (%33.8)	53 (%66.2)
Ceftriaxon (CRO)	7 (%15.6)	38 (%84.4)	26 (%32.5)	54 (%67.5)
Ciprofloxacin (CIP)	8 (%11.8)	37 (%82.2)	17 (%21.2)	63 (%78.3)
Sulbactam/cefoperazona (SCF)	1 (%2.3)	44 (%97.7)	7 (%8.7)	73 (%91.3)

ESBL üreten 45 ve üretemeyen 80 *K. pneumoniae* suşunun tümü pencillin'e dirençli bulunmuştur. ESBL üreten suşların amikacine karşı direnç oranı % 2.3 iken üretmeyenlerin % 21.3 olduğu, bu oranların gentamicin için % 65.6'ya karşı % 8.8, streptomycin için % 11.8'e karşı % 33.8 ve sulbactam / cefoperazon için % 2.3 karşı % 8.7 olarak belirlenmiştir.

ESBL üreten suşların sırası ile penicillin, ampicillin ve gentamicine karşı daha yüksek oranda direnç gösterdikleri, üretmeyen suşların da sıra ile penicillin, ampicillin ve cefotaxime karşı daha yüksek oranda direnç gösterdikleri görülmüştür (Çizelge 4.3.)



Şekil 4.2. ESBL üreten ve üretemeyen *K. pneumoniae* suşlarının kullanılan antibiyotiklere dirençli ve duyarlı sayılarının karşılaştırılması

4.4. *Klebsiella pneumoniae* suşlarının izolasyonu, plazmid profilleri ve genetik benzerliklerinin karşılaştırılması

Yaptığımız çalışmada, üriner sistemden izole edilen 125 adet *K. pneumoniae* suşundan 82'sinde (% 65.6) plazmide rastlanırken 43'ünde (% 34.4) plazmide rastlanmamıştır (Şekil 4.3, 4.4, 4.5, 4.6, 4.7, 4.8, 4.9, 4.10, 4.11). Plazmidlerin molekül ağırlıklarının 1.6 ile 30.1 kb arasında değiştiği görülmüştür. Suşların bazılarında birden fazla plazmid tespit edilmiştir (Çizelge 4.4). 19.3 kb büyüklüğündeki plazmid çeşidinin suşlar arasında en fazla bulanan plazmid olup 28 suşta tespit edilmiştir. Suşlar arasında 8 plazmid profili görülmüştür. Plazmid profilleri, marker'ın fragment büyüklükleri ile örneklerin plazmid büyüklüleri arasında tespit edilmiştir. Marker fragment büyüklüğü ile örneğin plazmid büyüklüğü arasındaki eşitlik plazmid profilini vermektedir. 86 ve 98 nolu suşlarda iki adet plazmid profili gözlenmiştir. Ayrıca 10 adet suş arasında genetik benzerlik tespit

edilmiştir (Çizelge 4.4). Genetik benzerlik agaroz jelde yan yana olan örneklerin, aynı büyüklükte bir veya daha fazla plazmid bandına sahip olmaları ve bu bandların marker bandları ile aynı büyüklükte olması ile belirlenir.

Çizelge 4.4. *Klebsiella pneumoniae* suşlarının plazmid profilleri, plazmid sayıları, genetik bezerlikleri ve ESBL durumları

*: ESBL üreten, bir ve daha fazla plazmid bulunduran suşlar

Suş	Plazmid Profili	Plazmid Sayısı	Plazmid Büyüklüğü (kb)	Genetik Benzerlik	ESBL Durumu
1					Negatif
2		1	20.3		Negatif
3*		5	19.3, 7.5, 6.0, 4.1, 2.9		Pozitif
4*		1	20.3	1	Pozitif
5	1	1	19.3	1	Negatif
6*		1	21.4		Pozitif
7	1	1	19.3		Negatif
8		1	21.4		Negatif
9		1	20.3		Negatif
10	1	4	19.3, 11.6, 3.7, 3.1		Negatif
11*		3	23.4, 3.2, 2.4		Pozitif
12*		2	20.3, 4.8,		Pozitif
13*		1	3.0		Pozitif
14*	1	2	19.3, 1.8		Pozitif
15					Negatif
16*	7	2	23.0, 2.3		Pozitif
17		1	21.7		Negatif
18		3	21.7, 4.9, 2.0		Negatif
19		2	26.6, 6.6		Negatif
20*		4	21.7, 5.2, 2.6, 1.6		Pozitif
21					Negatif

Çizelge 4.4'ün devamı

Suş	Plazmid Profili	Plazmid Sayısı	Plazmid Büyüklüğü (kb)	Genetik Benzerlik	ESBL Durumu
22					Negatif
23		1	21.7		Negatif
24					Negatif
25		1	1.7		Negatif
26					Negatif
27	7	2	19.3, 2.3		Negatif
28		1	14.7		Negatif
29					Negatif
30					Pozitif
31					Negatif
32*		1	17.0		Pozitif
33					Pozitif
34*		2	19.3, 1.9	1	Pozitif
35		1	17.0	1	Negatif
36*	1	1	19.3		Pozitif
37					Negatif
38					Pozitif
39		2	19.3, 1.9		Negatif
40					Negatif
41	1	1	19.3		Negatif
42					Negatif
43					Pozitif
44					Pozitif
45*		2	15.5, 9.7		Pozitif
46		2	21.6, 11.6		Negatif
47					Negatif
48*	1	1	19.3		Pozitif
49	1	1	19.3	1	Negatif
50	1	2	19.3, 11.6	1	Negatif

Çizelge 4.4'ün devamı

Suş	Plazmid Profili	Plazmid Sayısı	Plazmid Büyüklüğü (kb)	Genetik Benzerlik	ESBL Durumu
51	1	1	19.3		Negatif
52					Negatif
53	1	10	23.9, 19.3, 11.6, 6.2, 4.7, 4.1, 3.7, 2.4, 1.9		Negatif
54*		1	22.7		Pozitif
55					Negatif
56					Negatif
57*		3	17.4, 4.9, 1.6		Pozitif
58*		1	17.4		Pozitif
59		1	23.6		Negatif
60	1	1	19.3		Negatif
61					Pozitif
62		1	17.4		Negatif
63		1	17.4		Negatif
64		2	5.2, 2.6		Negatif
65*	1	2	31.1, 19.3		Pozitif
66	4	2	4.3, 2.1		Negatif
67		2	17.4, 3.7		Negatif
68		1	17.4		Negatif
69		1	17.4		Negatif
70		3	17.4, 4.6, 1.6		Negatif
71*	1	2	19.3, 3.5		Pozitif
72*		1	21.9		Pozitif
73	1	1	19.3		Negatif
74*	6	2	9.7, 2.7		Pozitif
75	2	3	17.4, 7.7, 2.9		Negatif
76		1	17.4		Negatif
77		2	17.4, 6.6		Negatif
78		1	19.3		Negatif
79*		1	15.5		Pozitif

Çizelge 4.4'ün devamı

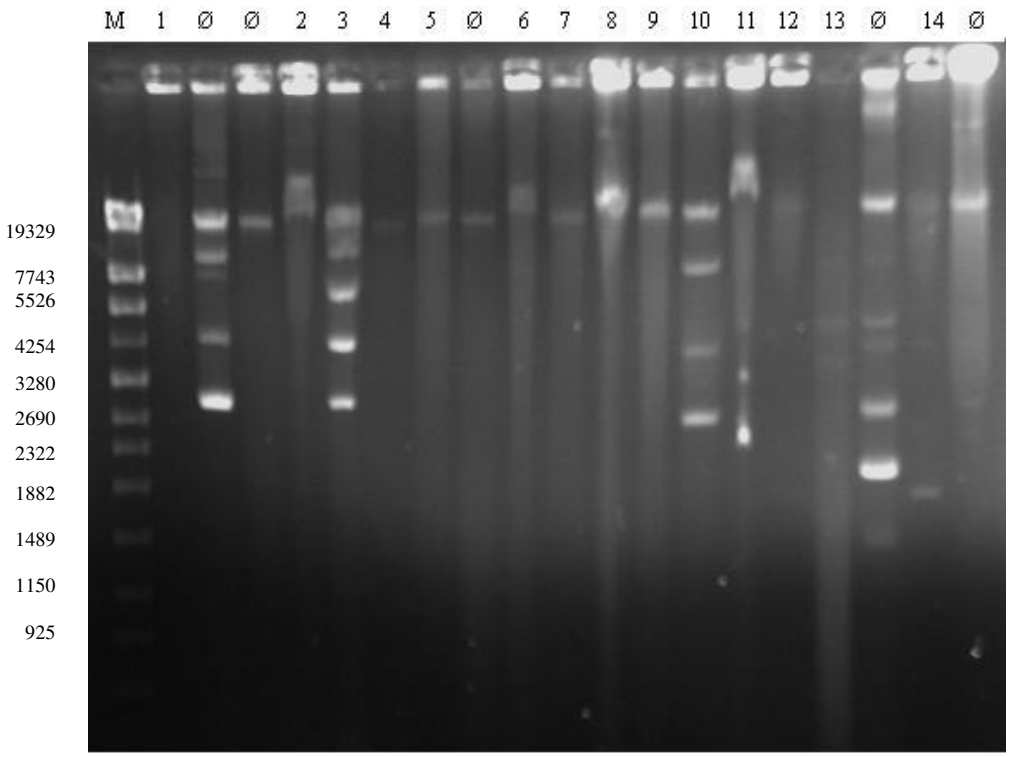
Suş	Plazmid Profili	Plazmid Sayısı	Plazmid Büyüklüğü (kb)	Genetik Benzerlik	ESBL Durumu
80		3	15.5, 3.9, 2.1		Negatif
81					Negatif
82					Negatif
83					Negatif
84					Negatif
85					Pozitif
86	1, 3	3	19.3, 9.7, 5.5		Negatif
87		2	17.4, 5.2		Negatif
88					Pozitif
89					Negatif
90		1	17.4		Negatif
91		1	17.4		Negatif
92		3	17.4, 2.4, 1.6		Pozitif
93					Pozitif
94		1	11.6		Negatif
95					Pozitif
96	1	6	30.1, 19.3, 9.7, 6.1, 3.0, 2.1		Negatif
97					Negatif
98*	3, 8	4	5.5, 4.9, 2.1, 1.9		Pozitif
99					Pozitif
100*	1	3	19.3, 6.1, 2.4	1	Pozitif
101	1	2	19.3, 1.7	1	Negatif
102		2	19.3, 1.9		Negatif
103					Negatif
104	5	2	17.0, 3.3		Negatif
105					Pozitif
106					Negatif
107*		1	17.0		Pozitif
108					Negatif

Çizelge 4.4'ün devamı

Suş	Plazmid Profili	Plazmid Sayısı	Plazmid Büyüklüğü (kb)	Genetik Benzerlik	ESBL Durumu
109					Pozitif
110					Negatif
111*		1	17.0		Pozitif
112*		1	17.0		Pozitif
113		4	25.3, 6.1, 2.6, 2.2		Negatif
114					Pozitif
115					Pozitif
116*	1	1	19.3	1	Pozitif
117*	1	1	19.3	1	Pozitif
118		2	4.7, 2.5		Negatif
119		1	17.3		Negatif
120					Negatif
121		2	9.7, 5.1		Negatif
122					Negatif
123	5	2	7.0, 3.3		Negatif
124	1	2	19.3, 4.0		Negatif
125					Negatif

kb: kilobaz

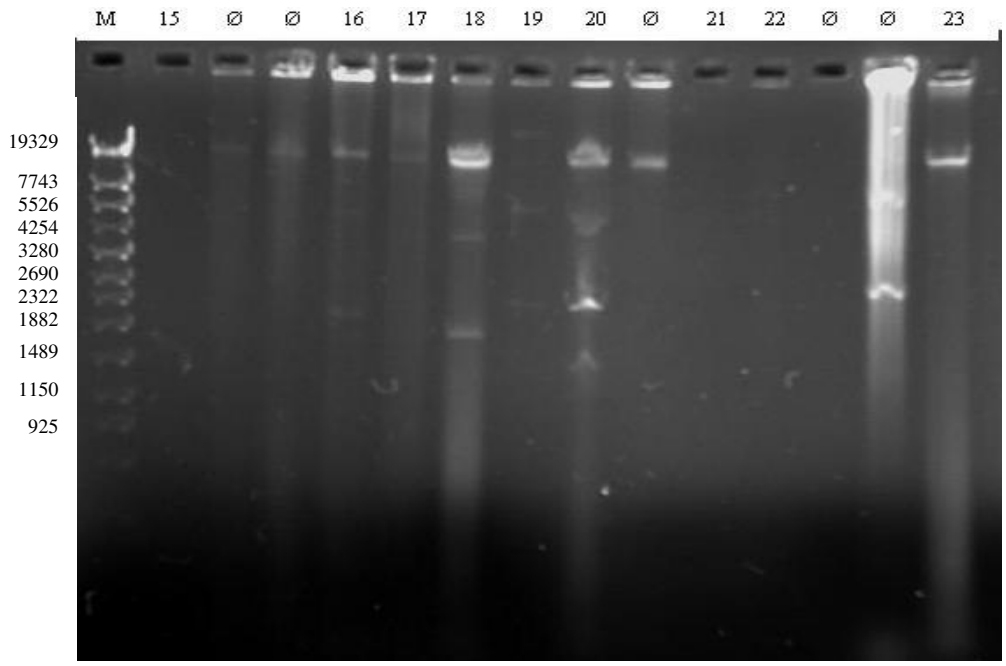
*: ESBL üreten, bir ve daha fazla plazmid bulunduran suşlar



Şekil 4.3. *K. pneumoniae* suşlarının Agaroz Jel Elektroforezinde belirlenen plazmid profilleri (1-14 nolu suşlar)

M: Marker: Lambda-pUC Mix marker 4 (Fermentas)

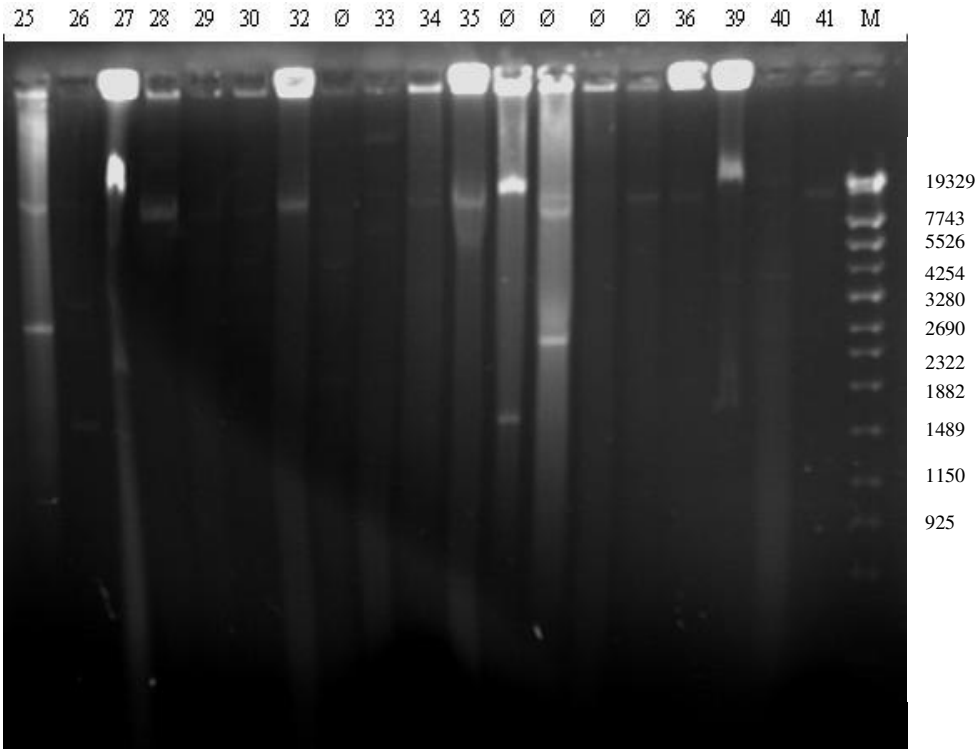
∅ : Üriner sistem dışından izole edilen örnekler (Bu örnekler daha sonra çalışmadan çıkarılmıştır.)



