

**T.C.
RECEP TAYYIP ERDOĞAN ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**TRABZON VE GİRESUN İLLERİNDEKİ ÇEŞİTLİ
HASTANELERDE İZOLE EDİLEN *Klebsiella pneumoniae*
SUŞLARINDA ANTİBİYOTİK DİRENÇ PROFİLLERİNİN
BELİRLENMESİ VE BETA-LAKTAMAZ GENLERİNİN
ARAŞTIRILMASI**

MERYEM GEZİCİ

**TEZ DANIŞMANI
YRD. DOÇ. DR. FATİH ŞABAN BERİŞ
TEZ JÜRİLERİ
DOÇ. DR. AYŞEGÜL ÇOPUR ÇİÇEK
YRD. DOÇ. DR. DERYA YANMIŞ**

**YÜKSEK LİSANS TEZİ
BİYOLOJİ ANABİLİM DALI**

RİZE-2015

Her Hakkı Saklıdır

T.C.
RECEP TAYYIP ERDOĞAN ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**TRABZON VE GİRESUN İLLERİNDEKİ ÇEŞİTLİ HASTANELERDE İZOLE
EDİLEN *KLEBSIELLA PNEUMONIAE* SUŞLARINDA ANTİBİYOTİK DİRENÇ
PROFİLLERİNİN BELİRLENMESİ VE BETA-LAKTAMAZ GENLERİNİN
ARAŞTIRILMASI**

Yrd. Doç. Dr. Fatih Ş. BERİŞ danışmanlığında, Meryem GEZİCİ tarafından hazırlanan bu çalışma, Enstitü Yönetim Kurulu kararıyla oluşturulan jüri tarafından 23/11/2015 tarihinde Biyoloji Anabilim Dalı'nda **YÜKSEK LİSANS** tezi olarak kabul edilmiştir.

Jüri Üyeleri	Ünvanı Adı Soyadı	İmzası
Başkan	: Doç. Dr. Ayşegül ÇOPUR ÇİÇEK	
Üye	: Yrd. Doç. Dr. Fatih Ş. BERİŞ	
Üye	: Yrd. Doç. Dr. Derya YANMIŞ	


Prof. Dr. Selami ŞAŞMAZ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ MÜDÜRÜ

ÖNSÖZ

Trabzon ve Giresun illerindeki çeşitli hastanelerde izole edilen *Klebsiella pneumonia* suşlarında antibiyotik direnç profillerinin belirlenmesi ve Beta- laktamaz genlerinin araştırılması adlı bu çalışma, Recep Tayyip Erdoğan Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Biyoloji Anabilim Dalı'nda "Yüksek Lisans Tezi" olarak hazırlanmıştır.

Yüksek lisans eğitimim ve tez çalışmalarım sırasında, ilgi ve desteğiyle her konuda yardımcı olan, engin bilgi ve deneyimleri ile bana öncülük eden değerli hocam ve tez danışmanım Yrd. Doç. Dr. Fatih Ş. BERİŞ' e;

Yüksek lisans eğitimim boyunca bilgi ve deneyimlerinden yararlandığım, hoşgörü ortamı içerisinde geniş tecrübeleriyle bizlere yön veren sayın hocam Doç. Dr. Cemal SANDALLI'ya ve klinik örneklerin elde edilmesinde yardımcı olan Doç. Dr. Ayşegül Çopur ÇİÇEK'e

Eğitimimin her aşamasında birlikte olduğum, öğrenciliğim boyunca birlikte çalışmaktan mutluluk duyduğum, hiçbir konuda yardımlarını ve sevgilerini esirgemeyen başta Dilek ÖZTÜRKOĞLU ve Aytül UZUN olmak üzere tüm laboratuvar arkadaşlarıma;

Hayatımın her alanında yanımda olan, maddi ve manevi her türlü desteğini esirgemeyen değerli aileme;

Hayatım boyunca desteğini ve sevgisini esirgemeyen, başarı ya da başarısızlığımda hep yanımda olan değerli kardeşim Eyüp ASLAN'a;

Yüksek lisans eğitimim boyunca her türlü konuda destek olan özellikle tez yazım aşamasında desteklerini esirgemeyen Çiğdem KATIRCIOĞLU ve İlay DEMİRELİ'ye;
Ve son olarak Rize'deki 6 yıllık eğitimim boyunca bana hakkı geçen herkese;

Teşekkürü borç bilirim.

Meryem GEZİCİ

TEZ ETİK BEYANNAMESİ

Tarafımdan hazırlanan “Trabzon ve Giresun illerindeki çeşitli hastanelerde izole edilen *Klebsiella pneumoniae* suşlarında antibiyotik direnç profillerinin belirlenmesi ve beta-laktamaz genlerinin araştırılması” başlıklı bu tezin, Yükseköğretim Kurulu Bilimsel Araştırma ve Yayın Etiği Yönergesindeki hususlara uygun olarak hazırladığımı ve aksinin ortaya çıkması durumunda her türlü yasal işlemi kabul ettiğimi beyan ederim.
23/11/2015

Meryem GEZİCİ

Uyarı: *Bu tezde kullanılan özgün ve/veya başka kaynaklardan sunulan içeriğin kaynak olarak kullanımı, 5846 sayılı Fikir ve Sanat Eserleri Kanunundaki hükümlere tabidir.*

ÖZET

TRABZON VE GİRESUN İLLERİNDEKİ ÇEŞİTLİ HASTANELERDE İZOLE EDİLEN *Klebsiella pneumoniae* SUŞLARINDA ANTİBİYOTİK DİRENÇ PROFİLERİNİN BELİRLENMESİ VE BETA-LAKTAMAZ GENLERİNİN ARAŞTIRILMASI

Meryem GEZİCİ

Recep Tayyip Erdoğan Üniversitesi
Fen Bilimleri Enstitüsü
Biyoloji Ana Bilim Dalı
Yüksek Lisans Tezi
Danışmanı: Yrd. Doç. Dr. Fatih Ş. BERİŞ

Antibiyotiklerin klinik kullanıma girmesinin ardından kullanıma bağlı olarak zaman içerisinde bakterilerde antibiyotiklere karşı direnç meydana gelmiştir. Bunların içerisinde en yaygın olan grup beta laktamazlardır. Bu çalışma da Trabzon ve Giresun illerindeki hastalardan izole edilen *Klebsiella pneumoniae* suşlarının antibiyotik direnç profillerinin belirlenmesi ve bu iki ildeki betalaktamaz genlerinin çeşitlerinin ve sıklığının araştırılması amaçlanmıştır. Bu çalışmada, 2013-2014 yılları arasında Akçabat Haçkalı Baba Devlet Hastanesi ve Giresun Devlet Hastanesi'nin çeşitli kliniklerinden RTEÜ Fen Ed. Fak. Biyoloji Bölümü Moleküler Biyoloji Laboratuvarı'na gönderilen örneklerden izole edilen 81 adet *Klebsiella pneumoniae* suşları 16S rRNA gen sekansı ile doğrulandıktan sonra PZR yöntemi ile betalaktamaz genleri tespit edildi. Klonlama sonucu elde edilen plazmitler sekans için MacroGen'e gönderildi ve sekans sonuçları değerlendirildi. Akçabat Haçkalı Baba Devlet Hastanesinde çalışılan 26 örneğin Ampisilin-sulbaktam ve trimetoprim-sulfometaxazol antibiyotiklerine yüksek oranda dirençlilik gösterdiği, imipenem ve meropenem antibiyotiklerine karşı oldukça duyarlı olduğu gözlemlendi. Giresun Devlet hastanesi'nde çalışılan 55 örneğin seftazidim ve sefazoline dirençlilik gösterdiği ayrıca Akçabat Haçkalı Baba Devlet Hastanesinde çalışılan örneklerle benzer olarak imipenem ve meropenem antibiyotiklerine karşı duyarlı olduğu saptandı. Ayrıca yapılan çalışma sonunda *bla*_{IMP}, *bla*_{OXA-48}, *bla*_{OXA-58}, *bla*_{PER-2}, *bla*_{GES}, *bla*_{VIM}, *bla*_{VEB}, *bla*_{NDM-1} direnç genleri tespit edilemezken, 40 suşta *bla*_{SHV}, 10 suşta *bla*_{TEM}, 10 suşta *bla*_{CTX-M1}, 1 suşta *bla*_{CTX-M2}, 9 suşta *bla*_{OXA-23}, 2 suşta *bla*_{OXA-24} ve 2 suşta *bla*_{OXA-51} saptandı.

2015, 64 sayfa

Anahtar Kelimeler: *Klebsiella pneumoniae*, betalaktamaz, PZR, Trabzon, Giresun

ABSTRACT

INVESTIGATION OF ANTIBIOTIC RESISTANCY PROFILES AND BETA LACTAMASES GENES OF *Klebsiella pneumoniae* STRAINS ISOLATED FROM TRABZON AND GİRESUN HOSPITALS

Meryem GEZİCİ

Recep Tayyip Erdoğan University
Graduated School of Natural and Applied Sciences
Department of Biology
Master Thesis
Supervisor: Assist. Prof. Fatih Ş. BERİŞ

Following the introduction of antibiotics in clinical use, resistancy to antibiotics has occurred in bacteria. In these antibiotics, beta lactamases are the first one.

In this thesis, investigation of antibiotic resistance profiles and diversity of beta lactamase genes in *Klebsiella pneumoniae* strains from the hospitals in Trabzon and Giresun provinces was aimed. In this study, it was found beta lactamase genes by PCR in 81 *Klebsiella pneumoniae* strains from Akçaabat Haçkalı baba State Hospital and Giresun State Hospital to our laboratuaries. The cloned samples obtained from PCR fragments were sequenced by Macrogen Inc.

According to antibiotic resistance studies, the most effective antibiotics against the bacteria from Akçaabat Haçkalı baba State Hospital were imipenem and meropenem, although ampicilline-sulbactam and trimetoprime-sulfometaxazole were not effected. The most effective antibiotics against the bacteria from Giresun State Hospital were imipenem and meropenem, too. Also these strains were resistant to seftazidim and sefazoline. Although there weren't any *bla*_{IMP}, *bla*_{OXA-48}, *bla*_{OXA-58}, *bla*_{PER-2}, *bla*_{GES}, *bla*_{VIM}, *bla*_{VEB}, and *bla*_{NDM-1} genes in alla isolates, *bla*_{SHV}, *bla*_{TEM}, *bla*_{CTX-M1}, *bla*_{CTX-M2}, *bla*_{OXA-23}, *bla*_{OXA-24}, and *bla*_{OXA-51} were found in 40, 10, 10, 1, 9, 2, and 2 isolates, respectively.

2015, 64 pages

Keyword: *Klebsiella pneumoniae*, beta lactamases, PCR, Trabzon, Giresun

İÇİNDEKİLER

ÖNSÖZ	I
TEZ ETİK BEYANNAMESİ	II
ÖZET	III
ABSTRACT.....	IV
İÇİNDEKİLER	V
ŞEKİLLER DİZİNİ	VII
TABLOLAR DİZİNİ	VIII
SEMBOLLER VE KISALTMALAR DİZİNİ	IX
1. GENEL BİLGİLER.....	1
1.1 Giriş.....	1
1.2. Antibiyotik Tanımı ve Tarihçesi	2
1.2.1. Antibiyotiklerin Etki Mekanizması	3
1.3. Beta Laktam Antibiyotikler.....	5
1.3.1. Penisilinler.....	6
1.3.2. Sefalosporinler	8
1.3.3. Monobaktamlar	9
1.3.4. Karbapenemler	10
1.3.5. Betalaktamaz İnhibitörleri.....	10
1.4. Beta- Laktam Antibiyotiklerdeki Direnç Mekanizmaları	11
1.5. Beta Laktamazlar.....	12
1.5.1. Beta Laktamazların Sınıflandırılması.....	13
1.5.2. Beta Laktamazların İsimlendirilmesi	16
1.6. Genişlemiş Spekturumlu Beta- Laktamazlar.....	17
1.6.1. GSBL'lerin Laboratuvar Tanı Yöntemleri.....	23
1.6.2. GSBL Doğrulama Testleri	23
1.7. <i>Klebsiella pneumoniae</i>	26
1.7.1. Yaptığı Hastalıklar	27
1.7.2. Laboratuvar Tanısı	28
1.7.3. Epidemiyoloji ve Korunma	28
1.7.4. Tedavi.....	28
2. YAPILAN ÇALIŞMALAR	29
2.1. Klinik Örneklerin Toplanması ve İdentifikasyonu.....	29
2.2. Antibiyotik Direncinin Saptanması	30
2.3. DNA Ekstraksiyonu	30

2.4.	Polimeraz Zincir Reaksiyonu	31
2.5.	Ligasyon ve Transformasyon İşlemleri.....	34
2.6.	Sonuçların Değerlendirilmesi.....	35
3.	BULGULAR	36
4.	TARTIŞMA VE SONUÇLAR.....	43
5.	ÖNERİLER.....	46
	KAYNAKLAR	47
	ÖZGEÇMİŞ	51

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 1.	Beta-laktam halkasına göre antibiyotikler.....	6
Şekil 2.	Beta-laktam antibiyotiklerin kimyasal yapısı.....	11
Şekil 3.	Çift disk sinerji yöntemi.....	25
Şekil 4.	E test yöntemi.....	25
Şekil 5.	Yapılan çalışmanın aşamaları.....	29
Şekil 6.	CTXM1-CTXM2 PZR görüntüleri	39
Şekil 7.	TEM PZR görüntüleri	39
Şekil 8.	SHV PZR görüntüleri.....	39
Şekil 9.	OXA-23 PZR görüntüleri.....	40
Şekil 10.	SHV plazmit izolasyon görüntüsü.....	40
Şekil 11.	OXA-23 plazmit izolasyon görüntüsü.....	41

TABLolar DİZİNİ

Tablo 1.	Antibiyotiklerin etki mekanizmalarına göre sınıflandırılmaları.....	4
Tablo 2.	Sefalosporinlerin sınıflandırılması	9
Tablo 3.	Beta-laktamazların karşılaştırmalı sınıflandırılması	14
Tablo 4.	Beta-laktamaz grupları	16
Tablo 5.	TEM GSBL türevlerinde aminoasit değişiklikleri	19
Tablo 6.	SHV GSBL türevlerinde aminoasit değişiklikleri.....	20
Tablo 7.	GES, VIM, VEB, PER-2, SHV, OXA-23, OXA-24, OXA-48, OXA-51, OXA-58 genlerinin forward ve reverse primer sırası	31
Tablo 8.	NDM-1,TEM,CTX-M1 ve CTX-M2 genlerinin forward ve reverse primer sırası	33
Tablo 9.	Çalışmaya dahil edilen hastalardan alınan örnek türleri ve yüzdesi	36
Tablo 10.	Trabzon suşlarına ait antibiyotik duyarlılık test sonuçları	37
Tablo 11.	Giresun suşlarına antibiyotik duyarlılık test sonuçları.....	38
Tablo 12.	Trabzon suşlarına ait SHV sekans sonuçları	41
Tablo 13.	Giresun suşlarına ait SHV sekans sonuçları.....	42

SEMBOLLER VE KISALTMALAR DİZİNİ

Ala	Alanin
AK	Amikasin
Arg	Arjinin
Asn	Asparagin
Asp	Aspartik asit
ATM	Aztreonam
BLAST	Basic Local Alignment Search Tool
Bp	Baz çifti
CAZ	Seftazidim
CIP	Siprofloksasin
CLSI	Klinik ve Laboratuvar Standartları Kurumu
CTX-M	Sefotaksim hidroliz eden beta laktamaz
Cys	Sistein
CZ	Sefazolin
dNTP	Deoksinükleozit trifosfat
<i>E. coli</i>	<i>Escherichia coli</i>
EDTA	Etilendiamin tetraasetik asit
ETP	Ertapenem
FEP	Sefepim
FOT	Fosfomisin
GES	Guiana geniş spektrum
Gln	Glutamin
Glu	Glutamik asit
Gly	Glisin
GNB	Gram negatif bakteri
GN	Gentamisin
GPB	Gram pozitif bakteri
GSBL	Geniş spektrumlu Beta-laktamaz
His	Histidin
I	Orta duyarlı
IMP	İmipenem hidroliz eden beta laktamaz

IPM	İmipenem
IPTG	İzopropil β -D-1-tiyogalaktopironasit
İle	İzolösin
LB	Luria-Bertani
Leu	Lösin
LEV	Levofloksasin
Lys	Lizin
Mbact	Monobaktam
MBL	Metallo beta laktamazlar
MER	Meropenem
Met	Metiyonin
MHB	Müller- Hinton broth
MIR	Miriau Hospital in Providence
MİK	Minimum inhibisyon konsantrasyonu
NDM	New Delhi Metallo beta laktamaz
OXA	Oksasilinaz grup beta laktamaz
PBP	Penisilin bağlayan protein
Pen	Penisilin
PER	Pseudomonas geniş direnç beta-laktamaz
Phe	Fenil alanin
Pro	Prolin
PZR	Polimeraz Zincir Reaksiyonu
R	Direnç
S	Duyarlı
SAM	Ampisilin-sulbaktam
SCF	Sefaperazon-sulbaktam
Ser	Serin
SHV	Sulfhydryl tip beta-laktamaz
SS	Sefalosporin
Taq	<i>Thermus aquaticus</i>
TEM	Temoniera beta-laktamaz
Thr	Treonin
Tm	Erime sıcaklığı