Şekil 4.4. *K. pneumoniae* suşlarının Agaroz Jel Elektroforezinde belirlenen plazmid profilleri (15-23 nolu suşlar)

M: Marker: Lambda-pUC Mix marker 4 (Fermentas)

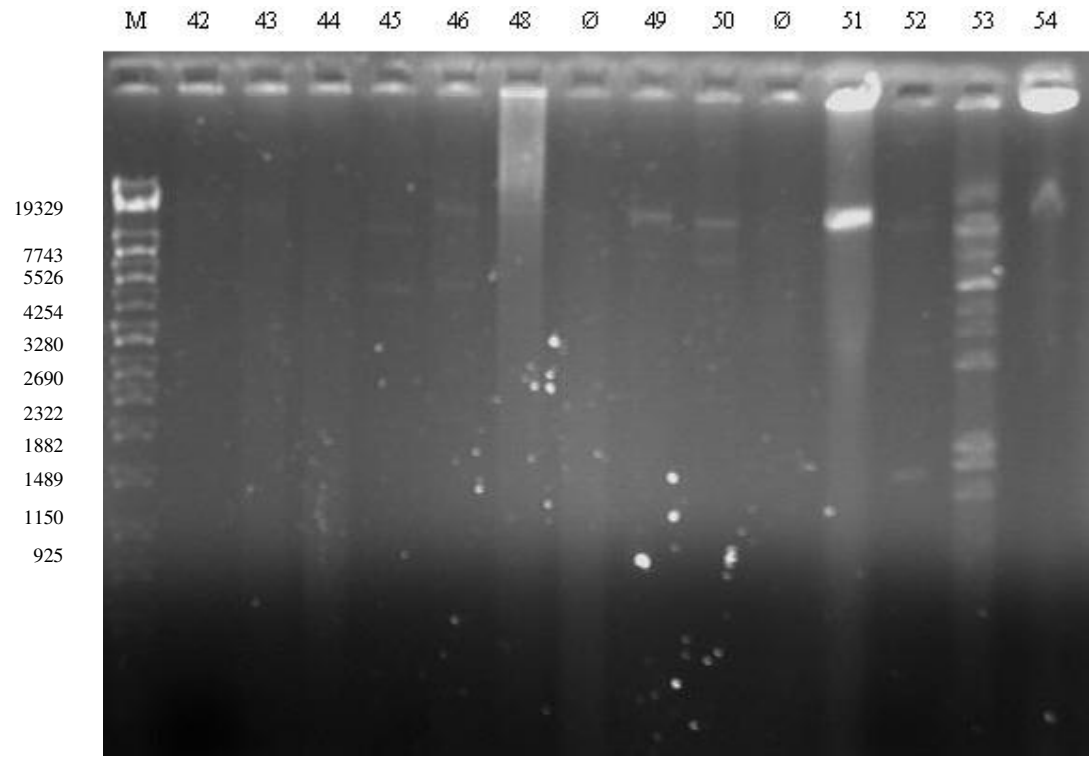
∅ : Üriner sistem dışından izole edilen örnekler (Bu örnekler daha sonra çalışmadan çıkarılmıştır).



Şekil 4.5. *K. pneumoniae* suşlarının Agaroz Jel Elektroforezinde belirlenen plazmid profilleri (25-41 nolu suşlar)

M: Marker: Lambda-pUC Mix marker 4 (Fermentas)

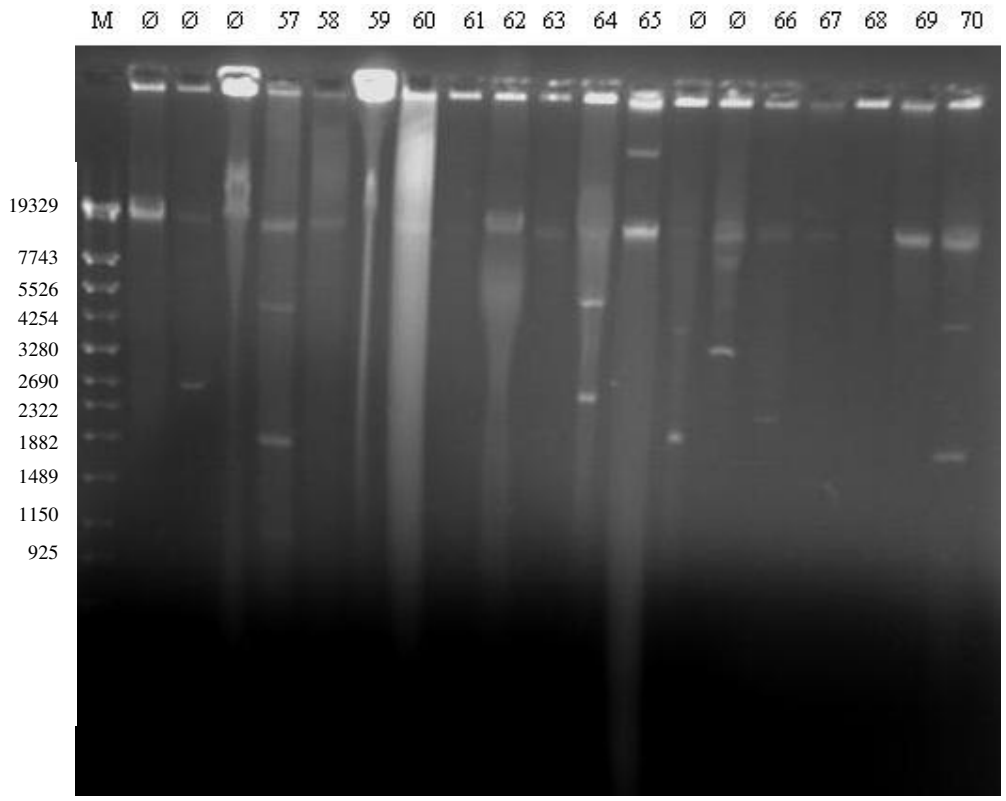
∅ : Üriner sistem dışından izole edilen örnekler (Bu örnekler daha sonra çalışmadan çıkarılmıştır).



Şekil 4.6. *K. pneumoniae* suşlarının Agaroz Jel Elektroforezinde belirlenen plazmid profilleri (42-54 nolu suşlar)

M: Marker: Lambda-pUC Mix marker 4 (Fermentas)

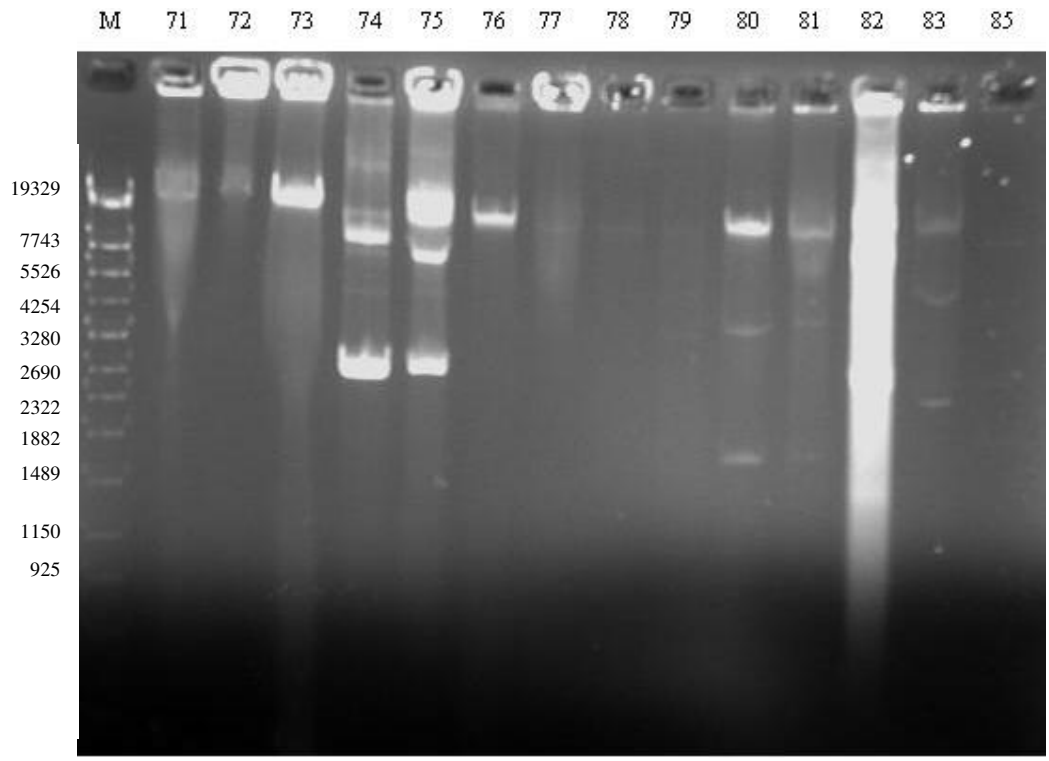
∅ : Üriner sistem dışından izole edilen örnekler (Bu örnekler daha sonra çalışmadan çıkarılmıştır).



Şekil 4.7. *K. pneumoniae* suşlarının Agaroz Jel Elektroforezinde belirlenen plazmid profilleri (57-70 nolu suşlar)

M: Marker: Lambda-pUC Mix marker 4 (Fermentas)

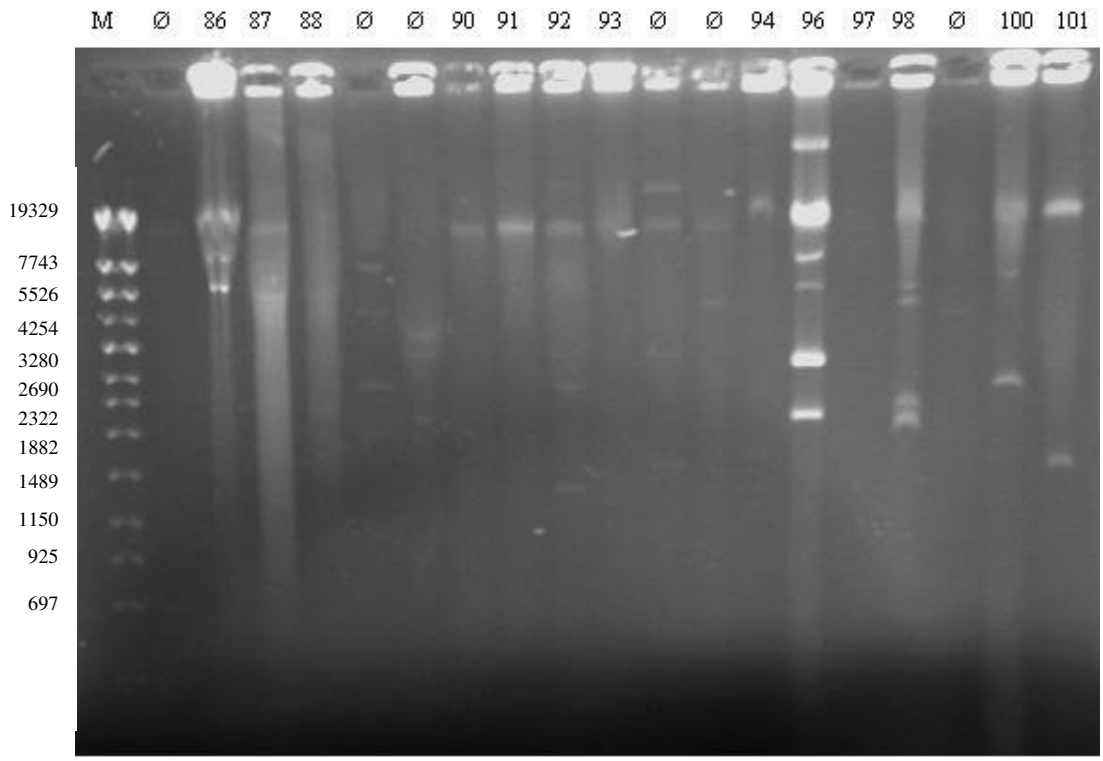
∅ : Üriner sistem dışından izole edilen örnekler (Bu örnekler daha sonra çalışmadan çıkarılmıştır).