TMP-SXT	Trimetoprim-sulfometaxazol
Trp	Triptofan
Tyr	Tirozin
TZP	Pipersalin-tazobaktam
Val	Valin
VEB	Vietnam geniş spektrumlu beta-laktamaz
VIM	Verona-İmipenemaz Metallo beta-laktamaz
X gal	5-bromo-4-kloro-3-indolil- β -D-galaktopiranosite
6-APA	6- amino penisilanik asit
7- ASA	7- aminosefalosporinik asit

1. GENEL BİLGİLER

1.1. Giriş

Enterik gram negatif bakteriler uzun zamandır hastane kökenli patojenler arasında ilk sırada yer almaktadır (Taşlı, 2003). İlk zamanlar bu infeksiyonların tedavisinde genellikle beta-laktam antibiyotikler tek başına veya diğer grup antibiyotiklerle birlikte kullanılmaktaydı. Ancak son zamanlarda bilinçsizce yada yetersiz dozda kullanılan antibiyotiklerle beraber direnç geliştiren bakteriler hızla yayılmakta ve bu dirence bağlı olarak tedavi başarısızlıkları artmaktadır. Beta-laktam antibiyotiklere karşı direnç gelişiminden sorumlu mekanizmalar içinde en önemlisi bakterilerin ürettiği beta-laktamazlardır. Son yıllarda çok sayıda beta-laktam antibiyotiği geliştirilmiş ancak klinik kullanıma giren her yeni antibiyotikle birlikte buna direnç gösteren beta-laktamazlar ortaya çıkmıştır. Gram negatif bakterilerde bulunan TEM-1, TEM-2 ve SHV-1 gibi plazmid kaynaklı betalaktamazlar ilk zamanlar sadece birinci kuşak sefalosporinleri ve penisilinleri hidrolize edebilen enzimler iken daha sonra bu enzimlerde meydana gelen mutasyonlar sonucu Genişlemiş spektrumlu beta-laktamazlar (GSBL) ortaya çıkmıştır. Genişlemiş spektrumlu beta-laktamazlar birinci kuşak sefalosporinleri ve penisilinlerde dahil olmak üzere son kuşak sefalosporinleri hidroliz etme özelliğine sahiptir. GSBL'ler, *Klebsiella pneumoniae* ve *Escherichia coli* başta olmak üzere Gram negatif *Enterobacteriaceae* üyelerinde sıklıkla görülmektedir. GSBL'ler TEM, SHV, CTX-M, PER, VEB, GES/IBC, TLA, BES, OXA olmak üzere genel olarak dokuz farklı grup içinde sınıflandırılmaktadır. Ülkemizde *Enterobacteriaceae* üyelerinde en sık TEM, SHV, CTX-M tipi enzimler görülmektedir (Özkul, 2007). *Enterobacteriaceae* üyesi olan Gram negatif *K. pneumoniae* bakterileri ilk kez 1885 yılında Paul Ehrlich tarafından izole edilmiştir. Gram negatif, kapsüllü, hareketsiz, fakültatif anaerop olan bu basiller nazokomiyal infeksiyon oluşturan etkenler arasında *Escherichia coli*'den sonra ikinci sıradadır (Aladağ, 2006).

Çalışmamızda, Trabzon ve Giresun illerindeki hastalardan izole edilen *Klebsiella pneumoniae* suşlarının antibiyotik direnç profillerinin belirlenmesi ve bu iki ildeki betalaktamaz genlerinin çeşitlerinin ve sıklığının araştırılması amaçlanmıştır.

1.2. Antibiyotik Tanımı ve Tarihçesi

Antibiyotik, çeşitli mikroorganizmalardan özellikle funguslardan elde edilen, insanlar tarafından kullanıldığında çok küçük dozlarda bile bakteriyel infeksiyonların tedavisinde kullanılan ilaçlardır. Antibiyotikler diğer bakteriler üzerinde öldürücü (bakterisidal) ve üremelerini engelleyici (bakteriyostatik) etki gösteren olmak üzere ikiye ayrılır. (URL-3)

Bakteriyel infeksiyonların antibiyotikler sayesinde önlenebileceği düşüncesi ilk olarak 19. yüzyılın ikinci yarısında Pasteur ve Joubert tarafından ortaya atılmıştır. Steril idrarda üreyen şarbon basillerinin diğer bakterilerinde bulunduğu idrarda üreyemediklerini ve hatta öldüklerini gözlemleyen araştırmacılar yaptıkları deneyler sonucunda, diğer bakterilerle kirlenmiş idrara karıştırılan şarbon basillerinin deney hayvanlarında hastalık oluşturmadığını ortaya koymaları, bakteriyel infeksiyonların antibiyotiklerle mücadele alanındaki ilk adımları oluşturmuştur (Koç, 2008).

Domagh'ın 1935 yılında yaptığı deneyler sonucunda infeksiyon hastalıklarının modern kemoterapisini sülfonamidlerle yapılabileceğini göstermiştir. Böylelikle sülfonamid çağı başlamış ve hızla gelişmiştir. 10 yıl içerisinde 5400 sülfonamid türevi antibiyotik sentezi yapılmış ve büyük bir bölümü de klinikte kullanılmıştır. Penisilinin keşfedilmesine kadar geçen sürede sülfonamidler antibakteriyel kemoterapinin en etkili ilacı olarak yaygın bir biçimde kullanılmışlardır (Koç, 2008).

Alexander Fleming stafilokok varyantları üzerinde çalışmalar yaparken, bir tesadüf sonucu kültür ortamına bulaşmış bir küf mantarının etrafında stafilokokların üreyemediklerini ve hatta öldüklerini görmüştür. Bu mantarın kültür özütlerini yaptığı çalışmalar sonucunda birçok bakteriye karşı etkili olduğunu bulmuş ve üreyen küf mantarlarının *Penicillium* türünden olmasından dolayı bulduğu bu maddeye “*Penisilin*” adını vermiştir. Florey, Chain ve Abraham'ın 1940 yılında Oxford Üniversitesi Tıp Fakültesi'nde penisilinin farelerde oluşturulan streptokok infeksiyonlarındaki etkinliğini deneysel olarak kanıtlamış ve sonuçlarını Mayıs 1940'da yayınlamışlardır (Koç, 2008).

1.2.1. Antibiyotiklerin Etki Mekanizması

Antibiyotikler etki mekanizmasına göre dört gruba ayrılmaktadır.

- a. Bakteri protein sentezini inhibe edenler
- b. Bakteri nükleik asit sentezini inhibe edenler
- c. Bakteri hücre membranının fonksiyonunu bozanlar
- d. Bakteri hücre duvarının sentezini inhibe edenler (Papin, 2009; Baştopçu, 2008; Kalkan, 2008)

a. Bakteri protein sentezini inhibe edenler

Bakteri protein sentezini inhibe ederek etki eden antibiyotikler, ribozoma bağlanarak genetik bilgilerin mRNA'dan aktarılmasını, mRNA'nın okunmasını veya mRNA'ya tRNA'nın bağlanmasını engelleyerek protein sentezini durdururlar. Aminoglikozidler, kloramfenikol, tetrasiklinler, makrolidler, linkozamidler, streptograminler, fusidik asit ve mupirosin gibi antibiyotikler bu grup içinde yer almaktadır (Kalkan, 2008).

b. Bakteri nükleik asit sentezini inhibe edenler

Bu olay birkaç farklı şekilde meydana gelmektedir. Novobiyosin, naliksik asit, florokinolon gibi antibiyotikler DNA-giraz (topoizomeraz) enzimini inhibe ederek DNA replikasyonunu önlerler. Rifamisin gibi antibiyotikler ise DNA bağımlı RNA-polimeraz enzimini inhibe ederler ve mRNA'nın üretimini engellerler. Bazı antibiyotikler ise folik asit sentezini inhibe ederek DNA replikasyonunu engeller (Kalkan, 2008).

c. Bakteri hücre membranının fonksiyonunu bozanlar

Hücre içi ortamın en önemli düzenleyicisi sitoplazmik membrandır. Bazı antibiyotikler de sitoplazmik membranın fonksiyonunu bozarak etki ederler. Böylece permeabilite bozularak hücre içi denge (homeostazi) bozulur. Bu grupta yer alan antibiyotiklere polimiksinler, kolistin, gramisidin, tirosidin örnek verilebilir (Kalkan, 2008).

d. Bakteri hücre duvarının sentezini inhibe edenler

Bakterilerin hücre duvarının temel maddesi olan peptidoglikan tabakanın sentezini inhibe ederek etki eden antibiyotiklerdir. Hücre duvar yapısının bozulması sonucunda bakteri hücresi su alarak şişer ve sonunda patlar. Hücre duvarını inhibe eden ajanlara beta-laktam antibiyotikler, glikopeptidler, basitrasin, fosfomisin, sikloserin ve izoniazidler örnek olarak verilebilir. Beta-laktamaz inhibitörlerinin antibakteriyel etkileri önemsiz gibi görünse de beraber verildiği beta-laktam antibiyotikleri, beta-laktamazların hidrolizinden koruyarak etkilerini gösterirler (Kalkan, 2008).

Tablo 1. Antibiyotiklerin etki mekanizmalarına göre sınıflandırılmaları (Koç, 2008).

Bakteri hücre duvar sentezini bozan ve enzimleri aktive edenler	Beta-Laktamlar Glikopeptitler Sikloserin Basitrasin	Sefalosporinler Penisilinler Teikoplanin Vankomisin
Sitoplazma membran permeabilitesini bozanlar (Deterjan etkisi yapanlar)		Polimiksinler Nistatin Amfoterisin B
30S ya da 50S ribozomlarına bağlanarak protein sentezini geri dönüşümlü olarak bozanlar (bakteriostatik)		Tetrasiklinler Eritromisin Klindamisin Pristinamisin
30S ribozomuna bağlanarak protein sentezini değiştiren ve hücre ölümüne neden olanlar		Aminoglikozitler
Bakteriyel nükleik asit metabolizmasını değiştirenler (DNA ve RNA sentezini bozanlar)		Rifampisinler (RNA polimeraz inhibisyonu) Kinolonlar (topoizomeraz inhibisyonu)
Bakteriyel antimetabolitler		Trimetoprim Sulfonamidler

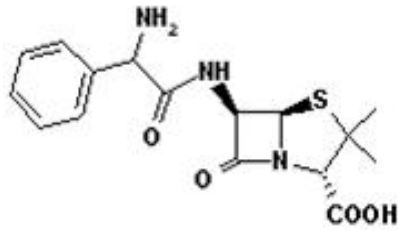
1.3. Beta-Laktam Antibiyotikler

Beta-laktam antibiyotiklerin günümüzde en çok kullanılan antibiyotik grubu olmasının nedeni toksitesinin az olması, tüm yaş gruplarına uygulanabilir olması ve bakterisidal etkisinden kaynaklanmaktadır (Balın, 2010). Beta-laktam antibiyotikler bakteri hücre duvarında bulunan peptidoglikan tabakasının sentezini bozarak etki ederler. Peptidoglikan tabaka N-asetil müramik asitin yapısında bulunan D-alanin D-alanin moleküllerinin transpeptidasyon reaksiyonu sonucunda sağlamlaşır. Bu reaksiyonda yer alan enzimlere penisilin bağlayan proteinler (PBP) adı verilir. Beta-laktam antibiyotiklerin yapısı D-alanin D-alanin molekülüne çok benzediğinden beta-laktam antibiyotikleri PBP ile reaksiyona girererek transpeptidasyonu engellerler. Böylelikle hücre duvar yapısı bozulan bakteride ozmotik direnç kaybı ve ölüm meydana gelmektedir. Bu antibiyotiklerin hedeflerine bağlanmaları ve etkinlik göstermeleri için gram negatif bakterilerde (GNB) de protein kanalcıklarından geçmeleri ve periplazmik boşlukta yer alan beta-laktamazlardan etkilenmemeleri gerekmektedir. Gram-pozitif bakterilerde (GPB) dış membran tabakası bulunmadığından kalın bir peptidoglikan tabaka bulunmaktadır. Beta-laktamazlar bu kalın peptidoglikan tabakaya yapışık veya bakteri hücresi etrafında serbest olarak yer almaktadır (Kıraç, 2011).

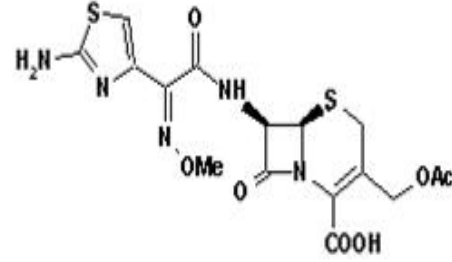
Beta-laktam antibiyotikler 5 gruba ayrılmaktadır.

1. Penisilinler
2. Sefalosporinler
3. Monobaktamlar
4. Karbapenemler
5. Betalaktamaz inhibitörler (klavulonik asit, sulbaktam, tazobaktam)'dir (Altuğ, 2009; Özçınar, 2003).

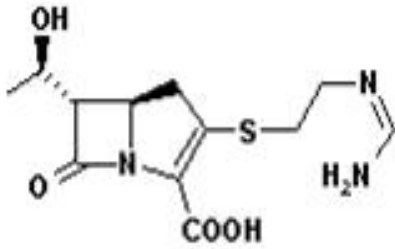
Bu beş grubunda ortak özelliği yapılarında 4 atomlu beta-laktam adı verilen halka bulundurmalarıdır. Beta-laktam antibiyotikleri beta-laktam halkasına bağlanan diğer halkalar ve yan zincirlere göre adlandırılır (Şekil 1)



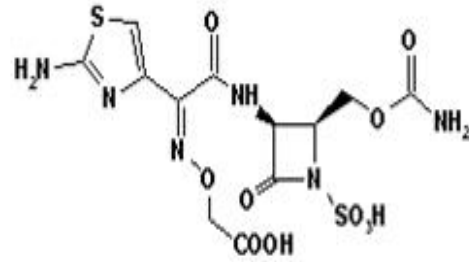
Penisilin



Sefalosporin



Karbapenem



Monobaktam

Şekil 1. Beta-laktam halkasına göre antibiyotikler

1.3.1 Penisilinler

Keşfedilen ve ilk kullanılan beta laktam antibiyotiği olan penisilin 1929 yılında Alexander Fleming tarafından *Penicillium notatum*'dan elde edilmiştir. Stafilokoklar üzerinde etkili olan bu madde ilk zamanlar penisilin G olarak adlandırılmıştır. Daha sonra Howard Florey ve arkadaşları tarafından penisilin üretimi özel işleme alınmıştır (Günaydın, 2013). Penisilinün esas yapısı 6- amino penisilanik asitten (6-APA) oluşmaktadır. Bu çekirdek yapısı ise bir β -laktam halkası ve buna bağlı beşli tiazolidin halkasından oluşur. Tiazolidin halkasında bulunan karboksil grubuna başka maddeler eklenmesiyle çeşitli penisilin türevleri oluşur.

Penisilinler yapılarına ve etkilerine göre farklı şekilde gruplandırılmaktadır.

a. Doğal penisilinler: Penisilin G (Benzil penisilin)

Penisilin V (Fenoksimetil penisilin)

Penisilin G daha çok Gram pozitif bakterilere karşı etkilidir. Gram negatif bakteriler hücre duvarlarının yapısal farklılığından dolayı bu antibiyotiklere karşı geçirgen değildirler. Doğal penisilinler, tüm penisilinler içinde gram pozitif bakterilere karşı en etkili gruptur (Günaydın, 2013; Yanık, 2003).

b. Penisilinaza dayanıklı penisilinler: Metisilin,
Nafsilin,
İzaksazolil penisilin,

Bu grupta yer alan penisilinler stafilokoklarda etkili olup, stafilokok dışındaki bakterilerde az etkilidirler (Yanık, 2003).

c. Aminopenisilinler: Ampisilin,
Amoksisilin,
Bakampisilin,
Siklasilin,
Episilin,

Aminopenisilinler, *Salmonella*, *Shigella* cinsi bakteriler ile *E. coli* ve *Proteus mirabilis* türlerinde etkilidir.

d. Pseudomonaslara etkili penisilinler: Karbenisilin,
İndanil karbenisilin (korindasilin),
Tikarsilin.

e. Geniş spektrumlu pseudomonaslara etkili penisilinler: Azlosilin,
Mezlosilin,
Piperasilin.

f. Amdinopenisilinler: Amdinosilin,
Pivamdinosilin.

g. Beta-laktam inhibitörlü kombine penisilinler: Ampisilin/sulbaktam,
Amoksisilin/ klavulonat,

Tikarsilin/klavulonat,
Piperasilin/tazobaktam

Bu grupta yer alan penisilinler birçok beta-laktamaza dirençli, geniş spektrumlu antibiyotiklerdir (Balın, 2010; Yanık, 2003).

1.3.2. Sefalosporinler

Sefalosporinler, 1945 yılında *Cephalosporicum acremonium* isimli bir mantardan elde edilen ve geliştirilerek antibakteriyel tedavide yaygın olarak kullanılan geniş spektrumlu bir antibiyotik türüdür (Kaya, 2009; Günaydın, 2013).