Şekil 4.8. *K. pneumoniae* suşlarının Agaroz Jel Elektroforezinde belirlenen plazmid profilleri (71-85 nolu suşlar)

M: Marker: Lambda-pUC Mix marker 4 (Fermentas)

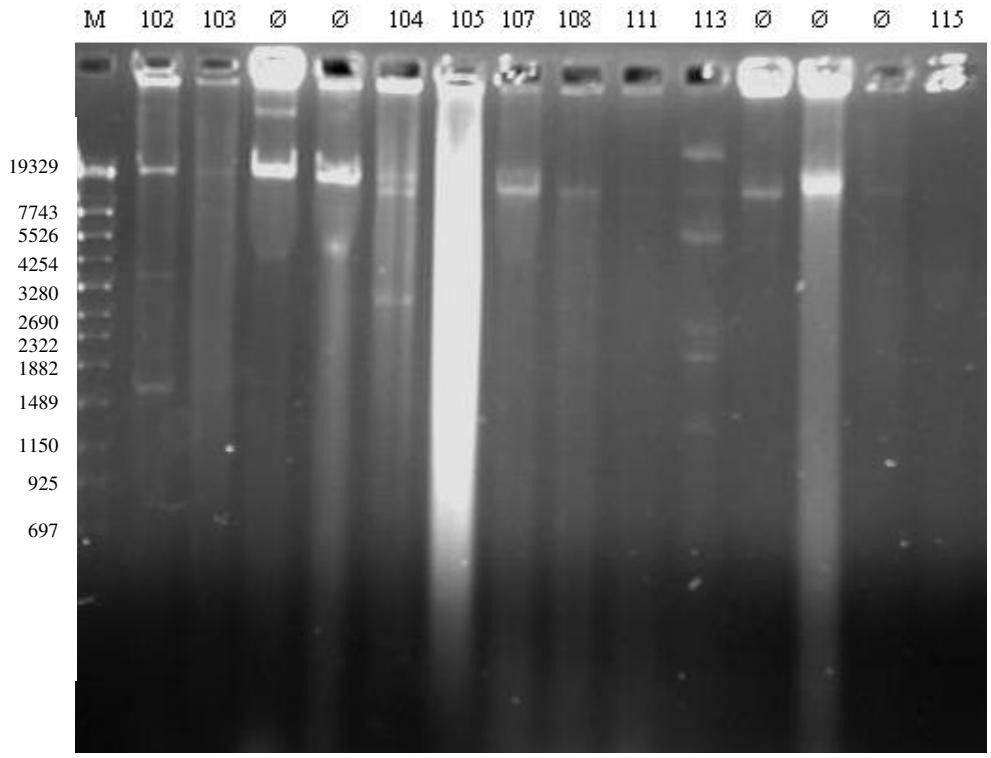
∅ : Üriner sistem dışından izole edilen örnekler (Bu örnekler daha sonra çalışmadan çıkarılmıştır).



Şekil 4.9. *K. pneumoniae* suşlarının Agaroz Jel Elektroforezinde belirlenen plazmid profilleri (86-101 nolu suşlar)

M: Marker: Lambda-pUC Mix marker 4 (Fermentas)

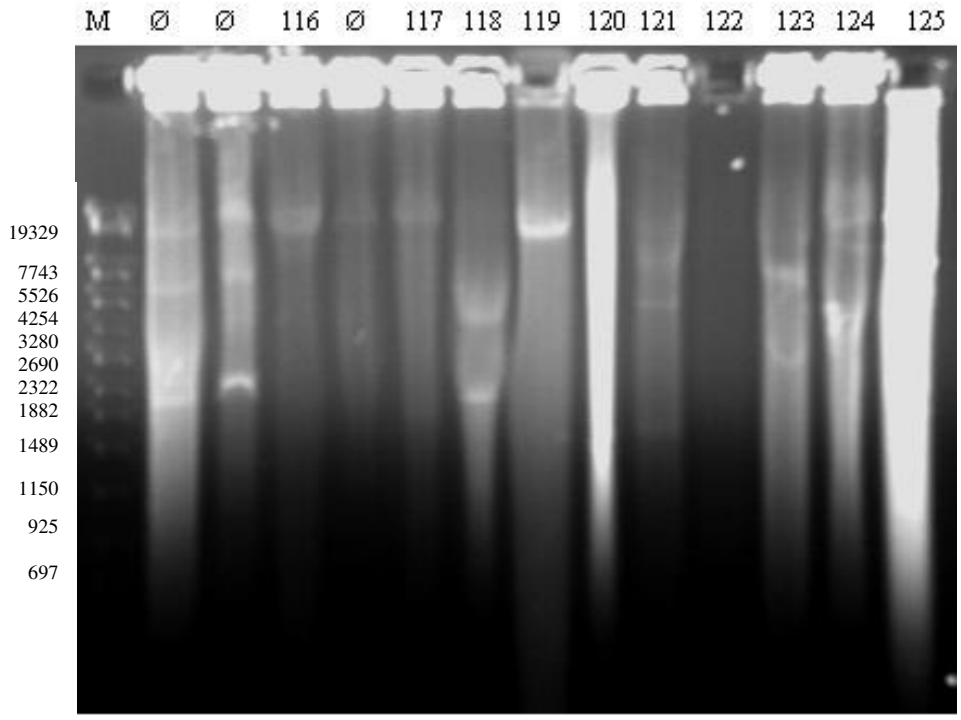
Ø : Üriner sistem dışından izole edilen örnekler (Bu örnekler daha sonra çalışmadan çıkarılmıştır).



Şekil 4.10. *K. pneumoniae* suşlarının Agaroz Jel Elektroforezinde belirlenen plazmid profilleri (102-115 nolu suşlar)

M: Marker: Lambda-pUC Mix marker 4 (Fermentas)

∅ : Üriner sistem dışından izole edilen örnekler (Bu örnekler daha sonra çalışmadan çıkarılmıştır).



Şekil 4.11. *K. pneumoniae* suşlarının Agaroz Jel Elektroforezinde belirlenen plazmid profilleri (116-125 nolu suşlar)

M: Marker: Lambda-pUC Mix marker 4 (Fermentas)

∅ : Üriner sistem dışından izole edilen örnekler (Bu örnekler daha sonra çalışmadan çıkarılmıştır.)

ESBL üreten 43 adet *K. pneumoniae* suşunun 30^{X} adedinde (% 69.8) plazmide rastlanırken bunların $13^{Ø}$ adedinde (% 30.2) plazmid görülmemiş ve suşların bir ile beş arasında plazmid taşıdıkları belirlenmiştir (Çizelge 4.5).

Çizelge 4.5. ESBL (+) ve (-) *K. pneumoniae* suşları ve taşıdıkları plazmid sayıları

Plazmid sayısı	ESBL (+) suş sayısı	ESBL (-) suş sayısı	Toplam suş sayısı
0	$13^{Ø}$ (% 10.4)	30 (% 24)	43 (% 34.4)
1	15^{X} (% 12)	26 (% 20.8)	41 (% 32.8)
2	8^{X} (% 6.4)	17 (% 13.6)	25 (% 20)
3	4^{X} (% 3.2)	5 (% 4)	9 (% 7.2)
4	2^{X} (% 1.6)	2 (% 1.6)	4 (% 3.2)
5	1^{X} (% 0.8)	-	1 (% 0.8)
6	-	1 (% 0.8)	1 (% 0.8)
10	-	1 (% 0.8)	1 (% 0.8)

%: Toplam suş sayısı ile oluşan oranlar

^{x}: Plazmid taşıyan suşlar

^{Ø}: Plazmid taşımayan suşlar

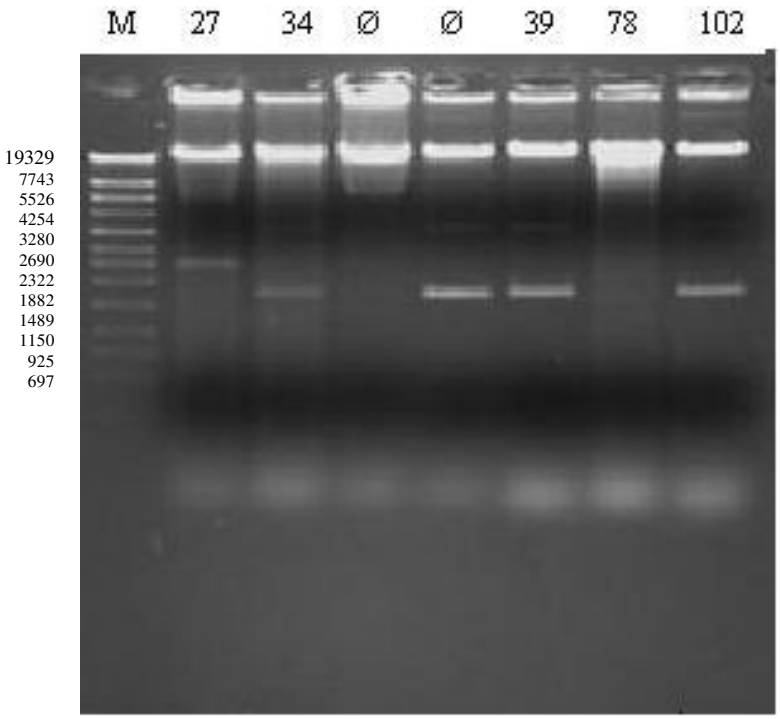
4.5. Konjugasyon deneyi sonuçları

Konjugasyon deneyi için verici suş olarak en az üç antibiyotiğe dirençli olan ve en az bir plazmid taşıdığı belirlenen 27, 34, 39, 78 ve 102 no'lu suşlar kullanılmıştır. Suşların plazmid sayıları ve büyüklükleri çizelge 4.1'de verilmiştir.

Yapılan konjugasyon deneyinde alıcı suş olarak Selçuk Üniversitesi Veteriner Fakültesi standart suş koleksiyonunda bulunan *Salmonella* spp. kullanılmıştır. Konjugasyon sonucunda aktarım yapılan alıcı suşlar izole edilip plazmid izolasyonları yapılmıştır. Konjugasyon sonrasında aktarımda kullanılan verici suşların (27, 34, 39, 78 ve 102 no'lu *K. pneumoniae* suşları), alıcı suşların ve alıcı

olarak kullanılan standart suşun (*Salmonella* spp.) plazmid izolasyonları yapılmıştır. Plazmid izolasyonu sonucunda alıcı suşların tümünde 19.3 kb büyüklüğünde plazmidler tespit edilmiştir. Alıcı suş olarak kullanılan *Salmonella* spp.'nin konjugasyon işlemi öncesi alınan pasajında plazmid izolasyonu yapılmış ve plazmide rastlanmamıştır. Böylece verici suşlardaki plazmidlerin alıcı suşlarına aktarıldığı gözlenmiştir (Şekil 4.13, Şekil 4.14).

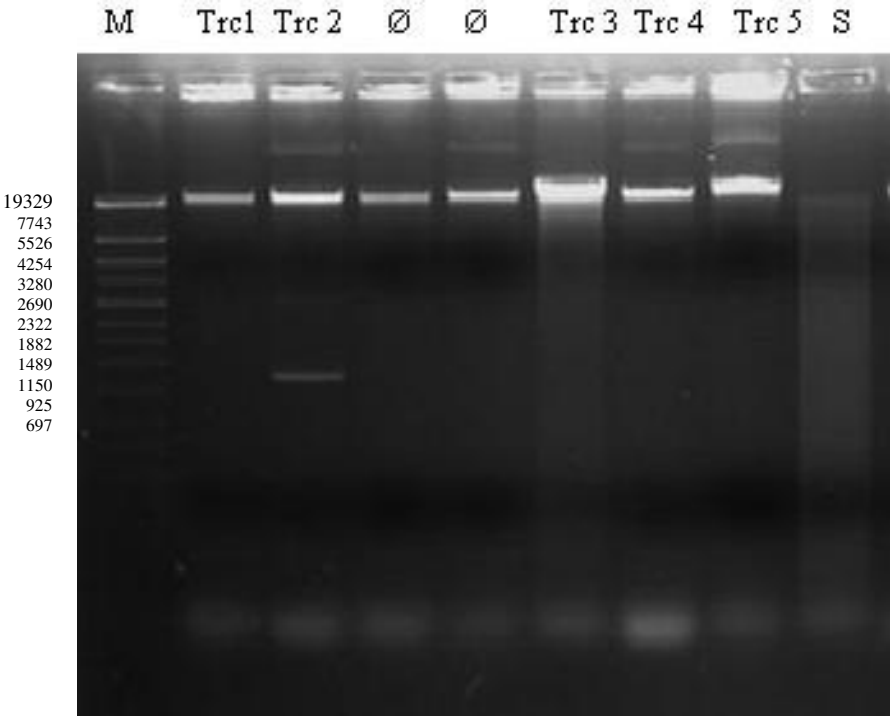
Alıcı suşlar, verici suşlar ve standart suşta yapılan ESBL deneyinde verici olarak kullanılan 34 no'lu suş hariç konjugasyona tabii tutulan bütün suşlarda ESBL varlığı tespit edilememiştir.



Şekil 4.12. *K. pneumoniae* suşlarının Agaroz Jel Elektroforezinde belirlenen plazmid profilleri (27, 34, 39, 78 ve 102 nolu verici suşlar)

M: Marker: Lambda-pUC Mix marker 4 (Fermentas)

∅ : Üriner sistem dışından izole edilen örnekler (Bu örnekler daha sonra çalışmadan çıkarılmıştır).



Şekil 4.13. Konjugasyona bırakılan alıcı suşların Agaroz Jel Elektroforezinde belirlenen plazmid profilleri

M: Marker: Lambda-pUC Mix marker 4 (Fermentas)

∅ : Üriner sistem dışından izole edilen örnekler (Bu örnekler daha sonra çalışmadan çıkarılmıştır).

Trc 1 : 27 nolu *K. pneumoniae* suşu ile *Salmonella* spp. transkonjugantı

Trc 2 : 34 nolu *K. pneumoniae* suşu ile *Salmonella* spp. transkonjugantı

Trc 3 : 39 nolu *K. pneumoniae* suşu ile *Salmonella* spp. transkonjugantı

Trc 4 : 78 nolu *K. pneumoniae* suşu ile *Salmonella* spp. transkonjugantı

Trc 5 : 102 nolu *K. pneumoniae* suşu ile *Salmonella* spp. Transkonjugantı

S: *Salmonella* spp. (Standart suş)

5. TARTIŞMA

Çalışmada, 125 *Klebsiella pneumoniae* suşunun 124'ü (% 99.2) penicilline dirençli bulunurken, 120'sinin (% 96) ampicilline direnç gösterdiği tespit edilmiştir.

Ulutürk ve ark. (2000), idrar yolu enfeksiyonlu hastalardan izole ettikleri *K. pneumoniae* suşlarının hemen hemen tümünün ampicilline direnç gösterdiğini saptamışlardır. Rahman ve ark. (2004)'da, *K. pneumoniae* suşlarının % 95.5'inin ampicilline dirençli olduklarını gözlemişlerdir. Finkelstein ve ark. (1998), üriner sistem enfeksiyonlarından izole ettikleri *Klebsiella* spp. suşlarının ampicillin direncini % 93 olarak ortaya koymuşlardır. Ay ve ark. (2003), gram negatif bakteriler ile yaptıkları çalışmada *Klebsiella* türlerinin ampicillin direncini % 91 oranında belirlemişlerdir.

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

Poirel ve ark. (2004), İstanbul Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesinden izole edilen *K. pneumoniae* suşlarından identifiye ettikleri OXA-48 tipi β-laktamaz enziminin penicillinler tarafından hidrolize edildiğini saptamışlardır.

Penicillin ve ampicilline karşı direncin yüksek olmasının nedeni; R faktörleri tarafından kodlanan penisilinaz enziminin bu antibiyotikleri inhibe etmesinden kaynaklandığı sanılmaktadır (Sawai 1973).

Yaptığımız çalışmada, *K. pneumoniae* suşlarından ESBL üretenlerin % 17.8'i, ESBL üretemeyenlerin ise % 20'si chloramphenicole direnç göstermişlerdir.

Kim ve ark. (2005), üriner sistemden elde ettikleri ESBL üreten *Klebsiella* spp. suşlarının chloramphenicole direncini % 21, ESBL üretemeyen suşların chloramphenicole direncini ise % 17 bulmuşlardır. Karbasizaed ve ark. (2003)

nazokomiyal enfeksiyona neden olan koliformlardan *Klebsiella pneumoniae*'nin chloramphenicole direncini % 30 olarak bulmuşlardır. Küçükateş ve Kocazeybek (2002), nazokomiyal solunum sistemi enfeksiyonlu hastalardan elde ettikleri *Klebsiella* spp. suşlarının chloramphenicol direncini % 59.4 olarak belirlemişlerdir. Manchanda ve ark. (2005), çeşitli klinik örneklerden izole ettikleri *K. pneumoniae* suşlarının chloramphenicole direnç oranını % 49.6 tespit etmişlerdir.

Seid ve Asrat (2005), Etiyopya'da çeşitli klinik materyallerden izole ettikleri ESBL üreten *Klebsiella* spp. suşlarının chloramphenicol direncini %94.7 olarak tespit ederken, ESBL üretmeyen suşların chloramphenicol direncini %58 olarak gözlemlemişlerdir.

Chloramphenicol direncinin nazokomiyal infeksiyonlara neden olan örneklerden elde edilen *K. pneumoniae*'larda daha yüksek ve bu oranların da her geçen yıl daha arttığı gözlenmektedir. İzole ettiğimiz *K. pneumoniae* suşları hastaneye çeşitli nedenlerle müracaat eden hastalardan alınan idrar örneklerinden izole edildiği için direnç oranı daha düşük bulunmuştur. Yapılan bazı çalışmalarda (Kim ve ark. (2000), Karbasizaed ve ark. (2003)) elde ettiğimiz sonuçlara yakın sonuçlar elde edilmiştir.

Çalışmamızda; aminoglikozid grubu antibiyotiklerden amikacin direnci ESBL üreten suşlarda % 2.2, ESBL üretemeyen suşlarda % 20, streptomycin direnci ESBL üreten suşlarda % 17.8, ESBL üretemeyen suşlarda % 35 ve gentamicin direnci ise ESBL üreten suşlarda % 8.9, ESBL üretmeyen suşlarda % 56.3 oranında tespit edilmiştir (Çizelge 4.3).

Kim ve ark.(2002), çeşitli klinik materyallerden izole etikleri, ESBL üreten suşların amikacine direncini % 9.1, ESBL üretemeyen suşlar arasındaki amikacin direncini % (0) olarak gözlemişlerdir.

Finkelstein ve ark. (1998), üriner sistemden izole edilen *Klebsiella* suşlarında gentamicin direncini % 10 olarak tespit etmişlerdir. H.Ü. Tıp Fakültesi Hastanesinde yapılan bir çalışmada gram negatif bakterilerin gentamicin direnci % 54 olarak tespit edilirken, amikacin direnci % 0.9 gibi çok küçük oranda gözlenmiştir (Akalın ve ark. 1988). Shehabi ve ark. (2000), 3 yıl ara ile üriner sistem ve diğer klinik materyallerden izole ettikleri *Klebsiella* spp. suşlarının 1994 yılında amikacin direncini % 8 bulurken 1997 yılında bu direnci % 16 olarak görmüşlerdir. Ay ve ark.

(2003), çalışmalarında *Klebsiella* spp. suşlarının amikacin direncini % 20, gentamicin direncini ise % 30 olarak belirlemişlerdir.

Borer ve ark. (2002), Güney İsrail'de Enterobacteriaceae familyası üyesi bakterilerde yaptıkları araştırmada; ESBL üreten bakterilerin % 66.6'sının gentamicine, % 23.3'ünün amikacine dirençli olduğunu gözlerken, ESBL üretmeyen suşların gentamicin direncini % 2,7 ve amikacin direncini ise çok düşük düzeyde (% 0.9) bulmuşlardır.

Babini ve Livermore (2000), ESBL üreten *K. pneumoniae* suşlarının % 61'ini amikacine, % 72'sini gentamicine dirençli olarak bulmuşlardır. Günseren ve ark. (1999), ESBL üreten suşların amikacin direncini % 58.7 olarak belirlerken ESBL üretmeyen suşların amikacin direncini % 34.6 olarak belirlemişlerdir. Leblebicioğlu ve ark. (2002) 16 merkezden alınan, ESBL varlığı tespit edilen *K. pneumoniae* suşlarının amikacine direncinin % 54 olduğu sonucuna varmışlardır.

Villages ve ark. (2004), yaptıkları bir çalışmada ESBL üreten *K. pneumoniae* suşlarının amikacine direncini % 48.1 olarak gözlemişlerdir. Kim ve ark. (2005), ESBL pozitif *Klebsiella* spp. cinsi bakterilerin streptomycin, gentamicin ve amikacin dirençlerini sıra ile % 52, % 48 ve % 30 ESBL negatif olanların dirençlerini ise % 17, % 50 ve % 33 olarak belirlemişlerdir.

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

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

Aminoglikozid grubu antibiyotiklerden amikacin, streptomycin ve gentamicine karşı *K. pneumoniae* suşlarının gösterdikleri direnç, yapılan diğer çalışmalardan elde edilen sonuçlardan daha düşük bulunmuştur. Yalnızca ESBL üretemeyen *K. pneumoniae* suşlarının gentamicine karşı gösterdikleri direnç ile paralellik göstermektedir. Ayrıca ESBL üreten suşların amikacine gösterdikleri direnç çok düşük orandadır (Çizelge 4.3).

Direnç oranlarının düşük olması çalışma örneklerimizin hastane enfeksiyonlarından izole edilmemesinden kaynaklandığı düşünülmektedir.

Çalışmada, sefalosporin grubu antibiyotiklerden ceftazidim direnci ESBL üreten sular için % 11.1 ESBL üretemeyen suşlar için ise % 33.8 olarak belirlenmiştir. Cefotaxime ESBL üreten suşların direnci % 17.8 iken ESBL üretemeyen suşlar için bu oran %43.8 olarak tespit edilmiştir. Ceftriaxona ESBL üreten suşların % 15.6'sı, ESBL üretemeyen suşların ise % 32.5'i dirençli bulunmuştur.

Quale ve ark. (2002), üriner sistem ve diğer klinik örneklerden izole ettikleri ESBL (+) *K. pneumoniae* suşlarının ceftazidime karşı direncini % 28 olarak belirlemişlerdir. Jacoby ve Han (1996), üriner sistem ve çeşitli klinik örneklerden izole ettikleri ESBL (+) bakterilerin cefotaxime karşı direncini % 23, ceftazidime direncini ise % 68 olarak belirlemişlerdir.

Ay ve ark. (2003), çalışmalarında üriner sistem ve diğer klinik materyallerden izole ettikleri *K. pneumoniae* suşlarına karşı oluşan ceftazidim direncini % 5 ve ceftriaxon direncini ise % 20 oranında bulmuşlardır.

Shehabi ve ark. (2000) çeşitli klinik örneklerden izole ettikleri *K. pneumonaie* suşlarının cefotaxim direncini 1994 yılında % 29, 3 yıl sonra % 30 olarak, ceftriaxon direncini 1994 yılında %33, 1997 yılında %40, ceftazidim direncini 1994 yılında % 29, 3 yıl sonra % 80 olarak tespit etmişler cefotaxim ve ceftriaxon dirençleri çok değişmezken ceftazidim direncinin yüksek oranda arttığı sonucuna varmışlardır.

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

Tankhiwale ve ark. (2004), üropatojen gram negatif basillerin ceftazidime % 41 oranında direnç gösterdiğini, cefotaxime karşı direnç gösteren suşların % 48.3'ünün ESBL (+), % 51.7'sinin ESBL (-) olduğu sonucuna ulaşmışlardır.

Aksaray ve ark. (2000) *Klebsiella* spp. suşlarının ceftazidime % 73 ceftriaxona % 69 oranında dirençli olduğunu belirlemişlerdir.

Sonuçlarımız nazokomiyal enfeksiyonlarından izole edilen *K. pneumoniae* suşlarının ceftazidim, cefotaxim ve ceftriaxona karşı oluşturdukları dirençten daha düşüktür. Bu sonuçlar değerlendirildiğinde, sefalosporin grubu antibiyotiklerin üriner

sistem enfeksiyonları ve diğer enfeksiyonlar için aşırı kullanımının, bu antibiyotiklere karşı dirençliliğin artmasına neden olduğu görülmektedir.

Çalışmamızda *K. pneumoniae* suşlarının ciprofloxacin direnci, ESBL üreten suşlarda % 17.8 ESBL üretmeyen suşlarda ise % 21.3 olarak tespit edilmiştir (Çizelge 4.3).

Finkelstein ve ark. (1998), üriner sistemden izole edilen *Klebsiella pneumoniae* suşlarında ciprofloxacin direncini %3 olarak tespit etmişlerdir. Yu ve ark. (2004), üriner sistem ve diğer klinik materyallerden izole ettikleri *K. pneumoniae* bakterilerinin ESBL üreten suşlarının ciprofloxacin direncini % 23, Jan ve ark. (1998) % 20 olarak bulmuşlardır. Kim ve ark. (2002), nazokomiyal enfeksiyonu gelişen hastalardan izole ettikleri ESBL üreten *K. pneumoniae* suşlarının % 43.2'inin ciprofloxacine dirençli, ESBL üretemeyen suşlarının ise direncini % 3.4 olarak tespit etmiştir.

Gossens ve ark. (2001), ESBL üreten mikroorganizmaların ciprofloxacine yüksek oranda dirençli bulmuşlardır. *K. pneumoniae* için % 74.1, *E. coli* için % 66.7 iken ESBL üretemeyen suşların ciprofloxacin direnci *K. pneumoniae* için % 6.7, *E. coli* için ise % 32.5 olarak belirlemişlerdir.

Paterson ve ark. (2000), ESBL üreten *K. pneumoniae* suşlarının ciprofloxacine % 60 dirençli oldukları, Günseren ve ark.'da (1999), ESBL üreten suşların ciprofloxacine karşı direncin % 51.8 üretemeyenlerinkini ise % 28.4 olarak bulmuşlardır. Rahman ve ark. (2004), idrar yolu enfeksiyonuna neden olan *K. pneumoniae* suşlarının ESBL pozitif olanlarının ciprofloxacine direncini % 63.9 olarak tespit etmişlerdir.

SENTY Antimicrobial Surveillance programının 1997-1999 raporuna göre; ESBL üreten *K. pneumoniae* suşlarının ciprofloxacin direnç oranı Kanada'da % 22.2, Avrupa'da % 24.3, Latin Amerika'da % 23.1, ABD'de % 34.6, Batı Pasifikte % 44.2 olarak rapor edilmiştir (Winkour ve ark. 2001).

Ciprofloxacin direnç oranları, kullanılan sefalosporin grubu antibiyotiklerin direnç oranları ile benzerlik gösterdiği, Ciprofloxacin direnç oranlarının çok değişik ve her geçen yıl bu oranların artmasının sefalosporinlerde olduğu gibi, bilinçsiz ve yanlış antibiyotik kullanımından kaynaklandığı bildirilmiştir (Ulutürk ve ark. 2000).

Çalışmamızda; ESBL (+) *K. pneumoniae* suşlarının sulbactam/cefoperazona karşı direnç oranları % 2.2, ESBL (-) olan suşların direnç oranları ise % 8.6 olarak görülmüştür (Çizelge 4.3).

Rahman ve ark. (2004), idrar yolu enfeksiyonlarına neden olan *K. pneumoniae* suşlarının sulbactam/cefoperazona karşı direncini % 25.8 olarak saptamışlardır. Küçükateş ve Kocazeybek (2002), nazokomiyal solunum sistemi enfeksiyonlu hastalardan elde ettikleri *Klebsiella* spp. suşlarının sulbactam/cefoperazona karşı direncini %31.2 Dandekar ve ark. (2004), bu antibiyotiğe karşı direnci % 40.8 olarak tespit etmişlerdir. Mohanty ve ark. (2005), üriner sistem ve diğer klinik örneklerden izole ettikleri gram negatif bakterilerle yaptıkları çalışmada; ESBL pozitif mikroorganizmaların sulbactam/cefoperazona karşı direnç oranını % 24, bu çalışma içinde yer alan *Klebsiella* spp. suşlarının sulbactam/cefoperazona karşı direncini % 17.5 olarak belirlemişlerdir. Sulbactam/cefoperazona direnç oranları diğer çalışmalarda daha yüksek olduğu görülmektedir.