Sefalosporinler penisilinazlara penisilinlere göre daha az duyarlı olmalarına rağmen yapıları ve etki mekanizmaları bakımından penisilinlere çok benzemektedirler. Her iki beta-laktam antibiyotiğinde de beta-laktam halkası bulunmasına rağmen penisilinlerde bulunan tiazolidin yerine sefalosporinlerde dihidroitiyazin halkası bulunmaktadır. Bu nedenle, penisilinlerin ana çekirdeği 6-amino penisilanik asitten (6-APA) oluşurken sefalosporinlerin ana çekirdeği 7- aminosefalosporinik asitten (7-ASA) oluşmaktadır (Kaya, 2009).

Sefalosporinler bakterilere karşı etki spektrumlarına göre 1. kuşak, 2. kuşak, 3. kuşak ve 4. kuşak olarak sınıflandırılmışlardır (Bayhün, 2008; Kangaba, 2013; Mansur, 2010). Her kuşaktaki sefalosporinlerin beta-laktamazlardan etkilenme durumu farklılık göstermektedir. 1. kuşak sefalosporinler beta-laktamazlarca yıkıma uğrarken, 2. kuşak sefalosporinlerin çoğu beta-laktamazdan etkilenmemektedir. 3. kuşak sefalosporinler de beta-laktamazlara karşı oldukça dirençlidirler (Günaydın, 2013).

1. Kuşak (dar spektrumlu) Sefalosporinler: Bu grupta yer alan antibiyotikler gram pozitif bakterilere karşı oldukça etkili olup gram negatif bakterilere karşı değişken etki göstermektedir. *K. pneumoniae*, *E. coli* ve *P. mirabilis* 'e orta derece etkilidirler (Yanık, 2003).

2. Kuşak (genişletilmiş spekturumlu) sefalosporinler: 1. Kuşak sefalosporinlerle benzer olarak Gram pozitif bakterilere karşı oldukça etkilidirler. Ayrıca *Haemophilus influenzae*, *Neisseria gonorrhoeae*, *N. meningitidis* gibi Gram negatif bakterilere karşı 1. Kuşak sefalosporinlerden farklı olarak daha etkilidirler.

3. Kuşak (geniş spekturumlu) sefalosporinler: 1. Kuşaklara sefalosporinlere göre etkinliği fazla Gram pozitif bakterilere daha az, 2. Kuşak sefalosporinlere kıyasla Gram negatif bakterilere karşı daha fazla etkilidir (Yanık, 2003).

4. Kuşak sefalosporinler: Bu grupta yer alan antibiyotikler 3. kuşak sefalosporinlere benzemektedir ancak beta-laktamaz direnci 3. Kuşak sefalosporinlerden daha fazladır. *Proteus*, *Klebsiella*, *E.coli* ve *Pseudomonas aeruginosa*'ya karşı etkilidir (Günaydın, 2013).

Tablo 2. Sefalosporinlerin sınıflandırılması (Yanık, 2003).

1. KUŞAK	2. KUŞAK	3. KUŞAK	4. KUŞAK
Sefadroksil	Lorakarbef	Seftriakson	Sefpirom
Sefradin	Sefoksitin	Seftizoksim	Sefepim
Sefapirin	Sefmetazol	Seftazidim	
Sefalotin	Sefotetan	Sefpodoksim	
Sefaloridin	Sefuroksim	Sefotaksim	
Sefaleksil	Sefprozil	Sefiksim	
Sefazolin	Sefaronid	Sefaperazon	
	Sefonisid		
	Sefamandol		
	Sefaklor		

1.3.3 Monobaktamlar

Monobaktamlar diğer beta-laktamlardan farklı olarak yapısında beta-laktam halkasından başka yan zincir bulundurmamaktadır. Bu beta-laktamlar *Chromobacterium*, *Agrobacterium*, *Gluconobacterium*, *Flexibacterium* ve *Pseudomonas* gibi toprakta yaşayan değişik bakteriler tarafından üretilmektedir. Bu

grubun dar spektrumlu olarak adlandırılmasının nedeni Gram negatif bakterilere karşı güçlü etki gösterip Gram pozitif ve anaerobik bakterilere etkinliğinin olmamasından kaynaklanmaktadır (Günaydın, 2013). *K. pneumoniae*, *H. influenzae*, *Moraxella catarrhalis* gibi sık rastlanan gram negatif patojenlere karşı etkilidir (Balın, 2010). Günümüzde kullanılan tek monobaktam aztreonamdır.

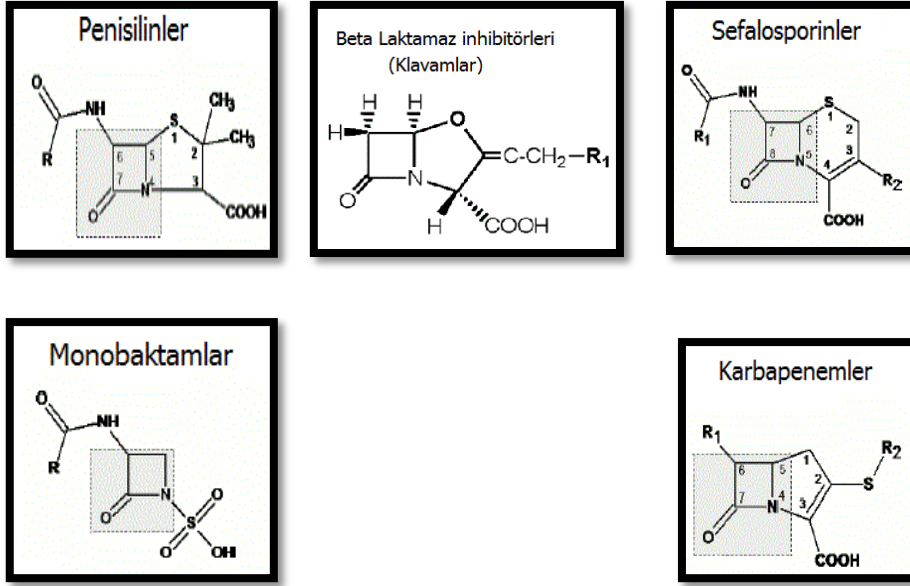
1.3.4. Karbapenemler

Karbapenemler yapısal olarak diğer beta-laktamlardan ayrılmaktadır. Halkalarında sülfür veya oksijen atomları yerine hidroksietil yan zinciri bulunmaktadır. Bu grubun etken madesi bir toprak mantarı olan *Streptomyces cattleya*'dan üretilen tienamisinidir. Karbapenemler, günümüzde geliştirilen en geniş spektrumlu beta-laktam antibiyotikleridir. Hem Gram pozitif hem de Gram negatif aerobik ve anaerobik bakterilerinin çoğuna karşı oldukça etkilidir (Kaya, 2009).

Karbapenem üyelerinden ülkemizde klinik kullanımda imipenem, meropenem ve ertapenem kullanılmaktadır. Japonya'da panipenem, biapenem ve faropenem kullanırken. ABD'de ise doripenem onay aşamasında olan karbapenem üyesidir (Günaydın, 2013).

1.3.5. Beta-laktamaz İnhibitörleri

Kimyasal yapısında beta-laktam halkası bulunduran ve bu haliyle beta-laktamlara çok benzeyen ancak tek başlarına kullanıldıklarında zayıf antibakteriyel etki gösteren maddelerdir (Günaydın, 2013; Özçınar, 2003). Ülkemizde klinikte en fazla kullanılan beta-laktamaz inhibitörleri klavulonik asit, sulbaktam, tazobaktam'dır. Bu beta-laktamaz inhibitörlerinin tek başlarına kullanıldıklarında etkileri zayıf olduğu için başka bir beta-laktam ile birlikte kullanıldığında etki göstermektedirler (Günaydın, 2013).



Şekil 2. Beta-laktam antibiyotiklerin kimyasal yapısı (URL-1)

1.4. Beta-Laktam Antibiyotiklerdeki Direnç Mekanizmaları

Spratt tarafından 1975 yılında beta-laktam antibiyotiklerin hedef molekülünün D-alanin D-alanin moleküllerinin transpeptidasyonundan sorumlu olan penisilin bağlayan proteinler olduğunu tanımlamıştır. Beta-laktam antibiyotiklerin etki gösterebilmeleri için Gram negatif bakterilerde bulunan dış zardan ve periplazmik boşluktan geçerek penisilin bağlayan proteinlere yeterli miktarda ulaşması ve bağlanması gerekir. Bakterilerin direnç geliştirebilmesi için, bu basamakların herhangi birinde bir engel oluşturması gereklidir. Bakterilerde beta-laktam antibiyotiklere karşı oluşan direnç 3 yolla gelişebilmektedir.

- A) İlacın hedef bölgesi olan PBP’de meydana gelen değişiklikler
- B) Dış membran geçirgenliğinin bozulması
- C) Betalaktamaz enzimleri ile ilacın inaktive edilmesi (Demir, 2006; Kangaba, 2013).

A) İlacın hedef bölgesi olan PBP’de meydana gelen değişiklikler

Beta-laktam antibiyotiklerin hedef bölgeleri transpeptidasyondan sorumlu olan PBP’lerdir. Membrana yapışık olarak bulunan PBP’de meydana yapısal farklılıklar; kromozomal mutasyonlar sonucu PBP’nin betalaktam antibiyotiğine olan ilgisinin

azalması veya düşük etki gösteren yeni PBP' lerin sentezlenmesi sonucu oluşmaktadır. Bu tür direnç Gram negatif bakterilerde ender görülürken Gram pozitif bakterilerde daha sık görülmektedir (Şahin, 2012).

B) Dış membran geçirgenliğinin bozulması

Gram pozitif bakteriler ile gram negatif bakterilerin membran yapısında birçok farklılıklar vardır. Gram pozitif bakterilerde dış membran bulunmazken Gram negatif bakterilerde bulunan dış membran beta-laktam antibiyotiklerine karşı bir engel oluşturmaktadır. Beta-laktam molekülleri, dış membranda bulunan porlar yoluyla hücre içine alınır. Dış membran proteinlerinin sentezinin azalmasına neden olan ya da bu proteinlerde değişikliğe yol açan mutasyonlar, beta-laktam antibiyotiğe duyarlılığın azalmasına sebep olmaktadır. Bu tip direnç özellikle *E. coli* ve *Pseudomonas aeruginosa* suşlarında gözlenmiştir (Balın, 2010).

C) Beta-laktamaz enzimleri ile ilacın inaktive edilmesi

Beta-laktamlar, bakterilerde bulunan peptidoglikan tabakanın sentezinden sorumlu olan transpeptidasyon reaksiyonlarını engelleyerek hücre duvarı sentezini inhibe ederek etki gösterirler. Beta-laktamazlar, beta-laktamların etkisini siklik amid bağını parçalayarak yok eden enzimler olup, beta-laktamaz genleri bakteri kromozomunda ya da plazmid, tranpozon, integron gibi hareketli genetik elemanlarda da bulunabilmektedir (Balın, 2010). Şimdiye kadar çeşitli özellikler göz önünde bulundurularak yaklaşık 600 beta-laktamaz tanımlanmıştır (Yakupoğulları, 2004). Bunların yaklaşık 150 tanesi GSBL'dir. Birçok bakteri türü için önemli olan bu direnç yolu özellikle *Enterobacteriaceae* üyelerinde gözlenmektedir.

1.5. Beta-Laktamazlar

Beta-laktamazlar, beta-laktamların etkisini siklik amid bağını parçalayarak yok eden enzimlerdir. Dolayısıyla beta-laktamazlar, beta-laktam halka yapısını bozarak beta-laktam antibiyotiklere karşı dirençten sorumlu olan enzimlerdir.

Beta-laktamazlar ilk defa penisilinin mucidi Dr. Alenxander Fleming tarafından bildirilmiştir. Daha sonra ise klinikte kullanılan her yeni antibiyotiğin bulunmasıyla birlikte o antibiyotiği hidroliz eden yeni enzimler tanımlanmıştır (Yakupoğulları, 2004). Beta-laktamaz enzimleri başta *Enterobacteriaceae* üyeleri olmak üzere birçok GN bakterilerde etki etmektedir.

1.5.1. Beta-Laktamazların Sınıflandırılması

Beta-laktamaz enzimleri bazı özellikleri göz önünde bulundurarak çeşitli şekillerde sınıflandırılmıştır. Ambler beta-laktamazları aminoasit ve nükleotid dizilerine göre moleküler sınıflama, Bush substrat profillerine bakarak biyokimyasal sınıflama Sykes ve Richmond ise izoelektrik noktalarına göre sınıflama yapmıştır (Golabi, 2011; Güler, 2007; Yakupoğulları, 2004). Günümüzde en çok kullanılan sınıflandırma yöntemi olarak sınıf A, B,C, D olmak üzere Ambler tarafından yapılan sınıflandırmasıdır.

1980’de Ambler beta-laktamazları moleküler yapılarına göre A, B, C, D olmak üzere 4 sınıfa ayırmıştır (Çetin, 2006; Mansur, 2010).

Sınıf A: Bu grupta yer alan beta-laktamazlar aktif bölgelerinde serin aminoasiti taşırlar ve penisilinleri hidrolize eder. TEM, SHV, CTXM-1, CTXM-2 beta-laktamazları bu grupta yer almaktadır.

Sınıf B: Bu gruptaki beta-laktamazlar karbapenemazlardan oluşan metallo-beta-laktamazlardır ve aktivite gösterebilmeleri için çinkoya bağlı tiyol gruplarına ihtiyaç duyarlar. VIM ve IMP beta-laktamazları bu grupta yer almaktadır.

Sınıf C: Bu grupta yer alan beta-laktamazlar öncelikle sefalosporinazlardan oluşan, kromozomal AmpC geni tarafından kodlanması nedeniyle AmpC enzimler olarak da adlandırılan enzimlerdir.

Sınıf D, Oksasilinazlardan oluşan bu beta-laktamaz grubu sınıf A da olgu gibi aktif bölgelerinde serin aminoasiti taşırlar (Şahin, 2012). OXA-23, OXA-24, OXA48, OXA-51 beta-laktamazları bu grupta yer almaktadır.

Tablo 3. Beta-laktamazların karşılaştırmalı sınıflandırılması (Yakupoğulları, 2004).

Bush, Jacoby, Medeiros	Sykes ve Richmond	Ambler'in Moleküler Sınıflaması	İnhibe Olan Antibiyotik	İnhibitör Klav. EDTA		Temsilci Enzimler
1	Ia,Ib,Id	C	SS	-	-	GNB kromozomal ve plazmit kökenli AmpC enzimleri (MIR-1,BIL-1,MOX-1 vb.)
2a		A	Pen	+	-	GPB penisilinazları (NSP-1 vb.)
2b	III	A	Pen, SS	+	-	TEM-1,SHV1vb
2be	IV	A	Pen, SS,Mbact	+	-	TEM-3..29, TEM-42..43,60 vb
2br		A	Pen	+	-	TEM-30..41..59 vb
2c	II, V	A	Pen,Crb	+	-	PSE-1,PSE-3,PSE-4 ROB-1
2d	V	D	Pen,Cloks	+	-	OXA-1-21, PSE-2
2e	Ic	A	SS	+	-	<i>P. vulgaris</i> 'in indüklenebilir sefalosporinazı
2f		A	Pen,SS,Car	+	-	<i>E. cloaca</i> 'nın NMC-A ve <i>Serratia</i> 'nin Sme-1 enzimi
3		B	Car ve tüm B-lac	-	+	<i>X.malophilia</i> 'nın L1 ve <i>B.fragilis</i> 'in Cer- A enzimi
4		?SS	Pen	-	?	<i>P. cepacia</i> 'nın penisilinazları

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

1995 yılında Bush, Jacoby ve Medeiros, biyokimyasal özellikleri ve substrat profillerine göre beta-laktamazları 4 gruba ayırmışlardır (Altınkanat, 2006).

Grup 1: Bu grupta yer alan enzimlerin birçoğu kromozomal ve indüklenebilme özelliğine sahiptirler. Moleküler sınıflamada sınıf C de yer alan bu grubun AmpC tipi enzimler olarak da adlandırılmasının nedeni kromozomal ampC geni tarafından kodlanmasından kaynaklanmaktadır. Plazmid kontrolündeki FOX-1, LAT-1, MIR-1, BIL-1 beta-laktamazları da bu grupta yer almaktadır.

Grup 2: Bu grup diğer gruplara göre daha geniş kategoriye sahiptir. Bu grup substrat profilindeki farklılık nedeniyle birkaç alt gruba ayrılmaktadır. Bu grupta yer alan enzimlerin tümü moleküller sınıfı olarak A ve D'de yer almaktadır. Bu beta-laktamazlar substrat olarak penisilinleri, sefalosporinleri, kloksasilini, karbenisilini, karbapenemleri ve monobaktamları kullanmalarına göre 2a, 2b, 2c, 2d, 2e, 2be ve 2br olmak üzere 6 alt gruba ayrılırlar. 2b, 2be ve 2br alt grubunda bulunan TEM ve SHV grubu enzimlerin

linik açıdan önemli olmasının nedeni plazmidlerce taşınmalarından kaynaklanmaktadır (Kıraç, 2011).

Grup 3 (metallo β –laktamazlar): Diğer enzimlerden farklı olarak aktif bölgelerinde serin yerine bir Zn^{+2} (çinko) iyonu bulunan bu grup metallo beta-laktamaz olarak adlandırılmaktadır. Diğer gruplardan farklı olarak klavulanik asit, sulbaktam ve tazobaktam gibi inhibitörlerden etkilenmezler. Metallo beta-laktamazlar 3a, 3b ve 3c olmak üzere 3 alt gruba ayrılmıştır. 3a’da alt grubunda IMP-1-8 ve VIM-1-3 enzimleri yer alırken, 3b’de *Aeromonas*’ın karbapenemazları, 3c alt grubunda ise *Legionella gormanii*’nin yüksek sefalosporinaz aktivitesi olan metallo enzimleri bulunmaktadır.

Grup 4: Bu grupta yer alan beta-laktamazlar, klavulanik asit ile iyi inhibe olmayan penisilinazlardan oluşmaktadır. Bir tanesi dışında hepsi kromozomaldır. Yapıları henüz tam olarak saptanamadığından dolayı molekül sınıfı henüz belirlenmemiştir. Bu grupta yer alan enzimlere örnek olarak *A. faecalis*, *B. fragilis*, *C. jejuni*’den izole edilen enzimler, *Clostridium butyricum*’un indüklenebilen enzimi, *E. coli*’nin plazmid kontrolündeki SAR-2 beta-laktamazları verilebilir (Demir, 2006; Kıraç, 2011).

Tablo 4. Beta-laktamaz grupları (Altınkanat, 2006)

Beta-laktamaz Grubu	Alt grup	Molekul Sınıfı	Substratı	Örnek enzimler
1		C	Sefalosporinler	Kromozomal ve plazmid kökenli AmpC tipi enzimler (FOX, CYM)
2	2a	A	Penisilinler	Gram (+) bakterilerin (<i>S. aureus</i> , <i>S. albus</i>) penisilinazları
	2b	A	Penisilinler ve dar spektrumlu sefalosporinler	TEM-1, TEM-2, SHV-1
	2be	A	Penisilinler, sefamisinler hariç sefalosporinler, monobaktamlar	TEM ve SHV türevi GSBL'ler, PER, CTX-M, VEB, GES
	2br	A	Penisilinler	İnhibitörlere Dirençli TEM-30 ve 36, TRC-1
	2c	A	Penisilinler, Karbesilin	Karbepenisilinazlar (PSE-1, 3 ve 4, CARB-3, BRO-1, SAR-1)
	2d	D	Penisilinler Oksasilin	OXA tipi enzimler, PSE-2(OXA-10)
	2e	A	Sefalosporinler	<i>P. vulgaris</i> 'in İndüklenebilir β -laktamızı, <i>Bacteriodes fragilis</i> cep A
	2f	A	Penisilinler, sefalosporin, monobaktam, karbapenemler	Karbapenemazlar, <i>E. cloacae</i> , NMC-A IMI-1, Sme-1 ve 2, GES-2
3	3a, 3b, 3c	B	Karbapenemler dahil birçok β laktam	Çinko bağımlı karbapenemazlar, <i>Stenotrophomonas maltophilia</i> -L1
4		?	Penisilinler	<i>Burkholderia cepacia</i> 'nın Penisilinazı

1.5.2. Beta Laktamazların İsimlendirilmesi

Beta-laktamazlar etkiledikleri substratlarına, biyokimsal özelliklerine, ilk izole edildikleri; bakteri, suş, hasta ismi, eyalet isimleri, hastane isimleri gibi birçok faktöre bakılarak çeşitli şekillerde isimlendirilmiştir:

- a. Tercih ettikleri substratlara göre: CARB (karbenesilin), IMP (imipenem), OXA (oksasilin)
- b. Biyokimyasal özelliklerine göre: SHV (sülfidril hiper variabil), NBC
- c. İlk izole edildikleri bakterilere göre: AER (Aeromonas), PSE (Pseudomonas)
- e. İlk izole edildikleri suşlara göre: P99
- f. İlk izole edildikleri hasta isimlerine göre: TEM (Temoniera), BIL (Bilal), ROB gibi.
- g. İlk izole edildikleri eyaletlere göre: OHIO
- h. İlk izole edildikleri hastaneye göre: MIR (Miriau Hospital in Providence), DHA (Dhahran Hospital in Saudi Arabia) , RHH
- i. İlk defa bulan bulan kişiye göre: HMS

Son yıllarda TEM enziminden türeyen enzimlerinin sayısı fazla artmış ve bu yeni enzimlere CAZ (seftazidimaz), CTX (sefatoximaz) veya IRT (inhibitör rezistan) gibi isimler verilmiştir ancak karışıklığa neden olmuştur. Bu konudaki öneri ise; TEM'den köken alan tüm enzimlerin TEM-25, TEM-36 gibi numaralar verilmesidir (Güler, 2007).

1.6. Genişlemiş Spekturumlu Beta-Laktamazlar (GSBL, ESBL)

Genişlemiş spekturumlu beta-laktamazlar, özellikle TEM ve SHV enzimlerinin bir ile yedi aminoasit değişikliği ile oluşan mutasyona uğramış beta-laktamazlardır (Orak, 2005). Son yıllarda TEM ve SHV dışındaki beta-laktamazlardan köken alan yeni birçok genişlemiş spekturumlu beta-laktamaz enzimi tanımlanmıştır (Yanık, 2003). İlk GSBL enzimi 1983 yılında Almanya'da bildirilmiştir. 1991 yılından itibaren bütün dünyada bildirilmeye başlanmış ve her geçen gün sayıları hızla artmaktadır. Şimdiye kadar İngiltere, İspanya, Portekiz, İtalya, Yunanistan, ABD, Kuzey Afrika, Güney Amerika, Japonya ve Çin olmak üzere hemen hemen tüm uzak doğu ülkelerinde tespit edilmiştir. (Yakupoğulları, 2004). Ülkemizde ve diğer ülkelerde GSBL enzim sayısı her geçen gün artmaktadır. GSBL enzim çeşitlerinin dağılımı coğrafi olarak değişiklik göstermektedir. Almanya'da SHV-2 ve SHV-5, Fransa'da, SHV-3, SHV-4 ve TEM-3, ABD'de ise TEM-10, TEM-12 ve TEM-26 en fazla izole edilen genişlemiş spekturumlu beta-laktamazlardır. Türkiye'de de en fazla bulunan enzim ise SHV-2' dir. (Yanık, 2003).

Genişlemiş spektrumlu beta-laktamaz enzimleri genel olarak altı grupta toplanmıştır. (Güler, 2007; Yakupoğulları, 2004; Yanık, 2003) Bunlar;

- A. TEM ve SHV kökenli olan GSBL'ler
- B. TEM ve SHV kökenli olmayan GSBL'ler
- C. İnhibitör dirençli beta-laktamazlar
- D. İnhibitör dirençli ve geniş spekturumlu beta-laktamazlar
- E. Karbapenemazlar
- F. Plazmid aracılı sefalosporinazlar (sefamisinazlar)

A. TEM ve SHV Kökenli Olan GSBL'ler

TEM ve SHV kökenli olanlar genişlemiş spektrumlu beta-laktamazlar, TEM ve SHV enzimlerinin bir ile yedi aminoasit değişikliği ile oluşan mutasyona uğramış beta-laktamazlardır. TEM ve SHV kökenli geniş spekturumlu beta-laktamazların tümü klavulanat, sulbaktam ve tazobaktam gibi beta-laktamaz inhibitörlerine karşı duyarlıdır. (Orak, 2005). TEM ve SHV kökenli GSBL'ler kolaylıkla yayılmasından dolayı hastane infeksiyonlarında önemli bir problem oluşturmaktadır (Güler, 2007). GSBL enzim çeşitlerinin dağılımı coğrafi olarak değişiklik göstermektedir. Almanya'da SHV-2 ve SHV-5, Fransa'da, SHV-3, SHV-4 ve TEM-3, ABD'de ise TEM-10, TEM-12 ve TEM-26 en fazla izole edilen genişlemiş spektrumlu beta-laktamazlardır. Türkiye'de de en fazla bulunan enzim ise SHV-2' dir (Yanık, 2003).

GSBL özelliği gösteren TEM türü enzimlerin ilk türevi 1987 yılında bildirilen TEM-3'tür. TEM-1 ve TEM-2 penisilin ve türevlerini parçalayan genişlemiş spekturumlu beta-laktamazlar iken, TEM-3 ise diğer beta-laktamazlara ilave olarak 3. kuşak sefalosporinleri de parçalayabilen bir GSBL'dir (Yanık, 2003). TEM grubu beta laktamazlar *E. coli* ve *K. pneumoniae* başta olmak üzere *Enterobacteriaceae* üyelerinde çok sık bulunmaktadır. Bu tür GSBL'ler *Enterobacter aerogenes*, *Morganella morganii*, *Proteus mirabilis* ve *Salmonella spp.* gibi bakterilerde de sık görülürken *P. aeuruginosa*'da az da olsa bulunduğu bildirilmiştir (Demir, 2006).

Tablo 5. TEM GSBL türevlerinde aminoasit değişiklikleri (Taşlı, 2003)

TEM-1		TEM GSBL TÜREVLERİ
Leu 21	Phe	TEM-4,9,25,48,49,53,63
Gln 39	Lys	TEM-3,7,8,11,13,16,18,21,22,42,46,56,60,61,66,72
Ala 42	Val	TEM-42
Leu 51	Pro	TEM-60
Gly 92	Asp	TEM-57, TEM-56
Glu 104	Lys	TEM-3,4,6,8,9,14,15,16,17,18,21,22,24,26,43,46,50*,52,56,63,66
His 153	Arg	TEM-21, TEM-56
Arg 164	Ser	TEM-5,7,8,9,10,12,22,25,26,46,53,60,63
	His	TEM-6,11,16,27,28,29,43,61
Met 182	Thr	TEM,43,52,63,72
Gly 218	Glu	TEM-55
Ala 237	Gly	TEM-22
	Thr	TEM-5, TEM-24
Gly 238	Ser	TEM-3,4,8,14,15,18,19,20,21,22,25,42,47,48,49,52,66,68*,72
Glu 240	Lys	TEM-5,10,24,27,28,42,46,47,48,49,61,68*72
	Ser	TEM-50
Arg 244	Leu	TEM-54
	Ser	TEM-58
Thr 265	Met	TEM-4,9,13,25,27,42,47,48,68*
Ser 268	Gly	TEM-49

*, TEM-50 ve TEM-68 hem GSBL, hem de İRT (inhibitör rezistan TEM) özelliği taşıyan fenotiplerdir.

GSBL özelliği gösteren ilk SHV türü enzimlerin türevi 1983 yılında bulunan SHV-2' dir (Golabi, 2011). SHV-2 enzimi, SHV-1'in 238. pozisyonundaki aminoasidi glisin yerine serinin geçmesiyle oluşan bir nokta mutasyonudur (Altınkanat, 2006). TEM grubu GSBL'lere kıyasla SHV-1 den köken alan beta-laktamaz enzimlerinin sayısı daha azdır. SHV-1 enzimi ampisilin, tikarsilin ve piperasilin gibi geniş spektrumlu penisilinlere direnç gösterirken, oksimino sefalosporinlere karşı dirençli değildir (Altınkanat, 2006). SHV tipi GSBL'ler başta *K. pneumoniae* suşları olmak üzere *E. coli*, *Citrobacter diversus* ve *P. aeruginosa* suşlarında da bildirilmiştir (Özkul, 2007). SHV tipi GSBL'lerin amino asit değişiklikleri tablo 6 'da gösterilmiştir.

Tablo 6. SHV GSBL türevlerinde aminoasit değişiklikleri (Taşı, 2003)

SHV-1		SHV GSBL TÜREVLERİ
Ile 8	Phe	SHV-7, SHV-14, SHV-8
Leu 35	Gln	SHV-2a,SHV-12, SHV-13, SHV-25
Arg 43	Ser	SHV-7, SHV-14
Leu 51	Pro	SHV-60
Leu 122	Phe	SHV-21
Met 129	Val	SHV-25
Ser 130	Gly	SHV-10
Asn 158	Lys	SHV-22
Leu 173	Phe	SHV-19, SHV-20
Asp 179	Ala	SHV-6
	Asn	SHV-8
	Gly	SHV-24
Ala 187	Thr	SHV-26
Arg 205	Leu	SHV-3, SHV,4
Gly 238	Ala	SHV-13,SHV-18
	Ser	SHV-2,SHV-2a,SHV3,SHV-4,SHV-5,SHV-7,SHV-10,SHV-12,SHV-20,SHV-21,SHV-22
Glu 240	Lys	SHV-4,SHV-5,SHV-7,SHV-10,SHV-12,SHV-18,SHV-20

B. TEM ve SHV Kökenli Olmayan GSBL'lar

Bu grupta yer alan enzimler, hepsi plazmid kaynaklı olup moleküler sınıflama da A grubunda yer almaktalar ayrıca klavulanata dirençlidirler. Bu grupta yer alan enzimlere örnek olarak MEN-1, MEN-2, CTX-M1, CTX-M2, PER-1, PER-2, VEB-1 ve TOHO-1 verilebilir. İlk defa 1992 yılında Fransa'da Bernard ve arkadaşları tarafından onkoloji servisinde yatan bir hastadan izole edilen *E. coli* ve *K. pneumoniae* suşlarında bulunmuş ve MEN-1 olarak adlandırılmıştır (Orak, 2005).

CTX-M tipi enzimler başta *E. coli* ve *Salmonella typhimurium* olmak üzere bazı enterik Gram negatif bakterilerde bildirilmiştir. İlk CTX-M beta-laktamaz enzimi 1989 yılında Almanya'da bildirilmiştir (Güler, 2007). Günümüzde CTX-M ailesinde 40 enzim bulunmaktadır. CTX-M-14, CTX-M-3, CTX-M-2 bu grupta en yaygın olan enzimlerdir (Kıraç, 2011). Bu grupta yer alan enzimler diğer beta-laktam grubu antibiyotiklere oranla sefotaksime daha fazla aktivite gösterirler.

Oksisilini hidroliz eden OXA tipi enzimler ilk olarak *P. aeruginosa*'da bulunmuştur. OXA tipi enzimler TEM ve SHV tipi beta laktamazlardan farklı olarak moleküler sınıflamada sınıf D'de, fonksiyonel sınıflamada grup 2d'de bulunmaktadır (Altınkanat, 2006). OXA tipi enzimlerin OXA-1'den OXA-10'a kadar olanları beta-laktamaz grubu içinde yer alırken diğerleri geniş spektrumlu beta-laktamazlar grubu içerisinde yer alırlar (Kıraç, 2011).

PER-1 enzimi ülkemizde *S. typhimurium*, *P. aureginosa* ve *A. baumannii* izolatlarında tanımlanmıştır. PER-2 ise Türkiye'de tespit edilmeyip şimdiye kadar sadece Arjantin'de *S. typhimurium* izolatlarında tanımlanmıştır (Golabi, 2011).

TEM ve SHV kökenli olmayan beta-laktamazlar grubunda yer alan TOHO-1 1994 yılında Japonya'da VEB-1 ise Vietnam'da bir *E.coli* suşundan izole edilmiştir. VEB-1 diğerlerinden farklı olarak susbtrat olarak aztreonam ve seftazidimi kullanmaktadır (Güler, 2007).

C. İnhibitör Dirençli Beta-Laktamazlar

Bu grup üçüncü kuşak sefalosporinleri hidrolize edememelerine rağmen TEM ve SHV türü enzimlerden köken aldıklarından dolayı GSBL'lerle birlikte incelenmektedir. (Mansur, 2010). İnhibitörlere dirençli enzimlerin birçoğu TEM-1 türevidir. Sadece SHV-10 enzimi SHV türevi inhibitör dirençli enzim olarak tanımlanmıştır. İnhibitör dirençli TEM tipi beta-laktamazlar esas olarak klinik *E. coli* izolatlarında ve bazı *K. pneumoniae*, *K. oxytoca*, *P. mirabilis*, *Citrobacter freundii*, *Shigella sonnei* ve *E. cloacae* suşlarında da bulunmuştur. (Özkul, 2007).

Bu enzimlere farklı mekanizmalar ile direnç gelişmektedir. Bu mekanizmalar:

1. TEM enzimlerinin aşırı sentezlenmesi
2. İnhibitörlere dirençli B, C veya D sınıfı enzim içeriği,
3. Klasik beta-laktamazlar ile birlikte porin eksikliği olanlar (Oral, 2005).

D. İnhibitör Dirençli ve Geniş Spektrumlu Beta-Laktamazlar

İnhibitör dirençli ve geniş spektrumlu beta-laktamazlar 1997 yılında Fransa'da *E. coli* suşundan tanımlanmıştır. Plazmid kökenli inhibitör dirençli geniş spektrumlu TEM beta-laktamaz mutantları olan GSBL'lerdir. Bu grupta yer alan beta-laktamazlar geniş spektrumlu sefalosporinlere yüksek oranda dirençlilik gösterirler (Güler, 2007)

E. Karbapenemazlar

Karbapenem grubu antibiyotiklere ilgisi diğer beta-laktamlara göre daha fazla olan metallo enzimler "karbapenemaz" olarak adlandırılmaktadır. Karbapenemazlar, moleküler yapı bakımından sınıf A da veya sınıf B metallo enzimler arasında yer almaktadır. Karbapenemazlara örnek olarak Sme-1, Nmc-A, IMI-1, IMP-1 verilebilir. Plazmid kaynaklı IMP-1 hariç diğer karbapenemazlar kromozomaldır (Güler, 2007). Bu grupta yer alan enzimler imipenem ve meropenem oldukça dirençlidir. Karbapenemazlara, *Bacteroides* suşları, *Stenotrophomonas maltophilia* ve *Aeromonas hydrophilia* suşlarında çok sık rastlanılmaktadır (Yanık, 2003).