Yaptığımız çalışmada, üriner sisteminden izole ettiğimiz 125 *Klebsiella pneumoniae* suşunun 45'inin (% 36) ESBL (+) ve 80'inin (% 64) ESBL (-) olarak görülmüştür (Çizelge 4.3).

Babypadmani ve Appalaraju (2004), üriner sistemden elde ettikleri 58 *K. pneumoniae* suşlarının % 40'ının ESBL (+) olarak bulurken, Rahman ve ark. (2004), bu oranı % 48.1 olarak belirlemişlerdir.

Bonfiglio ve ark. (2002), Enterobacteriaceae familyası üyeleri arasında yaptıkları çalışmada; *K. pneumoniae* suşlarının % 20.5 oranında ESBL ürettiklerini ve ESBL üreten suşların da % 46.4'ünün üriner sitem enfeksiyonlarından elde edilen suşlar olduğunu bildirilmiştir.

MYSTIC (Meropenem Yearly Suspectibility Test Information Collection) grubun raporuna göre Kuzey Amerika'da ESBL üreten *K. pneumoniae* suş oranları % 12.3; Güney Amerika'da % 51.9; Kuzey Avrupa'da % 16.7; Batı Avrupa'da % 58.7 tespit edilirken, Asya Pasifikte % 28.2 olarak belirtilmiştir. ESBL fenotiplerinin Doğu Avrupa ülkelerinde, Avrupa'nın diğer ülkelerine göre daha fazla olduğu tespit edilmiştir. ESBL üreten suşların Türkiye'deki yoğun bakım ünitelerinde çok yüksek

(% 57) olduğu belirtilmiştir. Bu oran Almanya'da % 36, Belçika'da % 30, İngiltere'de % 30 olarak tespit edilmiştir (Turner 2005, Jones ve Pfaller 2003).

Kim ve ark. (2002) 162 *K. pneumoniae* suşunun 44'ünün (% 27.2) ESBL ürettiğini tespit ederken, Quale ve ark. (2002) ESBL üreten suş oranını % 34 olarak saptamışlardır.

Seid ve Asrat (2005), balgam, idrar ve cerahatten izole ettikleri *Klebsiella* spp. suşlarının % 33.3'ünde ESBL varlığını tespit etmişlerdir. ESBL üreten suşların % 58'i balgamdan, % 37.0'si idrardan ve %5'i cerahatten elde edilen suşlar olduğunu bildirilmiştir.

Çalışmamızda; 125 *K. pneumoniae* suşunun 82'sinde (% 65.6) plazmid tespit edilirken 43'ünde (% 34.4) plazmide rastlanmamıştır. Suşlardaki plazmid sayıları 1-10 arasında değişmiştir. Plazmid büyüklükleri 1.6 - 30.1 kb arasında ölçülmüş ve 19.3 kb büyüklüğündeki plazmid çeşidine en çok rastlanmıştır (Çizelge 4.4).

Lopes ve ark. (2005), Brezilya'da 1999-2000 yılları arasında 3 hastanenin yenidoğan ünitesindeki üriner sistemden ve kan örneklerinden izole ettikleri *K. pneumoniae* suşlarının % 90'nında plazmid tespit etmişlerdir.

Karbasizaed ve ark. (2003) *E. coli* ve *K. pneumoniae* suşlarında benzer plazmid profillerinin görüldüğünü, R plazmidi taşıyan bakteri suş oranının % 68.4 olduğunu ve konjugasyon yolu ile aktarılabilen bu plazmid büyüklüklerinin daha çok 56 kb büyüklükte olduklarını tespit etmişlerdir.

Yuan ve ark. (2000), izoelektrik fokuslama yöntemi ile β-laktamazları belirlenmiş suşlarda 170 kb, 100 kb, 66 kb, 50 kb, 38 kb, 3.5 kb ve 3.1 kb'lık plazmidler bulmuşlardır. Alıcı suş olarak *E. coli K-12* suşunu kullanarak yaptıkları konjugasyon deneyinde, alıcı suşa 170 kb'lık plazmid tipinin aktarıldığını, ESBL (+) suşun, sefalosporinlere ve gentamicine direnç kazandığını görmüşlerdir.

Girlich ve ark. (2001), 150 - 210 kb büyüklüğündeki plazmidleri izole ettikleri *K. pneumoniae* suşlarının tümünün chloramphenicole dirençli olduğunu belirlemişlerdir.

Subha ve Ananthan (2002), çalışmalarında ceftazidim, cefotaxim, ceftriaxon ve gentamicin direncinin alıcı bakterilere transfer edilebildiğini, ESBL üretiminin 80 - 160 kb arasında büyüklüğe sahip plazmidler tarafından kodlandığını ortaya

koymuşlardır. Kim ve ark. (1998), SHV tipi β-laktamazların 64 - 121 kb arası büyüklükte plazmidler tarafından kodlandığını ortaya koymuşlardır.

Rasheed ve ark. (2000), hastane kaynaklı ESBL üreten tek bir *K. pneumoniae* K6 (ATCC 700603) suşunu incelenmiş ve bu kökende SHV-18 geninin tespit etmişlerdir. Bu suşun plazmid profilinin 80-160 kb arasında bulunduğunu ve 80 kb büyüklüğündeki plazmidin ESBL üretiminden sorumlu olduğunu belirtmişlerdir.

ESBL üretimi ve antibiyotik dirençliliği ile ilgili plazmidlerin 50-150 kb büyüklüğündeki plazmidler oldukları görülmektedir.

Çalışmada, izole ettiğimiz plazmidler 1.6- 30.1 kb büyüklüğündeki küçük plazmidlerdir. Belirlenmiş olan bu plazmidler ile antibiyotik dirençliliği ve ESBL üretimi arasında bir korelasyon tespit edilememiştir (Çizelge 4.4). Lopes ve ark. (2005), çalışmalarında 3.4 büyüklüğündeki plazmidlerin gentamicin direncinden sorumlu olduğunu belirtirken aldığımız sonuçlar aynı yönde olmamıştır.

Çalışmamızda, plazmid profilleri belirlenmiş cefotaxim, ceftazidim ve ceftriaxona dirençli bulunan *K. pneumoniae* suşları konjugasyona sokulmuştur. Çoklu dirençli bu suşlar (27, 34, 39, 78 ve 102 nolu suşlar) plazmidlerini alıcı suş olan *Salmonella* spp.'ye aktarmışlardır. Daha sonra yapılan plazmid profili kontrolünde, verici suşların en büyük plazmidlerini (19.3 kb) alıcı suşa aktardığı görülmüştür. 34 nolu verici suş hariç konjugasyona sokulan tüm suşlar ESBL (-) bulunmuştur.

Chanal ve ark. (1988) solunum sistemi sekresyonları ve kandan izole ettikleri *K. pneumoniae* suşlarında ve alıcı suş olarak kullandıkları *E. coli* K12'de 85 kb büyüklüğünde streptomycine dirençli CAZ-1 ve TEM-5 tipinde ESBL üreten, 150 kb büyüklüğünde streptomycin ve amikacine dirençli CAZ-2, CAZ-3, CAZ-6, CAZ-7, CTX-1 ve TEM-3 tipinde ESBL ürettiklerini tespit etmişlerdir.

Shannon ve ark. (1998), yaptıkları çalışmada β-laktamaz enzimlerinin SHV-5 tipindeki β-laktamaz enzimleri olduğunu, bunların yaklaşık 160 kb büyüklüğünde plazmidler tarafından kodlandığını ve *E. coli* K-12'ye konjugasyon yoluyla transfer edilebildiği ve *E coli* için SHV-5 tipi enzimin aminoglikozidlere karşı dirençten sorumlu olduğu sonucuna varılmıştır.

Prodinger ve ark. (1996), *K. pneumoniae* suşlarında 80 kb büyüklüğünde SHV-5 tipinde β-laktamaz enzimini belirlerken, SHV-5'i oluşturan enzimlerin

aktarılabildiğini ve alıcı suşlarda da aynı tip enzimin üretildiğini belirlemişlerdir. Mandal ve ark. (2004), *Salmonella typhi, K. pneumoniae, E. coli* ve *Proteus vulgaris* gibi bakterileri suşları arasında ampicillin, chloramphenicol, ciprofloxacin, tetracylin, cotrimoxazole ve nalidixic acid direncinden sorumlu R plazmidlerinin aktarılabildiğini ortaya koymuşlardır.

Diğer çalışmaların büyük bir çoğunluğunda alıcı suş olarak *E. coli* tercih edilmiştir. Genellikle alıcı suşlara plazmid aktarımlarını başarı ile gerçekleştirmişlerdir. Alıcı suşlarda plazmid aktarımından sonra suşların ESBL ürettikleri tespit edilmiştir. Bizim çalışmamızda alıcı suş olarak *Salmonella* spp. kullanılmıştır ve plazmid aktarımı gerçekleştirilmiştir.

Mandal ve ark. (2004)'da, verici suş olarak kullandıkları *K. pneumoniae'*nin *Salmonella typhi*'ye plazmid aktardığını ortaya koymuşlardır. Fakat alıcı suşların ESBL üretimlerinde herhangi bir değişiklik olmamıştır. Aktarılan plazmidlerin büyük plazmidler olmaması nedeniyle ESBL üretiminde herhangi bir değişikliğin gerçekleşmediği kanısına varılmıştır.

6. SONUÇ VE ÖNERİLER

İdrar yolu enfeksiyonlarına yol açan etkenler içinde Enterobacteriaceae üyelerinin payı % 70'in üzerindedir. Hastane dışı idrar yolu enfeksiyonlarına sıklıkla *E. coli* ve *K. pneumoniae* türleri ve diğer enterik bakteriler neden olurken hastane kaynaklı enfeksiyonlara *E. coli*, *K. pneumoniae*, *Proteus mirabilis*, Stafilokoklar, diğer enterik bakteriler, *Pseudomonas aeruginosa* ve enterekoklar neden olmaktadır (Ay ve ark. 2003).

Hastaneye tedavi amaçlı gelen ve hastanede yatan hastalarda gelişen üriner sistem enfeksiyonlarında etken olan mikroorganizmaların türleri ile antibiyotik duyarlılıkları farklılık gösterebilmektedir.

Çalışma amacımızdan biri, idrar yolu enfeksiyonlarına neden olan *K. pneumoniae* suşlarının antibiyotik duyarlılıkları ve ESBL oranlarını belirlemekti. Çalışmamızda, izole ettiğimiz *K. pneumoniae* suşlarında yaptığımız antibiyotik duyarlılık testinde penicilline (% 92.2) ve ampicilline (% 96) oranında direnç belirlenmiştir. Diğer antibiyotiklere direnç oranları; Chloramphenicole % 16.8, amikacine % 8, streptomycine % 22.4, gentamicin %15.2, cefotaxim ve ceftazidime % 22.4, ceftriaxon ve ciprofloxacine % 19.2 ve sulbactam/cefoperazon % 5.6 olarak tespit edilmiştir. Sonuçlarımız genel olarak diğer araştırma sonuçlarından daha düşük tespit edilmiştir. Direnç oranlarımızın düşük olması çalışma grubumuzun nazokomiyal infeksiyonlu hasta grubu olmamasıdır. Ayrıca toplumumuz ve sağlık çalışanlarımızın gün geçtikçe gereksiz ve bilinçsiz antibiyotik kullanımı konusunda bilinçlendikleri ve bu konuda yapılan çalışmaların sonuç verdiğini düşünmekteyiz.

Araştırmamızda elde ettiğimiz ESBL oranı hastane enfeksiyonlu hastalarda görülen ESBL oranlarından daha düşük olduğu gözlenmiştir. ESBL'nin özellikle hastane enfeksiyonlarında önemi daha da artmaktadır. Bu da tedavide zamanı ve maliyeti artırmaktadır. Ayrıca sağlık çalışanlarının iş gücü kaybına neden olmaktadır. Bunun yanı sıra daha da önemlisi hastane enfeksiyonları ölümle sonlanabilmektedir.

Araştırmamızda diğer bir amacımız da plazmid büyüklüklerini belirlemek ve bunların antibiyotik dirençliliği ve ESBL üretimi ile ilişkisini tespit etmekti. *K. pneumoniae* suşlarının % 65.6'sında bir veya daha fazla plazmid belirlenirken bu suşların da % 34.4'ü ESBL üreten suşlar olduğu görülmüştür. İzole edilen plazmidlerin büyüklükleri 1.6 - 30.1 kb arasında olduğu ortaya konmuştur. Bunun yanı sıra 8 adet profil belirlenirken 10 suşta da genetik yakınlık tespit edilmiştir.

Yapılan araştırmada plazmid büyüklükleri ve sayısı ile antibiyotik dirençliliği arasında herhangi bir ilişki belirlenememiştir. Diğer araştırmalarda da genellikle plazmid büyüklüğü ile antibiyotik dirençliliği arasında ilişki saptanamamıştır.

Çalışmamızda, küçük plazmidler belirlenmiştir. Küçük plazmidler ile ESBL arasında ilişki tespit edilememiştir. Diğer çalışmalarda ESBL üretiminden büyük plazmidlerin sorumlu olduğu ve bunların konjugasyon yoluyla aktarılarak alıcı suşlarda da aynı tip ESBL ürettildiği bildirilmiştir.

Konjugasyon deneyinde plazmide sahip ve çoklu dirençli suşlardan 5 tanesinin en büyük plazmidlerini (19.3 kb) alıcı olarak kullanılan *Salmonella* spp. suşuna aktardıkları tespit edilmiştir. Alıcı suşun konjugasyon öncesi ESBL üretmediği gözlenmiştir. Konjugasyon sonrasında ESBL durumunda herhangi bir değişiklik belirlenmemiştir. Bunun da nedeninin ESBL üretimini kodlayan genlerin büyük plazmidler tarafından taşınmasından ileri geldiği sanılmaktadır. Ayrıca çalışmamızda aktarılan plazmidin en büyük plazmid olduğu tespit edilirken diğer araştırmalarda da büyük plazmidlerin küçük plazmidlere oranla daha fazla aktarıldığı ve küçük plazmidlerin bu aktarımda yardımcı rol oynadığı ileri sürülmüştür.