F. Plazmid Aracılı Sefalosporinazlar (Sefamisinazlar)

Bu grupta yer alan enzimler kromozoma bağlı (AmpC) olarak yerleşmiş sefalosporinazlarla bağlantılıdır. Sefamisinazların ilk enzimi *K. pneumoniae*'den izole edilen MIR-1'dir. Bu grupta bulunan enzimler *Enterobacteriaceae* üyeleri dışındaki bakterilerde gösterilememiştir (Güler, 2007). Bu enzimler üç grupta toplanmaktadır. İlk gruba örnek olarak Japonya'da *K. pneumoniae*'den izole edilen MOX-1 ve Arjantin'deki *K. pneumoniae*'den izole edilen FOX-1, İkinci gruba örnek olarak, *K. pneumoniae* suşlarından izole edilen CMY-1, CMY-2, LAT-1 ve *E. coli* suşlarından izole edilen BIL-1 ve üçüncü gruba örnek olarak ise plazmid aracılı sefalosporinazlarla uzaktan ilişkili MIR-1 verilebilir.

1.6.1. GSBL'lerin Laboratuvar Tanı Yöntemleri

Genişlemiş spektrumlu beta laktamazları saptama yöntemleri, tarama ve doğrulama testleri olarak iki kısımda incelenmektedir. Klinik ve Laboratuvar Standartları Enstitüsü'nün önerdiği genişlemiş spektrumlu beta-laktamaz tarama testleri: disk difüzyon yöntemi ve dilüsyon yöntemleri olmak üzere iki şekilde yapılır (Balın, 2010)

A. Disk difüzyon yöntemi: Disk difüzyon yöntemi sefapodoksim, seftazidim, aztreonam, sefotaksim ve seftriakson içeren antibiyotik diskler kullanılarak yapılmaktadır. Testin duyarlılığını arttırmak için bu antibiyotik disklerin bir ya da birden fazla kullanılması önerilmektedir. Oluşan zonların büyüklüğüne göre bakterinin genişlemiş spektrumlu olup olmadığı hakkında yorum yapılabilir. (Balın, 2010).

B. Dilüsyon yöntemleri: Müller-Hinton Broth (MHB) ile yapılan dilüsyon testleri ile elde edilen MİK değerlerinin seftazidim, sertriakson, aztreonam ve sefotaksim antibiyotik diskleri için ≥ 2 µg/ml, sefopodoksim antibiyotik diski için ise ≥ 8 µg/ml olarak saptanması durumunda GSBL pozitif olarak kabul edilmektedir. Tarama testinin pozitif çıkması durumunda sefotaksim ve seftazidim tek başlarına ve klavulanik asit (4 µg/ml) ile birlikte test edilmelidir (Balın, 2010).

Amerika'nın Klinik Laboratuvarlar için Standartları Belirleme (Komitesi Clinical Laboratory Standards Institute, CLSI) önerilerine göre; disk difüzyon veya dilüsyon yöntemleriyle sefotaksim, seftriakson, seftazidim, aztreonam veya sefopodoksime karşı duyarlılığın azaldığının saptanması halinde doğrulama testleri uygulanmalıdır (Golabi, 2011).

1.6.2. GSBL Doğrulama Testleri

GSBL doğrulama testlerinde birçok yöntem kullanılmaktadır. Bunlardan sık olarak kullanılan yöntemler;

A. Kombine disk yöntemi

B. Çift disk sinerji yöntemi

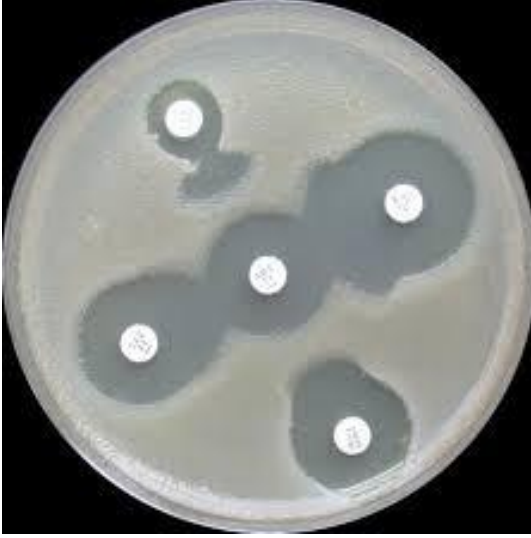
- C. E test yöntemi
- D. Mikrodilüsyon yöntemi
- E. Üç boyutlu test
- F. Vitek GSBL testi
- G. Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PZR) (Golabi, 2011)

A. Kombine Disk Yöntemi

Sefotaksim ve seftazidim disklerine 10 mg klavulonik asit eklenerek McFarland 0,5 standardı yoğunluğunda olacak şekilde hazırlanan Mueller-Hinton Agar (MHA) petrilere klavulonik asit içeren ve içermeyen sefotaksim ve seftazidim antibiyotik diskleri yerleştirilir. Bir gece boyunca 37°C'de inkübasyona bırakılır. İnkübasyondan sonra klavulonik asit içeren ve içermeyen disklerin etrafındaki inhibisyon zonları ölçülerek karşılaştırılır ve çıkan sonuca göre GSBL pozitif olup olmadığına karar verilir (Demir, 2006; Golabi, 2011).

B. Çift Disk Sinerji Yöntemi

McFarland 0,5 standardı yoğunluğunda olacak şekilde hazırlanan bakteri süspansiyonu Mueller-Hinton Agar (MHA) petrisine yayılır. Petrinin ortasına bir amoksisilin klavulonik asit diski seftazidim (CAZ) ve belli bir mesafe aralıkla seftriakson (CRO), sefotaksim (CTX) ve aztreonam (ATM) diskleri yerleştirilir. Bir gece boyunca 37°C'de inkübasyona bırakılır. İnkübasyondan sonra sefalosporin veya ATM etrafındaki inhibisyon zonunun AMC diskine doğru genişlemesi veya arada bakterinin üremediği bir sinerji alanının bulunması GSBL varlığını gösterir (Demir, 2006; Golabi, 2011).



Şekil 3. Çift disk sinerji yöntemi

C. E-test Yöntemi

E-test striplerinin bir ucunda seftazidim (TZ), diğer ucunda klavulonik asit (TZL) içerecek şekilde hazırlanmıştır. Standartlara uygun olarak hazırlanan petrilerde inkübasyondan sonra, eliptik inhibisyon zonunun stripi kestiği değer minimal inhibisyon konsantrasyonu (MİK) değerini vermektedir. Bu zon GSBL göstergesi olarak kabul edilmektedir (Demir, 2006; Golabi, 2011).



Şekil 4. E test yöntemi

D. Mikrodilusyon Yöntemi

Sefotaksim ve seftazidim MİK değerleri, hem tek başına hem de klavulonik asit varlığında ayrı ayrı belirlenir. Klavulonik asit varlığında MİK değerlerindeki azalma GSBL pozitif olarak kabul edilmektedir (Balın, 2010).

E. Üç Boyutlu Test

Test edilecek mikroorganizma agar yüzeyine yayıldıktan sonra agarda bir yarık açılır. Antibiyotik diskleri bu yarıktan 3 mm uzak olacak şekilde dizilir. Günümüzde pek kullanılan bir yöntem değildir (Balın, 2010).

F. Vitek GSBL Testi

Laboratuvarlar, Vitek kartlarını kullanırken GSBL salgılayan mikroorganizmaların MİK değeri < 8 mg/L olduğunda mikroorganizmayı duyarlı olarak kabul etmektedir. Vitek GSBL Testinde GSBL saptamasında sadece sefotaksim ve seftazidimin klavulanik asitle kombinasyonu kullanılmaktadır (Golabi, 2011).

G. Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PZR)

İstenilen spesifik oligonükleotid primerler kullanılarak betalaktamaz genleri tespit edilir. Beta-laktamazların türünü saptamak için kullanılan en kolay ve yaygın olarak kullanılan moleküler yöntemden biridir. Ancak DNA dizi analizi yapılmadan TEM ya da SHV varyantları arasında ayrımı yapılamaz (Demir, 2006; Golabi, 2011).

1.7. *Klebsiella pneumoniae*

Klebsiella cinsi; adını Alman mikrobiyolog Edwin Klebs'den almıştır. Bu genus içerisinde yer alan *Klebsiella pneumonia* bakterisi; bir hastanın balgamından 1882 yılında Carl Friedlander tarafından izole edilmiştir. *Klebsiella pneumonia*'nın yaptığı ölümcül infeksiyon olan pnömoninin Carl Friedlander tarafından tanımlanmasından

dolayı *Klebsiella pneumonia* uzun yıllar “Friedlander basili” olarak anılmıştır (Ürkmez, 2009).

Klebsiella pneumonia, *Enterobacteriaceae* familyası içerisinde yer almaktadır. Bu bakteriler hareketsiz, sporsuz, kısa ve uçları yuvarlak, 1-2 µm boy ve 0.5- 0.8 µm ende Gram negatif basillerdir (Ürkmez, 2009). Gram negatif, polisakkarid yapısında kapsüllü, aerobik ve fakültatif anaerobik özellik gösterebilen, 37°C ve pH 7 de en iyi üreyen bakterilerdir.

Polisakkarit yapısında O (somatik) ve K (kapsül) olmak üzere iki antijenleri bulunur. O antijeni; somatik antijen olarak da adlandırılmakta ve GNB hücre duvarında bulunan lipopolisakkarit yüzeyde bulunup patojen özellik gösterirler. K (Kapsül) antijenleri ise O antijenlerinin dış yüzeyinde yer alan ve bazı *Enterobacteriaceae* üyelerinde görülmektedir (Ürkmez, 2009). Serolojik tiplendirmeler bu antijenlere göre yapılır. *Klebsiella* lar bakteriosinler yaparlar. Bunlara Pneumocin adı verilir.

Doğada yaygın olarak bulunabilen bakteri; kuruluğa dirençli, sıcaklığa dayanıksız, ancak oda sıcaklığında haftalarca ve 4°C’ de aylarca canlı kalabilir.

Alem :Bacteria
Şube :Proteobacteria
Sınıf :Gamma Proteobacteria
Takım :Enterobacteriales
Familya :*Enterobacteriaceae*
Cins :*Klebsiella*
Tür :*Klebsiella pneumoniae* (Altuğ, 2009)

1.7.1. Yaptığı Hastalıklar

Klebsiella türleri doğada, insan ve hayvanların bağırsaklarında sıkça görülür. *Klebsiella* türleri insan dışkısında % 5-38, nazofarenkste ise % 1-6 oranında bulunur. Genellikle bu bölgelerde floranın geçici üyeleri olarak kabul edilirler (Beyazıt, 2009; Özmen, 2006).

K. pneumoniae öncelikle pnömoni yapar ve bakteriyel pnömonilerin % 2 sinden sorumludur. Daha çok 2 yaş altı ve 40 yaş üstü kişilerde vücut direncinin kırılması,

virütik üst solunum yolu enfeksiyonları sonrasında bu tip pnömoniler görülür. Ayrıca; piyelit, idrar ve yolu enfeksiyonları, prostatit, otitis media, sinüzit, peritonit, kolesistit menenjit, endokardit, kolesistit, anjin ve çeşitli organ hastalıklarından sorumlu olabilir.

1.7.2. Laboratuvar Tanısı

Klebsiella'nın yaptığı hastalıklara göre farklı yerlerden uygun şekilde materyaller alınır. Bunlar; balgam, idrar, boğaz veya yara sürüntüsü, BOS ve kan gibi örneklerdir. Uygun örneklerden alınarak hazırlanan preparatların gram boyası ile boyanarak gram negatif, ikişerli ve çevresinde kapsül boşluğu bulunan bakterilerin görülmesi ön tanı koydurur.

Alınan örnekler kültür için Kanlı agar, Endo agar ve EMB agar besiyerlerine ekilir. Bu besiyerlerinde mukoid, büyük, akıcı ve S veya R tipi koloniler oluşur. Bu koloniler identifikasyon işlemine tabi tutunca şu özellikler görülür. İndol negatif, metil red negatif, voges proskauer pozitif, sitrat pozitif, üre pozitif, lizin dekarboksilaz pozitifdir. Nişastayı 4 günde parçalayıp gaz yapmaları ise diğer *Enterobacteriaceae* üyelerinden ayrılmasına olanak sağlar.

1.7.3. Epidemiyoloji ve Korunma

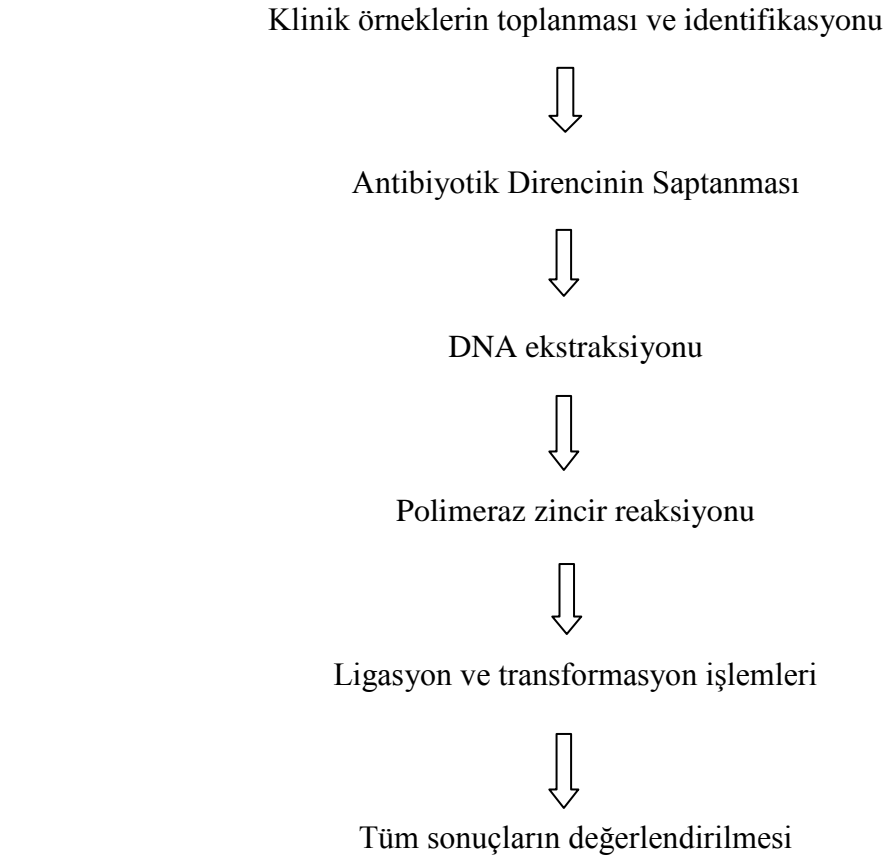
Özellikle hastane ortamlarında oluşan direnç kökenli bakteriler epidemiyolojik olarak önem taşımaktadır. Korunma amaçlı ise kişi, ortam ve materyaller için uygun dezenfeksiyon ve sterilizasyon koşullarının sağlanması gerekmektedir.

1.7.4. Tedavi

Hastalık materyallerinden izole edilen bakteri suşları kullanılarak yapılan antibiyogram testleri sonucu göre elde edilen duyarlı ve uygun antibiyotikler kullanılarak yapılmalıdır.

2. YAPILAN ÇALIŞMALAR

Bu çalışma, 2013-2014 yılları arasında Akçabat Haçkalı Baba Devlet Hastanesi (Trabzon) ve Giresun Devlet Hastanesi'nden çeşitli kliniklerinden moleküler biyoloji laboratuvarları'na gönderilen klinik örneklerden izole edilen 81 adet *Klebsiella pneumoniae* grubu bakteri ile yapılmıştır. Çalışmamızın akış şekli aşağıda gösterilmiştir.



Şekil 5. Yapılan çalışmanın aşamaları

2.1. Klinik Örneklerin Toplanması ve İdentifikasyonu

2013-2014 yılları arasında Trabzon Akçabat Haçkalı Baba Devlet Hastanesinden 26, Giresun Devlet Hastanesi'nden 55 olmak üzere çeşitli kliniklerindeki hastalardan toplanan ve izole edilen toplam 81 adet *K. pneumoniae* suşu Moleküler Biyoloji Laboratuvarı'na gönderilmiştir.

2.2. Antibiyotik Direncinin Saptanması

Antibiyotik duyarlılık testleri Trabzon Akçabat Haçkalı Baba Devlet Hastanesi'nde amikasin, ampisilin-sulbaktam, imipenem, levofloksasin, siprofloksasin, gentamisin, piperasilin-tazobaktam, seftazidim, sefaperazon-sulbaktam, meropenem, sefepim, trimetoprim-sulfometaxazol, fosfomisin E-test stripleri kullanılarak Giresun Devlet Hastanesinde ise amikasin, ampisilin-sulbaktam, imipenem, levofloksasin, siprofloksasin, gentamisin, ertapenem, piperasilin-tazobaktam, sefazolin, seftazidim ve sefaperazon-sulbaktam E-test stripleri kullanılarak ve sonuçlar CLSI (Clinical and Laboratory Standart İnstitute) kriterlerine göre değerlendirilerek Recep Tayyip Erdoğan Üniversitesi moleküler biyoloji laboratuvarına gönderilmiştir.

2.3. DNA Ekstraksiyonu

Laboratuvarımıza gönderilen *K. pneumoniae* suşları kaynatma DNA izolasyonu metodu kullanılarak DNA ekstraksiyonu aşağıdaki aşamalar izlenerek yapıldı.

- 3 mL Luria bertani besiyerine 100 µl örneğe ait stok kültüründen ekim yapıldı ve 37°C'de 16 saat çalkalayıcı etüvde büyümeye bırakıldı.
- 16 saatlik büyüme sonucu kültürler ependorf tüplere konularak 10.000 rpm de 1 dakika santrifüj yapıldı.
- Süpernatant dökülerek pellet üzerine 1 mL distile su eklendi. Daha sonra ise vorteks işlemi gerçekleştirildi.
- Son iki aşama tekrarlandı.
- Ardından ependorf tüpler 100°C lik ısıtıcı bloğa yerleştirilerek 10 dakika kaynatma işlemi gerçekleştirildi.
- Daha sonra ise soğuk santrifüjde 13.000 rpm de 10 dakika boyunca çökme işlemi gerçekleştirilerek stoklama işlemi için süpernatant alınmış ve pellet atılarak işlem tamamlandı.

2.4. Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PZR)

Çalışılan *K. pneumoniae* suşlarında *bla*_{GES}, *bla*_{IMP}, *bla*_{VIM}, *bla*_{VEB}, *bla*_{OXA-23}, *bla*_{OXA-24}, *bla*_{OXA-48}, *bla*_{OXA-51}, *bla*_{OXA-58}, *bla*_{PER-2}, *bla*_{NDM-1}, *bla*_{TEM}, *bla*_{SHV}, *bla*_{CTX-M1} ve *bla*_{CTX-M2} genlerinin varlığını araştırmak amacıyla PZR işlemi yapıldı.

GES, VIM, IMP, VEB, PER-2, SHV, OXA-23, OXA-24, OXA-48, OXA-51, OXA-58 genlerinin tespiti için polimeraz zincir reaksiyonu (PZR) yapıldı. Tek bir reaksiyon karışımı: genomik DNA 5 µl, her bir primerden 2 µl, 5 µl reaksiyon tamponu (MBI Fermentas), 3 µl 25 mM MgCl₂, 10mM 2,5 µl dNTP ve 0,5 Taq DNA polimeraz (MBI Fermentas) nihai hacimde 50 µl olacak şekilde dH₂O ilave edilerek hazırlandı.

*bla*_{GES}, *bla*_{VEB}, *bla*_{VIM}, *bla*_{OXA-23}, *bla*_{OXA-24}, *bla*_{OXA-48}, *bla*_{OXA-51}, *bla*_{OXA-58}, *bla*_{PER-2} ve *bla*_{SHV} genleri için kullanılan primerler Tablo 7’de gösterilmiştir.

Tablo 7. GES, VIM, VEB, IMP, PER-2, SHV, OXA-23, OXA-24, OXA-48, OXA-51, OXA-58 genleri için kullanılan primer sıraları

<u>İlgili Gen</u>	<u>Primer sırası (5'→3')</u>	<u>Nükleotid Uzunluğu</u>	<u>Tm Sıcaklığı</u>
GES	F: ATGCGCTTCATTCACGCAC	19	55°C
	R: CTATTTGTCCGTGCTCAGGA	20	
VIM	F: ATTGGTCTATTTGACCGCGTC	21	45 °C
	R: TGCTACTCAACGACTGAGCG	20	
VEB	F: ATTTCCCGATGCAAAGCGT	19	52 °C
	R: TTATTCCGGAAGTCCCTGT	19	
PER2	F: ATGAATGTCATCACAAAATG	20	45°C
	R: TCAATCCGGACTCACT	16	
SHV	F: ATGCGTTATATTCGCCTGTG	20	55 °C
	R: TTAGCGTTGCCAGTGCTC	18	
IMP	F:CATGGTTTGGTGGTTCTTGT	20	55 °C
	R:ATAATTTGGCGGACTTTGGC	20	
OXA23	F:GATCGGATTGGAGAACCAGA	20	52 °C
	R:ATTTCTGACCGCATTTCAT	20	
OXA24	F: GGTTAGTTGGCCCCCTTAAA	20	52 °C
	R: AGTTGAGCGAAAAGGGGATT	20	
OXA48	F: TTGGTGGCATCGATTATCGG	20	52 °C
	R:GAGCACTTCTTTTGTGATGGC	21	
OXA51	F: TAATGCTTTGATCGGCCTTG	20	52 °C
	R:TGGATTGCACTTCATCTTGG	20	
OXA58	F: AAGTATTGGGGCTTGCTG	20	52 °C
	R: CCCCTCTGCGCTCTACATAC	20	

*bla*_{GES}, *bla*_{VEB}, *bla*_{VIM}, *bla*_{OXA-23}, *bla*_{OXA-24}, *bla*_{OXA-48}, *bla*_{OXA-51}, *bla*_{OXA-58}, *bla*_{PER-2} ve *bla*_{SHV} genleri için hazırlanan reaksiyon karışımı aşağıdaki koşullar altında yapıldı. PZR reaksiyon koşulları aşağıdaki verilmiştir.

Reaksiyon koşulları

GES için;

94°C 5 dak.
 94°C 30 sn }
 72°C 1 dak. } 34 döngü
 55°C 30 sn }
 72°C 1 dak }

VIM için;

94°C 5 dak
 94°C 30 sn }
 72°C 1 dak. } 24 döngü
 57°C 45 sn }
 72°C 7 dak }

OXA-23,24,48,51,58 için;

94°C 3 dak
 94°C 25 sn }
 72°C 1 dak. } 29 döngü
 52°C 40 sn }
 72°C 50 sn }

VEB için;

94°C 5 dak
 94°C 30 sn }
 72°C 1 dak } 34 döngü
 52°C 30 sn }
 72°C 1 dak }

IMP için;

94°C 5 dak
 94°C 30 sn }
 72°C 1 dak } 24 döngü
 55°C 30 sn }
 72°C 7 dak }

PER-2 için;

94°C 5 dak
 94°C 30 sn }
 72°C 1 dak } 34 döngü
 45°C 1 dak }
 72°C 2 dak }

SHV için;

94°C 5 dak
 94°C 1 dak }
 72°C 1 dak } 31 döngü
 55°C 1 dak }
 72°C 10 dak }

*bla*_{NDM-1}, *bla*_{TEM}, *bla*_{CTX-M1} ve *bla*_{CTX-M2} genlerinin tespiti için (PZR) yapıldı. Tek bir reaksiyon karışımı: genomik DNA 5 µl, her bir primerden 1 µl, 5 µl reaksiyon

tamponu (MBI Fermentas), 3 µl 25 mM MgCl₂, 10 mM 2,5 µl dNTP ve 0,5 Taq DNA polimeraz nihai hacimde 50 µl olacak şekilde dH₂O ilave edilerek hazırlandı.

Tablo 8. NDM-1, TEM, CTX-M1 ve CTX-M2 genleri için kullanılan forward ve reverse primer sırası

<u>İlgi Gen</u>	<u>Primer sırası (5'→3')</u>	<u>Nükleotid Uzunluğu</u>	<u>Tm Sıcaklığı</u>
NDM1	F: GAGATTGCCGAGCGACTTG	19	54 °C
	R: CGAATGTCTGGCAGCACACTT	21	
CTXM1	F: GCGTGATACCACTTCACCTC	20	52 °C
	R: TGAAGTAAGTGACCAGAATC	20	
CTXM2	F: TGATACCACCACGCCGCTC	19	52 °C
	R: TATTGCATCAGAAACCGTGGG	21	
TEM	F: AGTATTCAACATTTYCGTGT	20	55 °C
	R: TAATCAGTGAGGCACCTATCTC	22	

*bla*_{NDM-1}, *bla*_{TEM}, *bla*_{CTX-M1} ve *bla*_{CTX-M2} genleri için hazırlanan reaksiyon karışımı aşağıdaki koşullar altında yapılmıştır.

Reaksiyon koşulları:

<u>NDM-1 için;</u>	<u>CTX-M1,M2 için;</u>	<u>TEM için;</u>	
94°C 3 dak	94°C 3 dak	94°C 5 dak	
94°C 45 sn	94°C 25 sn	94°C 1 dak	
72°C 1 dak	72°C 1 dak	72°C 1 dak	
54°C 1 dak	52°C 40 sn	55°C 1 dak	
72°C 2 dak	72°C 5 dak	72°C 10 dak	
} 31 döngü		} 29 döngü	
} 31 döngü		} 31 döngü	

Polimeraz zincir reaksiyonu sonucu oluşan ürünlerin görüntülenmesi ise aşağıdaki şekilde olmaktadır.

1. % 1'lik jel hazırlamak için 100 mL 10X TAE tamponunda 1 g agaroz çözüldü.
2. Çözelti oda sıcaklığına gelene kadar bekletildi ve 10 mg/mL konsantrasyonda 4 µl ethidium bromid eklenerek, elektroforez aparatına döküldü ve üzerine jel tarağı yerleştirildi.
3. Jel tamamen donduktan sonra tarak dikkatlice ayrıldı.

4. 5-10 µL'lik DNA örnekleri alınarak 2,5 µL yükleme boyası ile karıştırıldıktan sonra mikropipet yardımıyla kuyucuklara dolduruldu.
5. Jele yüklenen DNA örneklerinin moleküler ağırlıklarını belirlemek amacı ile jeldeki kuyucuklara yüklendi.
6. Jel agaroz aparatına yerleştirildi.
7. Aparata jelin üzerini kaplayacak kadar yürütme tamponu konuldu. 160 V/ cm² voltaj uygulanarak yarım saat yürütme işlemi gerçekleştirildi. Yükleme tamponunda bulunan yürütme boyasının jelde katettiği mesafeye göre elektroforez işlemi sonlandırıldı.
8. Jel daha sonra U.V. ışığı altında görüntülenme aşaması tamamlandı.

2.5. Ligasyon ve Transformasyon İşlemleri

Görüntüleme sonucu istediğimiz büyüklükteki PZR parçaları kullanılarak ligasyon aşamasına geçilmiştir. Elde edilen PZR ürünleri pGEM/T-Easy (Promega) klonlama vektörüne klonlandı. Ligasyon şartları aşağıda gösterilmiştir.

Reaksiyon şartları

pGEM-T/Easy	0,15 µl	} 16°C de 5 saat boyunca ligasyon işlemine tabi tutulmuştur.
Buffer	1,5 µl	
T4 DNA ligaz	0,15 µl	
PZR ürünü	1,2 µl	

5 saatlik ligasyon işlemi sonunda transformasyon aşamasına geçildi.

- ✓ 110 µl *E. coli* DH5α hücrelerine 5µl ligasyon ürününden eklendi.
- ✓ Ekleme sonunda buzda 30 dakika bekletildi.
- ✓ Ardından 42°C de 2 dakika Thermo-Shaker cihazında bekletildi.
- ✓ Cihazdan alındıktan sonra tekrar buzda 2 dakika bekletildi.
- ✓ Daha sonra ependorf tüpün içine 200 µl Luria Broth (LB) eklendi.
- ✓ 1.5-2 saat 37°C çalkalayıcı etüvde inkübe edildi.
- ✓ İnkübasyon sonunda 14000rpm de 1 dakika çöktürme işlemi gerçekleştirildi.
- ✓ Önceden hazırlanmış olan ampisilinli luria broth agar petrisine ilk önce 40 µl X-gal (5-bromo-4-chloro-3-indolyl-β-D-galactopyranoside) daha sonra ise 40 µl

IPTG (Isopropyl β -D-1-thiogalactopyranoside) baget yardımıyla yayıldı. Ardından ligasyon ürününü de baget yardımıyla petriye yayıldı.

- ✓ 37°C 16 saat boyunca etüvde inkübasyon işlemi tamamlandı.
- ✓ İnkübasyon sonucunda petride oluşan mavi beyaz koloniler seçilerek 3mL ampisilinli LB sıvı besiyerine ekim yapıldı. Daha sonra ekim yapılan kültürler 16 saat boyunca 37°C de çalkalayıcı etüvde büyümeye bırakıldı.
- ✓ Büyüyen plazmitler kit (Thermo Scientific) kullanılarak izolasyonu aşağıdaki aşamalara izlenerek yapıldı.
- ✓ Her bir suşun bulunduğu pelletin üzerine 250 μ l Resuspension solusyonundan konularak vorteksleme işlemi yapıldı.
- ✓ 250 μ l Lysis solusyonu eklenerek alt üst edildi.
- ✓ 350 μ l Neutralization solusyonu eklendi.
- ✓ Ardından 14000 rpm de 5 dakika santifüje tabi tutuldu.
- ✓ Çöktürme işlemi ardından süpernatant kitin içinde bulunan filtreli tüpe aktarıldı.
- ✓ 14000 rpm de 1 dakikalık santrifüj ile filtreli tüpe aktarılan süpernatant dibe çöktürülür, çöken sıvı ardından atıldı.
- ✓ Daha sonra filtreye 500 μ l wash solusyonu eklendi.
- ✓ 14000 rpm de 1 dakikalık santrifüjün ardından tekrar 500 μ l Wash solusyonu eklendi.
- ✓ Tekrar 14000 rpm de 1 dakika çöktürme işlemi yapılmıştır ardından filtreyi yeni tüpe alındı.
- ✓ 50 μ l elusyon buffer eklenerek 14000 rpm de 2 dakika santrifüje tabi tutularak plazmit izolasyon işlemi tamamlandı.

Plazmit izolasyon sonucunu görüntülemek için agaroz jel elektroforez yardımıyla görüntüleme işlemi yapıldı.

2.6. Sonuçların Değerlendirilmesi

Klonlama sonucu elde edilen plazmitlerin DNA dizi analizi için MacroGen'e (Hollanda) gönderildi. Elde edilen dizi, GenBank veri tabanı kullanılarak NCBI BLAST aramaları ile analiz edildi.

3. BULGULAR

Çalışmaya dâhil edilen Akçaabat Haçkalı Baba Devlet Hastanesi'nden 26, Giresun Devlet hastanesi'nden 55 olmak üzere toplam 81 hastadan alınan numuneler en fazla % 70 payla idrar kültürü olduğu görülmüştür. (Tablo 9)

Tablo 9. Çalışmaya dâhil edilen hastalardan alınan örnek türleri ve yüzdesi

Örnek türü	Hasta sayısı	
	N	%
İdrar kültürü	60	70,37
Kan kültürü	8	9,87
Balgam kültürü	4	4,93
Yara kültürü	4	4,93
Vajen kültürü	1	1,23
Apse kültürü	2	2,46
TAK	1	1,23
Kateter kültürü	1	1,23
Toplam	81	100

Akçaabat Haçkalı Baba Devlet Hastanesinde çalışılan 26 örneğin Ampisilin-sulbaktam ve trimetoprim-sulfometaxazol antibiyotiklerine yüksek oranda dirençlilik gösterdiği, imipenem ve meropenem antibiyotiklerine karşı % 100 duyarlı olduğu gözlenmiştir (Tablo 10).

Tablo 10. Trabzon suşlarına ait antibiyotik duyarlılık test sonuçları

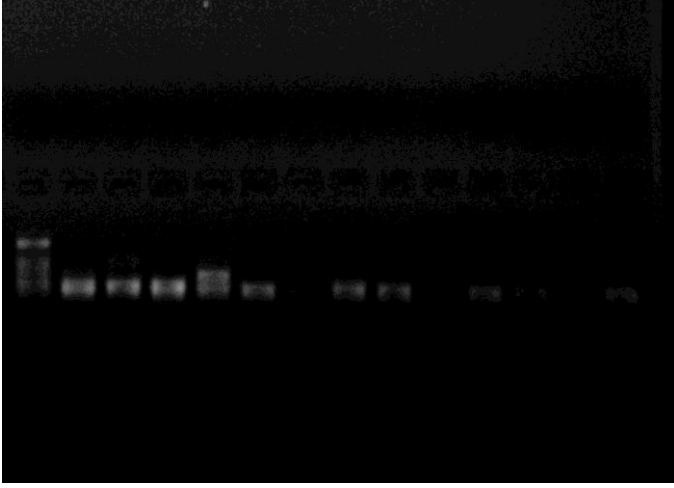
	DUYARLI		ORTA DUYARLI		DİRENÇLİ	
	N	%	N	%	N	%
Amikasin (AK)	21	80,76	5	19,23	-	-
Ampisilin-sulbaktam (SAM)	2	7,69	2	7,69	22	84,61
İmipenem (IPM)	26	100	-	-	-	-
Levofloksasin (LEV)	13	50	-	-	13	50
Siprofloksasin (CIP)	13	50	-	-	13	50
Gentamisin (CN -GN)	14	53,84	-	-	12	46,15
Piperasilin-tazobaktam (TZP)	24	92,30	1	3,84	1	3,84
Seftazidim (CAZ)	13	50	4	15,38	9	34,61
Sefaperazon-sulbaktam (SCF)	25	96,15	1	3,84	-	-
Meropenem (MEM - MER)	26	100	-	-	-	-
Sefepim (FEP)	16	61,53	3	11,53	7	26,92
Trimetoprim-Sulfometaxazol (TMP-SXT)	6	23,07	3	11,53	17	65,38
Fosfomisin (FOT)	13	50	8	30,76	5	19,23

Giresun Devlet Hastanesi'nde çalışılan 55 örneğin seftazidim ve sefazoline dirençlilik gösterdiği ayrıca Akçaabat Haçkalı Baba Devlet Hastanesinde çalışılan örneklerle benzer olarak imipenem ve meropenem antibiyotiklerine karşı duyarlı olduğu saptanmıştır.