Genetik olarak birbirinden farklı suşların aynı plazmid profiline sahip oldukları, suşlar arasındaki ilişkiyi belirlemek için plazmid profili analizinin tek başına yeterli olmadığı belirtilmiştir. Plazmid profillerini belirleme, bakterilerin fenotipik ve genotipik özelliklerinin saptanmasında kullanılan yöntemlerle ortaya konmuştur. Diğer moleküler yöntemlerle birlikte kullanılmasının anlamlı olacağı belirtilmiştir (Açık ve ark. 2005, Bingen 1993).

Sonuç olarak, enfeksiyonları önleme çalışmalarında, enfeksiyona neden olan mikroorganizmanın fenotip ve genotiplerinin mikrobiyolojik, biyokimyasal ve moleküler testlerle belirlenerek, antibiyotik duyarlılık testlerinin yapılması uygun olacaktır. Plazmid büyüklüğü ve sekanslama ile birlikte ESBL tipinin ve direnç

özelliğinin aktarılıp aktarılmadığının belirlenmesi gibi daha ayrıntılı çalışmaların yapılması da anlamlı olacaktır.

Çalışmamızda, yukarıda belirtilen ayrıntılı araştırmaların bazı aşamaları yapılması sonucunda epidemiyolojik olarak daha anlamlı sonuçlara ulaşılabileceği ve sonuçların daha net olarak değerlendirilebileceği görüşündeyiz.

KAYNAKLAR

Açık, L., Temiz, A., Çelebi, A., Arslan, S., Yılmaz, R. 2005. Protein patterns and plasmid profiles of bacterial strains isolated from a poultry slaughterhouse in Ankara, Turkey. Food Technol. Biotechnol. 43(3):255-262.

Akalın, H.E., Torun, M., Alaçam, R. 1988. Aminogylicoside resistance patterns in Turkey. Scand. J. Infect. Dis. 20:199-195.

Akan, E., 1993. Tıbbi Mikrobioloji. 2. baskı. Saray Tıp Kitapevleri. İzmir. s: 80-82.

Akçam, F.Z., Gönen, İ., Kaya, O., Yaylı, G. 2004. Hastane infeksiyonu etkeni çeşitli gram-negatif bakterilerde genişlemiş spektrumlu beta-laktamaz yapımının iki yöntemle araştırılması. Klimik Derg. 17(1): 47-49.

Akçam, F.Z., Gönen, İ., Kaya, O., Yaylı, G. 2004. Hastane infeksiyonu etkeni enterobakterilerde beta-laktam antibiyotiklere duyarlılık ve ESβL sıklığının araştırılması. Süleyman Demirel Üniv. Tıp Fak. Derg. 11 (1):6-9.

Akın, A. 1997. Hastane infeksiyon etkeni olan *Pseudomonas aeruginosa* kökenlerinin plazmid profillerinin saptanması. Doktora Tezi, Dokuz Eylül Üniv. Sağlık Bil. Enst. Mikrobiyoloji A.B.D., İzmir.

Akman, M. 1977. Bakteri Genetiği Teorik-Pratik. Cumhuriyet Ün. yayını, No. 1. Sivas. s: 496-502.

Akova, M., Sungur, C., Uzun, Ö., Hayran, M., Gür, D., Akalın, H. 1992. Hastane infeksiyonu etkeni opurtunist gram negatif çomaklar. I. Türk hastane infeksiyon kongresi, Kongre kitabı. S:32.

Aksaray, S., Dokuzoğuz, B., Güvener, E., Yücesoy, M., Yuluğ, N., Kocagöz, S., Ünal S., Çetin, S., Çalangu, S., Günaydın, M., Leblebicioğlu, H., Esen, Ş., Bayar, B., Wilke, A., Fındık, D., Tuncer, İ., Baysal, B., Günseren F., Mamıkoğlu, L. 2000. Surveillance of antimicrobial resistance among gram-negative isolates from intensive care units in eight hospitals in Turkey. J. Antimicrob. Chemother. 45:695-699.

Aktan, G. 1989. Hastane enfeksiyonlarının epidemiyolojisi. Ankem Derg. 3:432.

Akyıldız, R., Özsoy, M.F., Altunay, H., Koçak, N., Çavuşlu, Ş., Yenen, O.Ş. 1998. *Klebsiella pneumoniae* suşlarında genişlemiş spektrumlu beta-laktamaz sıklığı ve beta-laktam antibiyotik direncinin araştırılması. Klimik Derg. 11(2):53-58.

Albertini, M.T., Benoit, C., Berardi, L., Brerrouane, Y., Boisivon, A., Cahen, P. 2002. Surveillance of methicillin resistant *Staphylococcus aureus*(MRSA) and *Enterobacteriaceae* procuding extended-spectrum β-lactamase (ESBLE) in Northern France a five year multicentre incidence study. J. Hosp. İnfect. 52: 107-113.

Araque, M., Nieves, B., Lauretti, L., Rossolini, G.M. 2000. Molecular basis of extended-spectrum β-lactamase production in nosocomial isolates of *Klebsiella pneumoniae* from Merida, Venezuela. Intern. J. Antimicrob. Agents 15:37-42.

Archibald, L., Phillips, L., Monnet, D., McGowan, J.E., Tenover, F., Gaynes R. 1997. Antimicrobial resistance in isolates from inpatients and out patients in the United States: increasing importance of the intensive care unit. Clinic. İnfect. Dis. 24:211-215.

Ay, S., İşeri, L.A., Duman, B. 2003. İdrar örneklerinden izole edilen gram olumsuz mikroorganizmaların antibiyotik duyarlılıkları. İnönü Ün. Tıp Fak. Derg. 10(2):59-62.

Babini, G.S., Livermore, D.M. 2000. Antimicrobial resistance amongst *Klebsiella* spp. collected from intensive care unit in Southern and Western Europe in 1997-1998. J. Antimicrob. Chemother. 45:183-189.

Babypadmini, S., Appalaraju, B. 2004. Extended spectrum-lactamases in urinary isolates of *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae* prevalence and susceptibility pattern in a tertiary care hospital. Indian J. Med. Microbiol. 22(3):172-174.

Bal, Ç. 2002. Çoğul dirençli gram negatif çomaklar. Aktüel Tıp Derg. 7:9-12.

Baran, M., Sosyal, H.F., Alver, A., Dündar, V. 1994. yenidoğan ünitesinde *Klebsiella pneumoniae* sepsisi epidemisi. Klimik Derg. 7:60-61.

Barros, J.C.S., Pinheiro, S.R., Bozza, M., Gueiros-Filho, F.J., Bello, A.R., Lopez, U.G., Pereira, J.A.A. 1999. Evidences of gentamicin resistance amplification in *Klebsiella pneumoniae* isolated from faeces of hospitalized newborns. Mem. Inst. Oswaldo Cruz. Rio de Janeiro. 94(6):795-802.

Bauernfeind, A., Rosenthal, E., Eberlein, E., Holley, M., Schweighart, S. 1993. Spread of *Klebsiella pneumoniae* producing SHV-5 β-lactamase among hospitalized patients. İnfection 21:18-22.

Bergogne-Berezin, E. 1995. Nosocomial pathogens: new pathogens incidence prevention. Presse Med. 24:89-97.

Biemer, J.J. 1973. Antimicrobial susceptibility testing by the Kirby-Bauer disc diffusion method. Ann. Clin. Lab. Sci. 3(2):135-140.

Bilgehan, H. 2000. Klinik Mikrobiyoloji. (Özel Bakteriyoloji ve Bakteri Enfeksiyonları). 10. Baskı. Barış yayınları fakülteler kitabevi. İzmir. s:60-67.

Bilgehan, H. 2004. Klinik Mikrobiyolojik Tanı. 4. Baskı. Barış yayınları fakülteler kitabevi. İzmir. s: 182-184.

Bingen, E.H., Desjardins, P., Arlet, G., Bourgeois, F., Kurkdjian, P.M., Zechovsky, N.Y.L., Denamur, E. 1993. Molecular epidemiology of plasmid spread among extended broad-spectrum β-lactamase-producing *Klebsiella pneumoniae* isolates in a pediatric hospital. J. Clin. Microbiol. 31(2):179-184.

Black, J.A., Thomson, K.S., Buynak, J.D., Pitout, J.D.D. 2005. Evaluation of β-lactamase inhibitors in disk tests for detection of plasmid-mediated AmpC β-lactamases in well-characterized clinical strains of *Klebsiella* spp. J. Clin. Microbiol. 43(8):4168-4171.

Bonfiglio, G., Perilli, M., Stefani, S., Amicosante, G., Nicoletti, G. 2002. Prevalence of extended spectrum β-lactamases among Enterobacteriaceae: an Italian survey. Intern. J. Antimicrob. Ag. 19:2313-217.

Borer, A., Gilod, J., Menashe, G., Peled, N., Riesenberg K., Schlaeffert, F. 2002. Extended-spectrum β-lactamase procuding *Enterobacteriaceae* strains in community-acquired bacteremia in Southern Israel. Med. Sci. Monit 8: 44-47.

Boyd, D.A., Tyler, S., Christianson, S., McGeer, A., Muller M.P., Willey, B.W., Bryce, E., Gardam, M. 2004. Complete nucleotide sequence of 92-kilobase plasmid harboring the CTX-M-15 extended-spectrum beta-lactamase involved in an outbreak in long-term-care facilities in Toronto, Canada. Antimicrob. Agents and Chemother. 48(10):3758-3764.

Bradford, P.A. 2001. Extended-spectrum β-lactamases in the 21 st. Centuru characterization epidemiology and detection of this important resistance threat. Clin. Microbiol. Rev. 14:933-951.

Brown, D.F:, Kothari, D. 1975. Comparison of antibiotic discs from different sources. J. Clin. Pathol. 28:779-783.

Bush, K. 1996. Is it important to identify extended spectrum β-lactmase producing isolates? Eur. J. Clin. Microbiol. İnfect. Dis. 15:361-364.

Bush, K., Jacoby, G. 1997. Nomenclature of TEM β-lactamases. J. Antimicrob. Chemother. 39:1-3.

Casewell, M.W., Philips, I. 1981. Aspects of plasmid-mediated antibiotic resistance and epidemiology of *Klebsiella* species. Am. J. Med. 70:459-462.

Chanal, C.M., Sirot, D.L., Labia, R., Pitit, A., Morand, A., Sirot, J.L., Cluzel, R.N. 1988. Comparative study of a novel plasmid-mediated beta-lactamase, CAZ-2 and the CTX-1 and CAZ-1 enzymes conferring resistance to broad-spectrum cephalosporins. Antimicrob. Agents and Chemother. 32(11):1660-1665.

Coplin, D.L., Rowan, R.G., Chisholm, D.A., Whitmoyer, R.E. 1981. characterization of plasmids in *Erwinia stewartii*. Appl. Environ. Microbiol. 42:599-604.

Coudron, P.E., Moland, E.S., Sanders, C.C. 1997. Occurence and detection of extended-spectrum beta-lactamases in members of family *Enterobacteriaceae* at a Veterans Medical Center. J. Clin. Microbiol. 35(10):2593-2597.

Çağatay, A.A., Kocagöz, T., Eraksoy, H. 2003. Novel cultur medium for rapid detection of extended-spectrum β-lactamases. BMC Microbiology 22(3):1-6.

Çetin, E.T., Gürler, N. 1989. Bakterilerin antibiyotik duyarlılık deneyinin yapılması. KÜKEM Dergisi. 12 (2):97-102.

Dandekar, P.K., Tetreault, J., Quinn, J.P., Nightingale, C.H., Nicolau, D.P. 2004. Prevalence of extended spectrum β-lactamase producing *Escherichia coli* and *Klebsiella* isolates in a large community teaching hospital in Connecticut. Diagn. Microbiol. and Infect. Dis. 49:37-39.

Du Bois, S.K., Marriot, M.S., Amyes, S.G. 1995. TEM- and SHV-derived extended-spectrum β-lactamases:relationship between selection, structure and function. J. Antimicrob. Chemother. 35:7-22.

Duggan, J.M., Oldfield, G.S., Ghost, H.K. 1985. Septicemia as a hospital hazard. J. Hosp. İnfect. 6:406-412.

Durak, Y., Arıkan, E. 1987. Çeşitli materyallerden soyutulan *Escherichia coli* suşlarında bulaşıcı tipte antibiyotik direnç genlerinin saptanması ve bunun insan sağlığındaki önemi. Doğa Tu. Tıp ve Ecz. Derg. 11 (1) :15-18.

Eisen, D., Russell, E., Tymms, M., Roper, E.J., Grayson, M.L., Turnidge, J. 1995. Random amplified polymorfic DNA and plasmid analyses used in ınvestigation of an outbreak of multiresistant *Klebsiella pneumoniae*. J. Clin. Microbiol. 33(3):713-717.

Fierer, J., Guinery, D. 1999. Extended-spectrum β-lactamases: a plague of plasmids. JAMA 281(6):563-564.

Finkelstein, R., Kassis, E., Reinhertz, G., Gorenstein, S., Herman, P. 1998. Community-acquired urinary tract infection in adults: a hospital viewpoint. J. Hosp. Infect. 38:193-202.

Freitas, A.L.P., Machado, D.P., Soare, F.S.C., Barth, A.L. 2003. Extended-spectrum β-lactamases in *Klebsiella* spp. and *E. coli* obtained in a Brazilian Teaching hospital: detection prevalance and molecular typing. Brazilian J. Microbiol. 34:344-348

French, G.L., Shannon, K.P., Simmons, N. 1996. Hospitalized outbreak of *Klebsiella pneumoniae* resistant to broad-spectrum cephalosporins and β-lactam β-lactamase inhibitor combinations by hyperproduction of SHV-5 β-lactamase. J. Clinic. Microbiol. 34:358-363.

Gaynes, R., Edwards, J.R. 2005. Overview of nosocomial infections caused by gram-negative bacilli. Clin. Infect. Dis. 41:848-854.

Gikas, A., Samonis, G., Christidou, A., Papadakis, J., Kofteridis, D., Tselentis, Y., Tsaparas, N. 1998. Gram-negative bacteremia in non-neuropenic patients: a 3-year review. Infection 26:155-159.

Girlich, D., Poirel, L., Leelaporn, A., Karim, A., Tribuddharat, C., Fennewald, M., Nordmann, P. 2001. Molecular epidemiology of the integron-located VEB-1 extended-spectrum β-lactamase in nosocomial enterobacterial isolates in Bangkok, Thailand. J. Clin. Microbiol. 39(1):175-182.