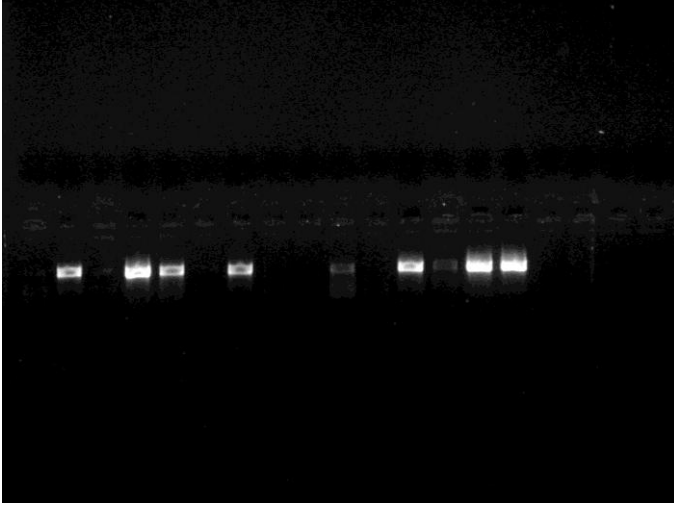
Tablo 11. Giresun suşlarına ait antibiyotik duyarlılık test sonuçları

	DUYARLI		ORTA DUYARLI		DİRENÇLİ	
	N	%	N	%	N	%
Amikasin (AK)	48	87,2	3	5,4	4	7,2
Ampisilin-sulbaktam (SAM)	5	9	1	1,8	49	89
İmipenem (IPM)	39	71	-	-	16	1,8
Levofloksasin (LEV)	24	43,6	3	5,4	28	51
Siprofloksasin (CIP)	16	29	4	7,2	32	58
Gentamisin (CN -GN)	25	45,4	-	-	30	54,5
Ertapenem (ETP)	39	71	1	1,8	15	27,2
Piperasilin-tazobaktam (TZP -TPZ)	16	29	6	11	33	60
Sefazolin (KZ -CZ)	3	5,4	-	-	52	94,5
Seftazidim (CAZ)	5	9	3	5,4	47	85,4
Sefaperazon-sulbaktam (SCF)	11	20	-	-	44	80
Meropenem (MEM - MER)	37	67,2	-	-	18	32,7
Sefepim (FEP)	10	18,1	3	5,4	42	76,3
Aztreonam (ATM)	5	9	2	3,6	48	87,2

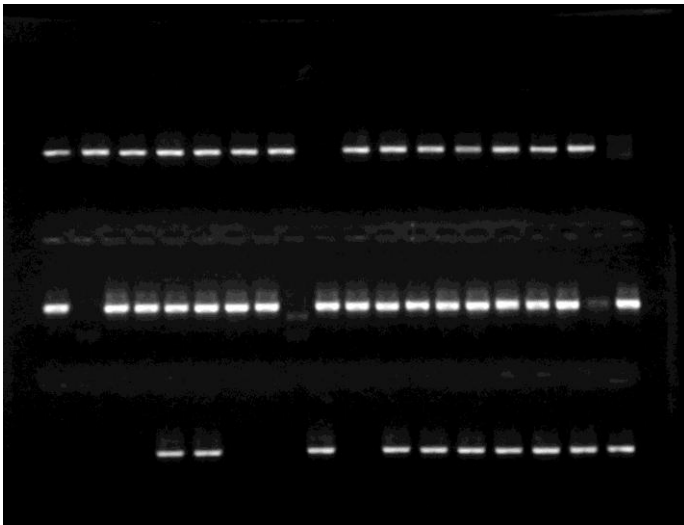
Çalışmaya dâhil edilen 81 *Klebsiella pneumoniae* suşlarında *bla*_{GES}, *bla*_{IMP}, *bla*_{VIM}, *bla*_{VEB}, *bla*_{OXA-23}, *bla*_{OXA-24}, *bla*_{OXA-48}, *bla*_{OXA-51}, *bla*_{OXA-58}, *bla*_{PER-2}, *bla*_{NDM-1}, *bla*_{TEM}, *bla*_{SHV}, *bla*_{CTX-M1} ve *bla*_{CTX-M2} genlerinin varlığını araştırmak amacıyla PZR yapıldı. PZR sonrasında 81 suştan 10'unda *bla*_{CTX-M1} (Şekil 6), 1'inde *bla*_{CTX-M2}, (Şekil 6), 7'sinde *bla*_{TEM} (Şekil 7), 40'ında *bla*_{SHV} (Şekil 8), 9' unda *bla*_{OXA-23} (Şekil 9), 2' sinde *bla*_{OXA-24} ve 2'sinde *bla*_{OXA-51} saptanmıştır. Ayrıca yapılan çalışma sonunda *bla*_{IMP}, *bla*_{OXA-48}, *bla*_{OXA-58}, *bla*_{PER-2}, *bla*_{GES}, *bla*_{VIM}, *bla*_{VEB}, *bla*_{NDM-1} genleri tespit edilememiştir.



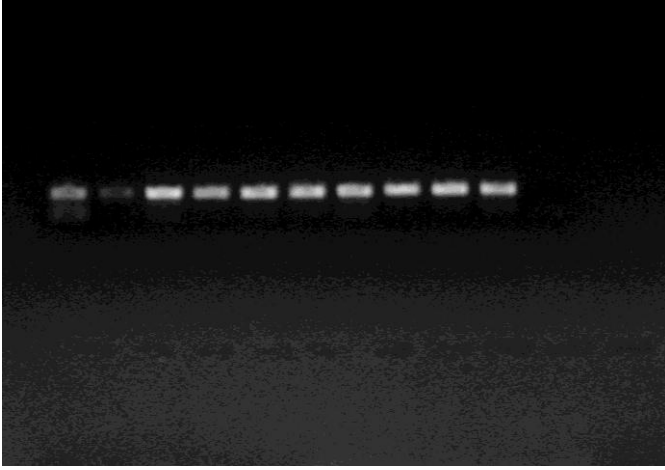
Şekil 6. CTXM-1 ve CTXM-2 PZR görüntüleri (CTXM-1=260 bp, CTXM-2=341 bp)



Şekil 7. TEM PZR görüntüleri (TEM= 847 bp)

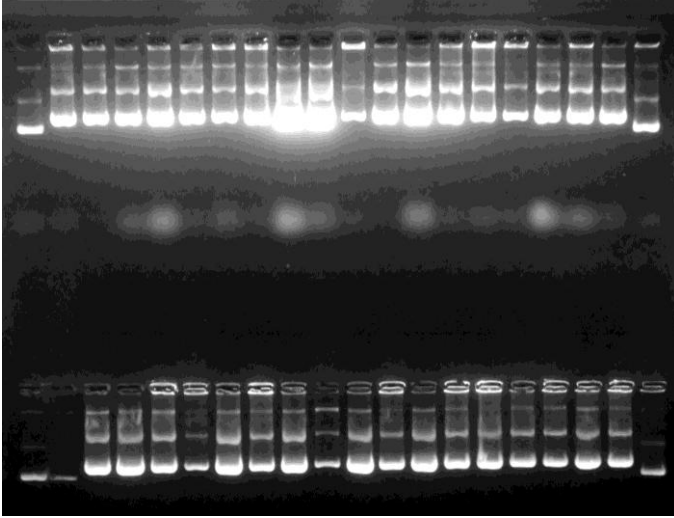


Şekil 8. SHV PZR görüntüleri (843 bp)

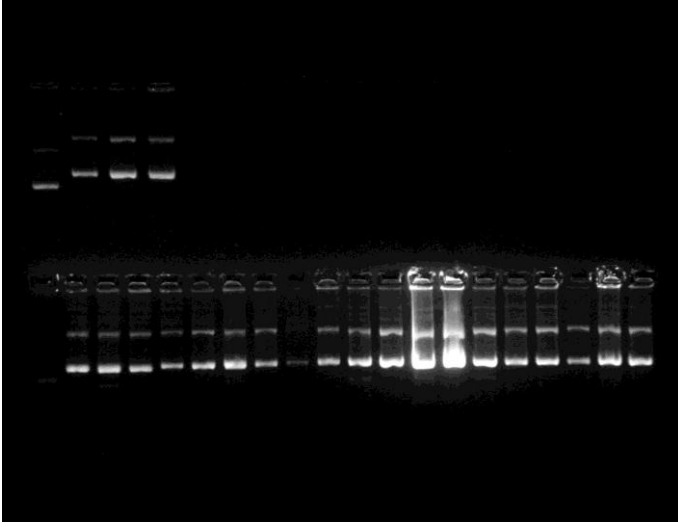


Şekil 9. OXA-23 PZR görüntüleri (OXA23= 501 bp)

PZR'da spesifik primerler ile çoğaltılan genler PGEM-T easy vektörüne aktarılmış, PZR ürününü taşıyan PGEM-T easy vektörü, *E. coli* DH5 α kompetent hücrelerine kimyasal yöntemle transforme edilerek klonlama çalışmaları yapılmıştır.



Şekil 10. SHV plazmit izolasyon görüntüsü



Şekil 11. OXA-23 plazmit izolasyon görüntüsü

Klonlama sonucu elde edilen plazmitler DNA dizi analizi için MacroGen'e (Hollanda) gönderildi. Elde edilen dizi, GenBank veri tabanı kullanılarak NCBI BLAST aramaları ile analiz edildi ve sonuçlar Tablo 12 ve 13'de gösterilmiştir.

Tablo 12. Trabzon suşlarına ait SHV sekans sonuçları

<u>Suş kodu</u>	<u>Sekans sonucu</u>
K14-3	Beta lactamase SHV
K13-3	Beta lactamase SHV
K12-2	SHV-1
K15-1	SHV-33
K17-3	SHV-1
K18-1	SHV-1
K22-3	SHV-1
K24-2	SHV-1
K25-1	SHV-38

Tablo 13. Giresun suşlarına ait SHV sekans sonuçları

<u>Suş kodu</u>	<u>Sekans sonucu</u>
G6-3	SHV38
G5-3	SHV33
G4-2	SHV1
G3-3	SHV36
G2-1	SHV85
G1-2	SHV38
G10-1	SHV38
G11-2	SHV1
G13-2	SHV41
G14-1	BETA LACTAMASE
G14-3	BETA LACTAMASE
G17-2	SHV33
G19-3	SHV36
G20-2	SHV1
G21-2	SHV-142
G22-1	SHV85
G25-2	SHV33
G27-1	SHV1
G29-2	SHV85
G30-1	SHV36
G36-1	BETA LACTAMASE
G37-1	BETA LACTAMASE
G40-1	SHV1
G43-2	SHV1
G44-2	SHV1
G46-2	SHV1
G47-2	SHV14
G50-3	BETA LACTAMASE
G53-2	SHV1
G54-3	SHV1

4. TARTIŞMA VE SONUÇLAR

Çalışmaya dâhil edilen toplam 81 hastadan izole edilen örneklerde kan, yara, idrar, vajen, balgam, apse, TAK, kateter kültürlerinden % 70,37 payla en fazla idrar kültürü olduğu görülmüştür. Parlak vd., (2012)'de yaptığı çalışmada 994 *Klebsiella pneumoniae* suşdan % 47,9 payla en fazla idrar kültürü olduğunu saptamıştır. Bu sonuç çalışmamızla benzer sonuçlar göstermektedir.

Akçaabat Haçkalı Baba Devlet Hastanesinde çalışılan 26 örneğin Ampisilin-sulbaktam ve trimetoprim-sulfometaxazol antibiyotiklerine yüksek oranda dirençlilik gösterdiği, imipenem ve meropenem antibiyotiklerine karşı % 100 duyarlı olduğu gözlenmiştir. Giresun Devlet Hastanesi'nde çalışılan 55 örneğin seftazidim ve sefazoline dirençlilik gösterdiği ayrıca Akçaabat Haçkalı Baba Devlet Hastanesinde çalışılan örneklerle benzer olarak imipenem ve meropenem antibiyotiklerine karşı duyarlı olduğu saptanmıştır.

Yapılan çalışmada Trabzon örneklerinin meropenem ve imipenem antibiyotiklerine karşı % 100 duyarlı olduğu, Giresun örneklerinin ise meropenem ve imipenem antibiyotiklere karşı sırasıyla % 67,2 ve % 71 duyarlı olduğu saptanmıştır. Yapılan başka bir çalışmada da *Klebsiella* suşlarının meropenem ve imipenem antibiyotiklerine yüksek oranda duyarlı olduğu gösterilmiştir. (Tunçcan vd., 2008.) Ağca (2011), Ünver ve Küçükbasmacı, (2008) ve Uyanık vd., (2010)'da yaptıkları çalışmalarda *Klebsiella pneumoniae* suşlarında imipenem duyarlılığını %100 olarak bulmuşlardır.

Yaptığımız çalışmada Trabzon Akçaabat Haçkalı Baba Devlet Hastanesindeki hastalardan izole edilen örnekler en fazla Ampisilin-sulbaktama (% 84,61) yüksek oranda dirençlilik gösterirken ikinci olarak ise Trimetoprim Sulfometaxazola (% 65,38) dirençlilik göstermiştir. Giresun Devlet Hastanesindeki hastalardan izole edilen örnekler Sefazolin, Ampisilin-sulbaktam, Seftazidim, Aztreonam, Sefaperazon-sulbaktam antibiyotiklere karşı dirençlilikleri sırasıyla % 94,5, % 89, % 85,4, % 87,2, % 80 olarak saptanmıştır. Güdücüoğlu vd., (2005)'de yaptığı çalışmada Aztreonam dirençliliğini 1999 yılında % 35,5 2001 yılında ise % 63,4 olarak bulmuştur. Yapılan diğer

çalışmalarda göz önünde bulundurulduğunda Aztreonam dirençliliğinin her geçen yıl arttığı görülmektedir. Yapılan başka bir çalışmada ampisilin sulbaktam dirençliliğini % 90 olarak saptanmıştır (Bülüç vd., 2003).

Günümüzde β -laktamazların farklı pozisyonlarda bulunan amino asit değişimleri esas alındığında birçok tipi (167 adet TEM ve 191 adet SHV gibi) tespit edilmiştir (URL-2).

SHV türü enzimlerin geniş spektrumlu ilk türevi 1983 yılında bildirilen SHV-2 olup, 238. pozisyonunda bulunan glisinine yerine serin amino asitinin yer alması sonucu SHV-1'den türevlenmiştir. Daha önce yapılan SHV araştırmalarında çoğunlukla SHV-2, SHV-5 ve SHV-12 bulunmuştur (Taşlı ve Bahar, 2005.) Yaptığımız çalışmada SHV benzerliğinin SHV-1, SHV-14, SHV-41, SHV-142, SHV-38, SHV-33, SHV-36 ve SHV-85 olarak bulundu.

TEM-1 enzimi ilk olarak 1965 yılında Atina'da izole edilen bir *E. coli* suşunda tespit edilmiştir. Yaptığımız bu çalışmada 7 suşta TEM-1 bulunmuş olup daha önceki yapılan çalışmalar bunu doğrular niteliktedir (Taşlı, H. and Bahar, H. 2005.)

Klebsiella pneumoniae suşlarında yüksek oranda CTX-M-1 görülmektedir. (Nazik vd., 2010) Daha önce yapılan çalışmalara benzer olarak yapılan bu çalışma da 10 suşta CTXM-1 bulundu.

Uygun olmayan antibiyotik kullanımı her geçen yıl artmakta ve buna bağlı olarak antibiyotik direnç gelişimi artmaktadır.