Gold, I.M. 1994. Risk factor for aquisition of multiply drug resistance gram negative bacteria. Eur. J. Clin. Microbiol. İnfect. Dis. 13 (Suppl.):30-34.

Gossens, H., MYSTIC study group. 2001. MYSTIC program: summary of European data from 1997 to 2000. Diagn. Microbiol. and Infect. Dis. 41:183-189.

Gönlügür, U., Bakıcı, M.Z., Akkurt, İ., Efeoğlu, T. 2004. Antibiotic suspectibility patterns among respiratory isolates of gram-negative bacilli in a Turkish university hospital. BMC Microbiology 32(4):1-5.

Günseren, F., Mamıkoğlu, L., Öztürk, S., Yücesoy, M., Biberoğlu, K., Yuluğ, N., Doğanay, M., Sümerkan, B., Kocagöz, S., Ünal, S., Çetin, S., Çalangu, S., Köksal İ., Leblebicioğlu, H., Günaydın, M. 1999. A surveillance study of antimicrobial resistance of gram-negative bacteria isolated from intensive care units in eight hospitals in Turkey. J. Antimic. Chemother. 43:373-378.

Hadziyannis, E., Tuohy, M., Thomas, L., Procop, G.W., Washington, J.A., Hall, G.S. 2000. Screening and confirmatory testing for extended-spectrum β-lactamases (ESBL) in *Escherichia coli, Klebsiella pneumoniae* and *Klebsiella oxytoca* clinical isolates. Diagn. Microbiol. and Infect. Dis. 36:113-117.

Hedges, R.W., Jacob, A.E. 1974. Transposition of ampicillin resistance from RP4 to other replicons. Mol. Gen. Genet. 132:31-40.

Heffron, F., Sublett, R., Hedges, R.W., Jacob, A., Falkow, S. 1975. Origin of TEM beta-lactamase gene found on plasmids. J. Bacteriol. 122(1):250-256.

Horan, T., Culver, D., Jarvis, W., Emor, G., Benarjee, S., Martane, W., Thornsberry, C. 1988. Pathogens causing nosocomial infections. Antimicrobic Newsl 5:65-67.

Hoşgör, M., Özkan, F., Yapar, N., Tünger, A., Özinel, M.A. 1998. Genişlemiş spektrumlu beta-laktamazların belirlenmesinde çift diskli sinerji testi ile üç boyutlu yöntemin karşılaştırılması. Klimik Derg. 11(2):59-60.

Jacoby, G.A., Medeiros, A.A. 1991. More extended-spectrum β-lactamases. Antimicrob. Agents and Chemother. 35(9):1697-1704.

Jacoby, G.A., Sutton, L. 1991. Properties of plasmids responsible for production of extended-spectrum -lactamases. Antimicrob. Agent and Chemother. 35(1):164-169.

Jacoby, G.A., Han, P. 1996. Detection of extended-spectrum β-lactamases in clinical isolates of *Klebsiella pneumoniae* and *Eschericia coli*. J. Clin. Microbiol. 34(4):908-911.

Jacoby, G.A. 1997. Extended-spectrum beta-lactamase and other enzymes providing resistance to oxyimino-beta-lactamases. İnfect. Dis. North Am. 11(4):875-887.

Jan, I.S., Hsueh, P.R., Teng, L.J., Ho, S.W., Luh, K.T. 1998. Antimicrobial suspectibility testing for *Klebsiella pneumoniae* isolates resistant to extended-spectrum β-lactam antibiotics. J. Formos. Med. Assoc. 97:661-666.

Jones, R.N., Pfaller, M.A. 2003. Antimicrobial activity aganist strains of *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae* with resistance phenotypes consistent with an extended-spectrum β-lactamase in Europe. Clin. Microbiol. İnfect. 9:708-712.

Kado, C.I., Liu, S.T. 1981. Rapid procedure for detection and isolation of large and small plasmids. J. Bacteriol. 145(3):1365-1373.

Karatay, S. 1994. Hastanede yatan hastalardan izole edilen *Klebsiella* cinsi bakterilerde aminoglikozid direnci ve plazmid izolasyonu. Yüksek Lisans Tezi, İstanbul Üniv. Sağlık Bil. Enst. Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji A.B.D., İstanbul.

Karbasizaed, V., Badami, N., Emtiazi, G. 2003. Antimicrobial, heavy metal resisteance and plasmid profile of coliforms isolated from nosocomial infections in a hospital in Isfahan, Iran. African J. Biotech. 2(10):379-383.

Khamaneh, A.M. 2001. Genişlemiş spektrumlu beta-laktamaz (ESBL) üreten ve üretmeyen *Klebsiella pneumoniae* kökenlerinde plazmid profillerinin saptanması ve antibiyotik duyarlılık sonuçları ile ilişkisinin araştırılması. Yüksek Lisans Tezi, Marmara Ün. Sağlık Bil. Enst., İstanbul.

Kızırgil, A., Demirdağ, K., Özden, M., Bulut, Y., Yakupoğlu, Y., Toraman, Z.A. 2004. In vitro activity of three different antimicrobial agents aganist ESBL producing *Eschericihia coli* and *Klebsiella pneumoniae* blood isolates. Microbiol. Research 160:135-140.

Kil, K.S., Darouiche, R.O., Hull, R.A., Mansouri, M.D., Musher, D.M. 1997. Identification of *Klebsiella pneumoniae* strain associated with nosocomial urinary tract infection. J. Clin. Microbiol. 35(9):2370-2374.

Kim, B.N., Woo, J.H., Kim, M.N., Ryu, J., Kim, Y.S: 2002. Clinical implications of extended-spectrum β-lactamase-producing *Klebsiella pneumoniae* bacteraemia. J. Hosp. Infect. 52:99-106.

Kim, J., Kwon, Y., Pai, H., Kim, J.W., Cho, D.T. 1998. Survey of *Klebsiella pneumoniae* strains producing extended-spectrum β-lactamase: prevalence of SHV-12 and SHV-2a in Korea. J. Clin. Microbiol. 36:1446-1449.

Kim, J., Lim, Y.M., Rheem, I., Lee, Y., Lee, J.C., Seol, S.Y., Lee, Y.C., Cho, D.T. 2005. CTX-M and SHV-12 β-lactamases are the most common extended-spectrum enzymes in clinical isolates of *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae* collected from 3 university hospitals within Korea. FEMS Microbiol. Letters 245:93-98

Köksal, İ. 2000. Nazokomiyal ürüner sistem infeksiyonlarının tedavisi. Klimik Derg. 13:21-22.

Krieg, N.R., Holt, J.G. 1984. Bergey's manual of systematic bacteriology Volume 1. Williams&Wilkins. A Waverly company. Philadelphia. USA. p: 461-463.

Kuothe, H., Shah, P., Kremery, V. Antal, M., Mitsuhashi, S. 1983. Transferable resistance to cefotaxime, cefoxitin, cefamandole and cefuroxime in clinical isolates of *Klebsiella pneumoniae* and *Serratia marcescens.* Infection 11:315-317.

Kurokawa, H., Shibata, N., Doi, Y., Shibayama, K., Kamachi, K., Yagi, T., Arakawa, Y. 2003. A new TEM-derived extended-spectrum β-lactamase (TEM-91) with an R164C substitution at the Ω-loop confers ceftadizime resistance. Antimicrobiol. Agents and Chemother. 47(9):2981-2983.

Küçükateş, E., Kocazeybek, B. 2002. High resistance rate aganist 15 different antibiotics in aerobic gram-negative bacteria isolates of cardiology intensive care unit patients. Indian J. Med. Microbiol. 20(4):208-210.

Laksai, Y., Severino, M., Perilli, M., Amicosante, G., Bonfiglio, G., Stefani, S. 2000. First identification of an SHV-12 extended-spectrum β-lactamase in *Klebsiella pneumoniae* isolated in Italy. J. Antimicrob. Chemother. 45:349-351.

Lassen, J. 1975. Rapid identification of gram-negative rods using a three-tube method combined with a dichotomic key. Acta Pathol. Microbiol. Scand. Suppl. 83:525-533.

Leblebicioğlu, H., Gunaydin, M., Esen, S., Tuncer, İ., Fındık, D., Ural, O., Saltoslu, N., Yaman, A., Tasova, Y. 2002. Surveillance of antimicrobial resistance in gram negative isolates from intensive care units in Turkey: analysis of data from the last 5 years. J. Antimicrob. Chemother. 14:140-146.

Li, C.R., Li, Y., Zhang, P.A. 2003. Dissemination and spread of CTX-M extended spectrum β-lactamase among clinical isolates of *Klebsiella pneumoniae* in central China. Intern. J. Antimicrob. Ag. 22:521-525.

Lopes, A.C.S., Rodrigues, J.F., Junior, M.A.M. 2005. Molecular typing of *Klebsiella pneumoniae* isolates from public hospitals in Recife, Brazil. Microbiol. Research 160:37-46.

Loureiro, M.M., Moraes, B.A., Mendonça, V.L.F., Quadra, M.R.R., Pinheiro, G.S., Asensi, M.D. 2001. Molecular epidemiology of extended-spectrum β-lactamase-producing *Klebsiella pneumoniae* isolated from neonatal intensive care unit patients involved in hospital infection cases in Rio de Janerio Brazil. Rev. Latinoam Microbiol. 43(2):88-95.

Macrae, M.B., Shannon, K.P., Rayner, D.M., Kaiser, A.M., Hoffman, P.N., French, G.L. 2001. A simultaneous outbreak on a neonatal unit of two strains of multiply antibiotic resistant *Klebsiella pneumoniae* controllable only by ward closure. Journal of Hosp. İnfect. 49:183-192.

Manchanda, V., Singh, N.P., Goyal, R., Kumar, A., Thukral, S.S. 2005. Phenotypic characteristics of clinical isolates of *Klebsiella pneumoniae* & evaluation of avaliable phenotypic tecniques for detection of extended spectrum beta-lactamase. Indian J. Med. Res. 122:330-337.

Mandal, S., Mandal, M.D., Pal, N.K. 2004. Plasmid-encoded multidrug resistance of *Salmonella typhi* and some enteric bacteria in and around Koklata India: a premiliminary study. Ojhas 3(4):1-7.

Marei, M.E. 1998. Yoğun bakım ünitelerinden izole edilen metsiline duyarlı ve dirençli *Staphylococcus aureus* suşlarının antibiyotik duyarlılıkları ile plazmid ve plazmid restriksiyon profillerinin karşılaştırılması. Doktora Tezi, Dokuz Eylül Üniv. Sağlık Bil. Enst. Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji A.B.D., İzmir.

Markowitz, S.M., Veazly, J.M., Macrina, F.L., Mayhall, C.G., Lamb, J.A. 1980. sequentid outbreaks of infection due to *Klebsiella pneumoniae* in a neontal

intensive care unit implication of conjugative R plasmid. J. İnfect. Dis. 142:106-112.

Martinez, J., Martinez, L., Rosenbheth, M., Silva, J., Ronero, E.M. 2004. How are gene squence analyses modifiying bacterial taxonomy? The case of *Klebsiella*. Intern. Microbiol. 7:261-268.

Matsumoto, Y. Inoue, M. 1999. Characterization of SFO-1, a plasmid-mediated inducible class A β-lactamase from *Enterobacter cloacae*. Antimicrob. Agents and Chemother. 43(2):307-313.

Matthew, M., Hedges R.W. 1976. Analytical isoelectric focusing of R faktor-determined β-lactamases: correlation with plasmid compatibility. Journal of Bacteriol. 125:713-718.

Meyer, K.S., Urban, C., Eagan, J.A., Berger, B.J., Rahal, J.J. 1993. Nosocomial outbreak of *Klebsiella* infection resistant to late-generation cephalosporins. Ann. Intern. Med. 119:353-358.

Mohanty, S., Singhal, R., Sood, S., Dhawan, B., Das, B.K., Kapil, A. 2005. Comparative in vitro activity of beta-lactam/beta-lactamase inhibitor combinations aganist gram negative bacteria. Indian J. Med. Res. 122:425-428.

Nester, E.W., Anderson, D.G., Roberts, C.E., Pearsall, N.N., Nester, M.T. 2004. Microbiology: A human perspective. Fourth edition. McGraw-Hill Componies. New York. p:206-212.

Neşati, B. 1995. Çeşitli klinik materyallerden izole edilen *E. coli* suşlarındaki dirençliliğin R-faktör ile ilişkisi. Doktora tezi, Selçuk Ün. Sağlık Bil. Enst., Konya.

Pai, H., Lyu, S., Lee, J.H., Kim, J., Kwon, Y., Kim, J.W., Choe, K.W. 1999. Survey of extended-spectrum β-lactamases in clinical isolates of *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae:* prevalence of TEM-52 in Korea. J. Clin. Microbiol. 37(6):1758-1763.

Pais, P., Khurana, R., George, J. 2002. Urinary tract infections: a retrospective survey of causative organisms and antibiotics prescribed in a tertiary care setting. Indian J. Pharm. 34:278-280.

Paterson, D.L., Ko, W.C., Gottberg, A.V., Mohapatra, S., Casellas, J.M., Goossens, H., Mülazımoğlu, L., et all. 2003. Antibiotic therapy for *Klebsiella pneumoniae*

bacteremia:implications of production of extended-spectrum β-lactamases. Clin. İnfect. Dis. 39:31-37.

Paterson, D.L., Mulazimoglu. L., Casellas, J.M., Ko, W.C., Goossens, H., Gottberg,. A., Mohapatra, S., Trenholme, G.M., Klugman, K.P., McCormack, J.G., Yu, V.L. 2000. Epidemiology of ciprofloxacine resistance and its relationship to extended-spectrum β-lactamase production in *Klebsiella pneumoniae* isolates causing bacteremia. Clin. Infect. Dis. 30:473-478.

Philippon, A., Labia, R., Jacoby, G. 1989. Extended-spectrum beta-lactamases. Antimicrob. Agents and Chemother. 33:1131-1136.

Pieboji, J.G., Bedenic, B., Shiro, S.K., Randegger, C., Adiogo, D., Ngassam, P., Ndumbe, P., Hachler, H. 2005. Extended-spectrum β-lactamase-producing Enterobacteriaceae in Yaounde, Cameroon. J. Clin. Microbiol. 43(7):3273-3277.