“Trabzon ve Giresun İllerindeki Çeşitli Hastanelerden İzole Edilen *Klebsiella pneumoniae* Suşlarında Antibiyotik Direnç Profillerinin Belirlenmesi ve Beta-laktamaz Genlerinin Araştırılması” başlıklı yüksek lisans tez çalışmasında şu sonuçlar elde edilmiştir:

1. Çalışmaya dâhil edilen Akçaabat Haçkalı Baba Devlet Hastanesi ve Giresun Devlet hastanesi’ndeki hastalardan alınan numuların en fazla idrar kültürü olduğu görülmüştür.
2. Trabzon’dan alınan suşların Ampisilin-sulbaktam ve trimetoprim-sulfometaxazol antibiyotiklerine yüksek oranda dirençlilik gösterdiği, imipenem ve meropenem antibiyotiklerine karşı % 100 duyarlı olduğu gözlenmiştir.
3. Giresun’dan alınan suşların seftazidim ve sefazoline yüksek oranda dirençlilik gösterdiği; imipenem, meropenem ve ertapenem antibiyotiklerine karşı duyarlı olduğu saptanmıştır.
4. Çalışmaya dahil edilen 81 *Klebsiella pneumoniae* suşlarından sınıf A beta-laktamazlardan SHV primerleri ile çoğaltılan örneklerden 40 tane pozitif sonuç tespit edildi.
5. İlk defa Türkiye de *Klebsiella pneumoniae* izolatlarında SHV-33 tespit edilmiştir.
6. 81 suşta 7 tane TEM direnç gen bölgesi tespit edildi.
7. Sınıf A beta-laktamazlardan CTX-M-1 ve CTX-M-2 grup primerleri ile çoğaltılan örneklerden 10 suşta CTX-M-1, 2 suşta CTX-M-2 tespit edilmiştir.
8. Sınıf D beta-laktamazlardan OXA-23, OXA-24 ve OXA51 grup primerleri ile çoğaltılan örneklerden 9 suşta OXA-23, 2 suşta OXA-24 ve 2 suşta OXA-51 tespit edilmiştir.

5. ÖNERİLER

Günümüzde beta-laktam antibiyotikleri çok kullanılmaktadır. Bu antibiyotiklerin çok kullanılan antibiyotik grubu olmasının nedeni toksitesinin az olması, tüm yaş gruplarına uygulanabilir olması ve bakterisidal olmasından kaynaklanmaktadır. Ancak bilinçsiz ve yanlış kullanıma bağlı olarak beta-laktamaz gelişimine neden olmaktadır. Bu nedenle kullanan insanın biyofilm tabakasına ciddi derecede zarar vermektedir.

Bakterilerde direnç gelişiminin önüne geçebilmek için reçetesiz antibiyotik kullanılmamalı, antibiyotikleri kullanıma uygun olarak yeterli miktarda ve bilinçli olarak kullanmak gerekmektedir. Eğer gereğinden fazla kullanılırsa vücut buna direnç sağlayarak tedaviye yanıt vermemektedir ya da tedavi aşamasında antibiyotikler bitene kadar kullanılmazsa istenilen sonuç alınmaz ve hastalığın tekrarlama riski artar.

Antibiyotikler bakterilerin üremesini engellemek veya ölmesini sağlamak için kullanılmakta fakat bilinçsizce kullanılan antibiyotikler vücuttaki yararlı bakterilerin ölmesine sebep olmaktadır. Bu yüzden bilinç antibiyotik kullanımının önüne geçilmesi gerekmektedir.

Yapılan bu çalışmada Trabzon ve Giresun illerindeki hastalardan izole edilen *Klebsiella pneumoniae* suşlarında antibiyotik direnç profillerinin belirlenmesi ve bu iki ildeki betalaktamaz genlerinin çeşitlerinin ve sıklığının araştırılması amaçlanmıştır. Diğer illerde de bu çalışmaya benzer çalışmalar yapılması o bölgelerdeki kullanılan antibiyotik türleri açısından önem arz etmektedir.

KAYNAKLAR

- Ağca, H., 2011.** Escherichia coli ve Klabsiella pneumoniae Suşlarının Genişlemiş Spektrumlu Beta-Laktamaz Üretimleri ve Antibiyotik Duyarlılık Oranları. DEÜ Tıp Fakültesi Dergisi, 25 (3), 169-173.
- Aladağ, M., 2006.** Üriner Sistem Enfeksiyonlarından İzole Edilen Klebsiella pneumoniae'ların Bazı Antibiyotik Duyarlılıkları, Plazmid Profilleri ve ESBL Özelliğinin Araştırılması. Doktora Tezi. Selçuk Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Konya, Türkiye, 92 s.,
- Altınkanat, G., 2006,** Rutin Laboratuvarımızda İzole edilen *Klebsiella pneumoniae*, *Escherichia coli* ve *Enterobacter cloacae* Kökenlerinde, Yeni Geniş Spektrumlu Beta-Laktamaz IBC-'in Fenotipik ve Genotipik Yöntemlerle Saptanması. Yüksek Lisans Tezi, Marmara Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, İstanbul, Türkiye, 64 s.,
- Altuğ, G., 2009.** Sapanca Gölü Bakteriyolojik Kirlilik Düzeyi ile *Enterobacteriaceae* Üyelerinde Beta- Laktam Antibiyotik Dirençlilik Frekansının Araştırılması. Doktora Tezi. İstanbul Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, İstanbul, Türkiye, 107 s.,
- Balın, Ş., 2010.** Toplum ve Hastane Kökenli Genişlemiş Spektrumlu Beta-Laktamaz Üreten Üropatojen *Escherichia coli* Suşlarında Çeşitli Antibiyotiklerin Minimum İnhibitör Konsantrasyonlarının Araştırılması. Uzmanlık Tezi. Fırat Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Elazığ, Türkiye, 93 s.,
- Baştopçu, A., 2008.** Toplum Kökenli ve Hastane Kökenli İnfeksiyonlardan Elde Edilen Gram Negatif Bakterilerin Kinolon Grubu Antibiyotiklere Direncinin Araştırılması. Yüksek Lisans Tezi. Atatürk Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Erzurum, Türkiye, 74 s.,
- Bayhün, S., 2008.** Klinik ve Gıda Kaynaklı Örneklerden İzole Edilen Staphylococcus aureus'un Antibiyotik Dirençliliğinin Karşılaştırılması ve Beta-Laktamaz Aktivitelerinin Değerlendirilmesi. Yüksek Lisans Tezi. Gazi Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Ankara, Türkiye, 142 s.,
- Beyazıt, H., 2009.** Solunumsal Yoğun Bakım Ünitesinde İzole Edilen Mikroorganizmalar ve Antibiyotik Direnç Durumları. Uzmanlık Tezi. Dicle Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Diyarbakır, Türkiye, 63 s.,
- Bülüç, M., Gürol, Y. Ve Bal, Ç. 2003.** Genişlemiş Spektrumlu Beta-Laktamaz Oranları: 2001-2002. Türk Mikrobiyol Cem Dergisi, 33, 31-34.
- Çetin, Ö., 2006.** Üst Solunum Yollarından İzole Edilen *Staphylococcus* ve *Moraxella* İzolatlarının Beta-Laktamaz Aktiviteleri ve Antibiyotik Duyarlılıklarının Saptanması. Yüksek Lisans Tezi. Gazi Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Ankara, Türkiye, 82 s.,

- Çıbık, O., 2004.** *Haemophilus influenzae* Suşlarında Beta- Laktam Antibiyotik Direncinin Genotip Yöntemlerle Araştırılması, Yüksek Lisans Tezi. İstanbul Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, İstanbul, Türkiye, 71 s.,
- Demir, N., 2006.** Gram Negatif Bakterilerde Genişlemiş Spekturumlu Beta-Laktamaz (GSBL) Üretiminde Katkıda Bulunan Çeşitli Risk Faktörlerinin Araştırılması. Uzmanlık Tezi. TC. Sağlık Bakanlığı, Dr. Lütfi Kırdar Kartal Eğitim ve Araştırma Hastanesi Enfeksiyon Hastalıkları ve Klinik Mikrobiyoloji Kliniği, İstanbul, Türkiye, 42 s.,
- Golabi, P., 2011.** Genişlemiş Spekturumlu Beta-Laktamaz (GSBL) Salgılayan *Escherichia coli* ve *Klebsiella pneumoniae* Enfeksiyonlarında Fataliteyi Belirleyen Faktörler ve Uygun Antibiyotik Kullanımının Rolü. Uzmanlık Tezi. Marmara Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, İstanbul, Türkiye, 53 s.,
- Güdücüoğlu, H., Bozkurt, H., Kurtoğlu, M., Yaman, G., Andiç, Ş. ve Berктаş, M. 2005.** 1999 ve 2001 Yıllarında İzole Edilen *Klebsiella pneumoniae* Suşlarının Antibiyotik Direnç Oranlarının Karşılaştırılması. Van Tıp Dergisi, 12 (2), 156-159.
- Güler, Ö., 2007.** Klinik Örneklerden İzole Edilen Bakterilerde Beta-Laktamaz Varlığının ve Çeşitli Antibiyotik Gruplarına Karşı Duyarlılıklarının Araştırılması. Uzmanlık Tezi. Atatürk Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Erzurum, Türkiye, 66 s.,
- Günaydın, M., 2013,** Çoklu Dirençli *Escherichia coli* İzolatlarında CTX-M, SHV ve TEM tiplerindeki Beta-Laktamaz Direnç Genlerinin Moleküler Yöntemlerle Saptanması. Yüksek Lisans Tezi. Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Kahramanmaraş, Türkiye, 82 s.,
- Kalkan, E., 2008.** Hastane infeksiyonlarından İzole Edilen *E.coli* Suşlarının Çeşitli Antibiyotiklere Duyarlılıkları. Yüksek Lisans Tezi. Marmara Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, İstanbul, Türkiye, 88 s.,
- Kangaba, A., 2013.** *Bacteroides fragilis* Grubu Bakterilerde Antibiyotiklere Direncin Araştırılması. Yüksek Lisans Tezi. İstanbul Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, İstanbul, Türkiye, 83 s.,
- Karagöl, Ç., 2008.** Hastane Kökenli *Acinetobacter baumannii* İzolatlarında Antibiyotik Duyarlılıkları ve İmipenem Dirençli İzolatların Genotiplenmesi. Uzmanlık Tezi. Trakya Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Edirne, Türkiye, 75 s.,
- Kaya, Y., 2009.** Seyhan Baraj Gölü'nden İzole Edilen *Enterobacteriaceae* Grubu Bakterilerde Antibiyotik Dirençliliği ve Plazmid Profillerinin Belirlenmesi. Yüksek Lisans Tezi. Çukurova Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Adana, Türkiye, 67 s.,

- Kıraç, E., 2011.** Klinik Örneklerden İzole Edilen Klebsiella İzolatlarında Antibiyotiklere Duyarlılıkları. Yüksek Lisans Tezi. Afyon Kocatepe Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Kırıkkale, Türkiye, 92 s.,
- Koç, F., 2008.** Pediatri Kliniğine Başvuran Annelerin Çocuklarda Antibiyotik Kullanımı Konusundaki Bilgi ve Tutumlarının Araştırılması. Uzmanlık Tezi. TC. Sağlık Bakanlığı, Göztepe Eğitim ve Araştırma Hastanesi Aile Hekimliği, İstanbul, Türkiye, 120 s.,
- Mansur, A., 2010.** Turgut Özal Tıp Merkezinde 2009 Yılında Nozokomiyal Pseudomonas aeruginosa İzolatlarında Antibiyotik Direnç, İndüklenebilir Beta-Laktamaz ve Metallo Beta-Laktamaz Oranlarının Belirlenmesi. Uzmanlık Tezi. İnönü Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Malatya, Türkiye, 93 s.,
- Nazik, H., Öngen, B., Sarıkaya, A., Kuvat, N. ve İlkaç, M. 2010.** Genişlemiş Spektrumlu Beta-Laktamaz Üreten Klebsiella pneumoniae Suşlarında CTX-M Tipi Beta-Laktamaz Sıklığı ve Antibiyotik Ko-rezistansı. Türkiye Klinikleri Journal of medical sciences 31(2), 300-6, Doi:10.5336/medsci.2010-19642
- Orak, F., 2005.** Hastane Enfeksiyonuna Neden Olan Gram Negatif Bakterilerde Direnç Paterni ve Genişlemiş Spektrumlu Beta- Laktamaz Tayini. Uzmanlık Tezi. Çukurova Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Adana, Türkiye, 87 s.,
- Özçınar, H., 2003.** Harran Üniversitesi Araştırma Hastanesi Mikrobiyoloji Laboratuvarında İzole Edilen *Pseudomonas aeruginosa* İzolatlarında Antibiyotik Direnç, İndüklenebilir Betalaktamaz ve Metallo Betalaktamaz Oranlarının Belirlenmesi. Uzmanlık Tezi. Harran Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Şanlıurfa, Türkiye, 92 s.,
- Özkul, H., 2007.** *Klebsiella pneumoniae* ve *Escherichia coli* Genişlemiş Spektrumlu Beta-Laktamaz Genlerinin Klonlanması. Yüksek Lisans Tezi. Dokuz Eylül Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, İzmir, Türkiye, 98 s.,
- Özmen, E., 2006.** Dicle Üniversitesi Hastanesi'nde Yatan Hastalardan İzole Edilen Gram Negatif Bakteriler ve Antibiyotik Direnci. Uzmanlık Tezi. Dicle Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Diyarbakır, Türkiye, 70 s.,
- Papin, D., 2009.** Klinik Materyallerden İzole Edilen *Escherichia coli* Suşlarında Antibiyotik Dirençlerinin Araştırılması. Yüksek Lisans Tezi. Hacettepe Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Ankara, Türkiye 76 s.,
- Parlak, M., Çıkman, A., Bektaş, A. ve Berktaş, M. 2012.** *Escherichia coli* ve *Klebsiella pneumoniae* Suşlarında Genişlemiş Spektrumlu Beta-Laktamaz Üretimi ve Antibiyotiklere Direnç: Beş Yıllık İzlem. Sakarya Medical Journal, 2(1), 11-15. Doi:10.5505/sakaryamj.2012.57441
- Şahin, E., 2012.** *Pseudomonas aeruginosa* ve *Acinetobacter baumannii* İzolatlarında Metallo Betalaktamaz ve İndüklenebilir Betalaktamaz Varlığı, Biyofilm Oluşumu

ve Çeşitleri Antibiyotik Duyarlılıklarının Araştırılması. Uzmanlık Tezi. Kırıkkale Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Kırıkkale, Türkiye, 71 s.,

Taşlı, H., 2003. Hastane Kökenli *Enterobacteriaceae* Üyelerinde Beta Laktamazların Araştırılması ve Tiplendirilmesi. Doktora Tezi. Dokuz Eylül Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, İzmir, Türkiye, 99 s.,

Taşlı, H. and Bahar, H. 2005. Molecular Characterization of TEM- and SHV- Derived Extended- Spectrum Beta-Lactamases in Hospital –Based *Enterobacteriaceae* in Turkey. Japanese journal of infectious diseases, 58, 162-167.

Tunçcan, Ö., Keten, D., Dizbay, M. ve Hızal, K., 2008. Hastane kaynaklı *Escherichia coli* ve *Klebsiella* suşlarının Ertapenem ve Diğer Antibiyotiklere Duyarlılığı. Ankem Dergisi, 22(4), 188-192.

URL-1, 2015. <http://www.infobik.com/2014/04/16/beta-laktam-antibiyotikler/>(20 Ekim 2015)

URL-2, 2015. http://www.lahey.org/Studies_ (10 Mart 2015).

URL-3, 2009. [vikipedi](http://tr.wikipedia.org/wiki/Escherichia_coli), (10 Ekim2015)

Uyanık, M., Hancı, H., Yazgı, H. ve Karameşe, M., 2010. Kan kültürlerinden soyutlanan *Escherichia coli* ve *Klebsiella pneumoniae* Suşlarında GSBL Sıklığı ve Ertapenem Dahil Çeşitli Antibiyotiklere İn-vitro Duyarlılıkları. Ankem Dergisi, 24 (2), 86-91.

Ünver, D., Küçükbasmacı, Ö. 2008. Salgın Dışı Durumlarda Dışkıda Genişlemiş Spektrumlu Beta-Laktamaz Üreten *Enterobacteriaceae* Üyelerinin Prevalansının Saptanması. Türk Mikrobiyol Cem Dergisi, 38 (3-4), 126-131.

Ürkmez, H., 2009. *Klebsiella* Suşlarının Antibiyotik Dirençliliğinin ve Plazmid Profillerinin Araştırılması ve Tiplendirilmesi. Yüksek Lisans Tezi. Hacettepe Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Ankara, Türkiye, 108 s.,

Yakupoğulları, Y., 2004. Genişlemiş Spekturumlu Beta-Laktamaz (GSBL) Üreten Bakterilerin, Değişik Antibiyotiklere Karşı Duyarlılıklarının Araştırılması. Uzmanlık Tezi. Fırat Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Elazığ, Türkiye, 87 s.,

Yanık, S., 2003. Klinik Örneklerden İzole Edilen Gram Negatif Çomaklarda Beta-Laktamaz Aktivitesi ve Antibiyotiklere Direnç Durumları. Uzmanlık Tezi. İstanbul Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, İstanbul, Türkiye, 102 s.,

ÖZGEÇMİŞ

Meryem GEZİCİ 05/03/1990 tarihinde Adana'nın Yüreğir ilçesinde doğdu. İlköğretimini 2004 yılında Adana'nın Ceyhan ilçesinde Sakarya İlköğretim Okulu'nda ve Ortaöğretimini 2007 yılında Adana'nın Ceyhan ilçesinde Ceyhan Lisesi'nde tamamladı. 07/09/2009 tarihinde başladığı lisans eğitimini 21/06/2013 tarihinde Recep Tayyip Erdoğan Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi Biyoloji Bölümü'nde 3.19 derecesi ile tamamladı. 2013 yılında Recep Tayyip Erdoğan Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Biyoloji Bölümü'nde başladığı yüksek lisans öğrenimi halen devam ettirmektedir.