Podschun, R., Ullmann, U. 1998. *Klebsiella spp.* as nosocomial pathogens: epidemiology, taxonomy, typing methods and pathogenecity faktors. Clin. Microbiol. Rev. 11(4): 589-603.

Poirel, L., Heritier, C., Tolün, V., Nordmann, P. 2004. Emergence of oxacillinase-mediated resistance to imipenem in *Klebsiella pneumoniae*. Antimicrob. Agents and Chemother. 48(1):15-22.

Preston, K.E., Kacica, M.A., Limberger, R.J., Archinal, W.A., Venezia, R.A. 1997. The resistance and integrase genes of pACM1, a conjugative multiple-resistance plasmid, from *Klebsiella oxytoca*. Plasmid 37:105-118.

Prodinger, W.M., Fille, M., Bauernfeind, A., Stemplinger, I., Amann, S., Pfausler, B., Lass-Flörl, C., Dierich, M.P. 1996. Molecular epidemiology of *Klebsiella pneumoniae* producing SHV-5 β-lactamase parallel outbreaks due to multiple plasmid transfer. J. Clin. Microbiol. 34(3):564-568.

Quale, J.M., Ladman, D., Bradford, P.A., Vasalli, M., Ravishankar, J., Flores, C., Mayorga, D., Vangala, K., Adedeji, A. 2002. Molecular epidemiology of a citywide outbreak of extended-spectrum beta-lactamase-producing *Klebsiella pneumoniae* infection. Clin. Infect. Dis. 35:834-841.

Quinn, J.P. 1994. Clinical signification of extended-spectrum beta-lactamases. Eur. J. Clin. Microbiol. İnfect. Dis. 13 (Suppl.):39-42.

Rahman, M.M., Haq, J.A. Hossain, M.A., Sultana, R., Islam, F., Islam, A.H.M. 2004. Prevalence of extended-spectrum β-lactamase-producing *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae* in an urban hospital in Dhaka, Bangladesh. Intern. J. Antimicrob. Agents 24:508-510.

Rasheed, J.K., Anderson, G.J., Yiğit, H., Qeenan, A.M., Sanchez, A., Swenson, J.M., Biddle, J.M., Ferraro, M.J., Jacoby, G.A., Tenover, F.C. 2000. Characterization of the extended-spectrum β-lactamase in reference strain, *Klebsiella pneumoniae* K6 (ATCC 700603) which produces the novel enzyme SHV-18. Antimicrob. Agents and Chemother. 44(9):2382-2388.

Rasool, S. A., Ahmad, A., Khan, S. And Wahab, A. 2003. Plasmid borne antibiotic resistance factors among indigenous Klebsiella. Pak. J. Bot.; 35(2):243-248.

Rice, L.B., Bonomo, R.A. 2000. β-lactamases: which ones are clinically important? Drug Resistance Updates 3:178-189.

Rodrigues, C., Joshi, P., Jani, S.H., Alphonse, M., Radhakrishnan, R., Metha, A. 2004. Detection of lactamases in nosocomial gram negative clinical isolates. Indian J. Med. Microbiol. 22(4):247-250.

Sahly, H., Aucken, H., Benedi, V.J., Forestier, C., Fussing, V., Hansen, D.S., Ofek, I. 2004. Increased serum resistance in *Klebsiella pneumoniae* strains producing extended-spectrum β-lactamases. Antimicrob. Agent and Chemother. 48(9) :315-320.

Sambrook, J., Russell, D.W. 2001. Molecular clonning a laboratory manual volume1. Third edition. Cold Spring Harbor Laboratory Press. New York. p: 35-37.

Sanders, C.C., Sanders, W.E. 1992. Beta-lactam resistance in gram negative bacteria; global trendes and clinical impact. Clin. İnfect. Dis. 15(5):824-883.

Seid, J., Asrat, D. 2005. Occurence of extended-spectrum β-lactamase enzymes in clinical isolates of *Klebsiella* spp. from Harar region, eastern Ethiopia. Acta Tropica 95:141-148.

Shannon, K., Fung, K., Stapleton, P., Anthony, R., Power, E., French, G. 1998. A hospital outbreak of extended-spectrum β-lactamase-producing *Klebsiella pneumoniae* investigated by RAPD typing and analysis of the genetics and mechanisms of resistance. J. Hosp. İnfect. 39:291-300.

Shehabi, A.A., Mahafzah, A., Baadran, I., Qadar, F.A., Dajani, N. 2000. High incidence of *Klebsiella pneumoniae* clinical isolates to extended-spectrum β-lactam drugs in intensive care units. Diagn. Microbiol. and Infect. Dis. 36:53-56.

Shen, D., Winohur, P., Jones, R.N. 2001. Characterization of extended spectrum β-lactamase-producing *Klebsiella pneumoniae* from Beijing China. Intern. J. Antimicrob. Ag. 18: 185-188.

Shiappa, P.A., Hayden, M.K., Matushek, M.G., Hashemi, F.N., Sallivan, J., Smith, K.Y., Miyashiro, D., Quinn, P., Weinstein, R.A., Trenholme, G.M. 1996. Ceftazidime-resistance *Klebsiella pneumoniae* and *Escherichia coli* blood stream infection: a case control and molecular epidemiologic investigation. J. Infect. Dis. 174(3):529-736.

Simpson, I.N., Harper, P.B., O'callaghan, C.H. 1980. Principal β-lactamases responsible for resistance to β-lactam antibiotics in urinary tract infections. Antimicrobiol. Agents and Chemother. 17(6):929-936.

Sirot, D.L., Goldtein, F.W., Soussy, C.J., Courtieu, A.L., Husson, M.O., Lemozy, J., Meyran, M., Morel, C., Perez, R., Noury, C.Q., Reverdy, M.E., Sheffel, J.M., Rosenbaum, M., Rezvani, Y. 1992. Resistance to cefatoxaime and seven other β-lactams in members of family Enterobacteriaceae a 3 year survey in France. Antimicrob. Agents and Chemother. 36(8):1677-1681.

Sirot, J., Chanal, C., Petit, A., Sirot, D., Labia, R., Gerbaud, G. 1988. *Klebsiella* pneumoniae and other Enterobacteriaceae producing novel plasmid-mediated β-lactamases markedly active aganist third generation cephalosporins: epidemiologic studies. Rev. Infect. Dis. 10:850-859.

Smith, S.M., Digori, J.T., Eng, R.H.T. 1982. Epidemiology of *Klebsiella* antibiotic resistance and serotypes. J. Clin. Microbiol. 16(5):868-873.

Steward, C.D., Rasheed, J.K., Hubert, S.K., Biddle, J.W., Raney, P.M., Anderson, G.J., Williams, P.P. et al. 2001. Characterization of clinical isolates of *Klebsiella pneumoniae* from 19 laboratories using the National Committee for clinical laboratory standards extended-lactamase detection methods. Journal of Clin. Microbiol. 39(8):2864-2872.

Subha, A., Ananthan, S. 2002. Extended-spectrum beta lactamase (ESBL) mediated resistance to third generation cephalosporins among *Klebsiella pneumoniae* in Chennai. Indian J. Med. Microbiol. 20(2):92-95.

Tankhiwale, S.S., Jalgaonkar, S.V., Ahamad, S., Hassani, U. 2004. Evaluation of extended spectrum beta lactamase in urinary isolates. Indian J. Med. Res. 120:553-556.

Tassios, P.T., Gazouli, M., Tzelegi, E., Milch, H., Kozlova, N., Sidorenko, S. et al. 1999. Spread of a *Salmonella typhimurium* clone resistant to expanded-spectrum cephalosporins in there European countries. J. Clin. Microbiol. 37: 3774-3777.

Taşlı, H., Bahar, İ.H. 2005. Molecular characterization of TEM-and SHV-derived extended-spectrum beta-lactamases in hospital-based Enterobacteriaceae in Turkey. Jpn. J. Infect. Dis. 58:162-167.

Temizkan, G., Arda, N. 2004. Moleküler biyolojide kullanılan yöntemler. Nobel Tıp Kitabevi. 2. Baskı. İstanbul. 64-65.

Thomson, K.S., Sanders, C.C. 1992. Detection of extended-spectrum β-lactamases in members of family Enterobacteriaceae: comparison of the double-disk and three-dimensional test. Antimicrobiol. Agents and Chemother. 36:1877-1882.

Tolmasky, M.E., Roberts, M., Woloj, M. And Crosa, J.M. 1986. Molecular cloning of amikacin resistance determinants from a *Klebsiella pneumoniae* plasmid. Antimicrob. Agent and Chemother. 30(2) :315-320.

Turner, P.J. 2005. Extended-spectrum β-lactamases. Clin. Infect. Dis. 41:273-275.

Türkmen, L. 1998. Klinik örneklerden izole edilen *Bacteroides* türlerinde β-laktamaz varlığı, antibiyotik duyarlılığı ve plazmid içeriğinin araştırılması. Doktora Tezi. Gazi Ün. Fen Bilimleri Enstitüsü. Ankara.

Tzelepi, E., Magana, C. Platsouka, E., Sofianou, D., Paniara, O., Legakis, N.J., Vatopoulos, A.C., Tzouvelekis, L.S. 2003. Extended-spectrum β-lactamase types in *Klebsiella pneumoniae* and *Escherichia coli* in two Greek hospitals. Intern. J. Antimicrob. Ag. 21:285-288.

Ullman, U. 1986. Pattern of microbial isolates in hospitalized patients. Zentbl. Bakteriol. Hyg. Ser. B 183:103-113.

Ulutürk, R., Soysal, H.F., Boztaş, Z., Ünlüer, E., Toktaş, G., Gürbüz, C. 2000. Multirezistan *Klebsiella pneumoniae* suşunun neden olduğu hastane infeksiyonu. Klimik Derg. 13(3):91-93.

Vahaboğlu, H. 1998. Beta-laktamazlar ve hastane infeksiyonları. Hastane İnfeksiyonları Derg. 2:147-149.

Vahaboğlu, H., Öztürk, R., Aygün, G., Çoşkunkan, F., Akgün, Y., Kaygusuz, A., et al. 1997. Widespread detection of PER-1-type extended-spectrum β-lactamases among nosocomial *Acinetobacter* and *Pseudomonas aeroginosa* isolates in Turkey: a nationwide multicenter study. Antimicrob. Agent and Chemother. 41(10): 2265-2269.

Venezia, R.A., Scarano, F.J., Preston, K.E., Steele, L.M., Root, T.P., Limberger, R., Archinal, W., Kacica, M.A. 1995. Molecular epidemiology of on SHV-5 extended-spectrum beta-lactamase in Enterobacteriaceae isolated from infants in a neontal intensive care unit. Clin. İnfect. Dis. 21:915-923.

Vercauteren, E., Descheemaeker, P., Ieven, M., Sanders, C.C., Gossens, H. 1997. Comparison of screening methods for detection of extended-spectrum β-lactamases and their prevalence among blood isolates of *Escherichia coli* and Klebsiella spp. in Belgian teaching hospital. J. Clin. Microbiol. 35(9):2191-2197.

Villegas, M.V., Correa, A., Perez, F., Miranda, M.C., Zuluaga, T., Quinn, J.P. 2004. Prevalence and characterization of extended-spectrum β-lactanases in *Klebsiella pneumoniae* and *Escherichia coli* isolates from Colombian hospitals. Diagn. Microbiol.and Infect. Dis. 49:217-222.

Vrabelova, M., Kollarova, K., Papajova, D.M., Hanzen, J., Milosovic P., Macickova, T., Kettner, M. 2004. Nosocomial plasmids responsible for multiresistance of bacterial isolates at different wards of the children's university hospital in Bratislava, Slovakia. The J. Appl. Research 4(2):312-320.

Wachino, J., Doi, Y., Yamane, K., Shibata, N., Yagi, T., Kubota, T., Ito, H., Arakawa, Y. 2004. Nosocomial spread of ceftazidime-resistant *Klebsiella pneumoniae* strains producing a novel class A β-lactamase, GES-3, in a neonatal intensive care unit in Japan. Antimicrobiol. Agents and Chemother. 48(6):1960-1967.

Winkour, P.L. Canton, R., Casellas, J.M., Legakis, N. 2001. Variations in the prevalence of strains expressing an extended-spectrum β-lactamase phenotype and characterization of isolates from Europe, the Americas and the Western Pacific Rgion. Clin. Infect. Dis. 32(suppl):94-103.

Xiong, Z., Zhu, D., Wang, F., Zhang, Y., Okamoto, R., Inoue, M. 2004. A *Klebsiella pneumoniae* producing three kinds of class A β-lactamases encoded by one single plasmid isolates from a patient in Huashan Hospital, Shanghai, China. Intern. J. Antimicrob. Ag. 23: 262-267.

Yagi, T., Kurokawa, N., Shibata, N., Shibayama, K., Arakawa, Y. 2000. A preliminary survey of extended-spectrum β-lactamases (ESBLs) in clinical isolates of *Klebsiella pneumoniae* and *Escherichia coli* in Japan. FEMS Microbiol. Letters 184:53-56.

Yu, W.L., Chuang, Y.C. Jones, R.N. 2004. A pragmatic approach to identify extended-spectrum β-lactamase-producing *Klebsiella pneumoniae* in Taiwan: in vitro activity of newer and established antimicrobial agents. Diagn. Microbiol. and Infect. Dis. 48:277-282.

Yuan, M., Hall, L.M.C. Savelkoul, P.H.M., Grauls, C.M.J. Livermore, D.M. 2000. SHV-13, a novel extended-spectrum β-lactamase, in *Klebsiella pneumoniae* isolates from patients in an intensive care unit in Amsterdam. Antimicrobiol. Agents and Chemother. 44(4):1081-1084.

Yücel, B.N., Vural, M., Aygün, G., Ilıkkan, B., Samastı, M., Altun, S., Perk, Y. 2003. Yenidoğan yoğun bakım birimlerinde *Klebsiella pneumoniae* kolonizasyonunun araştırılması. Klimik Derg. 16(2):73-78.

Zarnayova, M.S., Siebor, E., Rovna, D., Bujdakova, H., Neuwirth, C. 2005. Outer membrane protein profiles of clonally related *Klebsiella pneumoniae* that differ in cefoxitin resistance. FEMS Microbiol. Letters 243: 197-203.