

T.C.
RECEP TAYYIP ERDOĞAN ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

RİZE İLİ'NDEKİ ÇEŞİTLİ HASTANELERDEN İZOLE EDİLEN
***Klebsiella pneumoniae* SUŞLARINDA ANTİBİYOTİK DİRENÇ**
PROFİLLERİNİN BELİRLENMESİ VE BETA-LAKTAMAZ
GENLERİNİN ARAŞTIRILMASI

Dilek ÖZTÜRKOĞLU

TEZ DANIŞMANI
YRD. DOÇ. DR. FATİH ŞABAN BERİŞ
TEZ JÜRİLERİ
DOÇ. DR. CEMAL SANDALLI
YRD. DOÇ. DR. DERYA YANMIŞ

YÜKSEK LİSANS TEZİ
BİYOLOJİ ANABİLİM DALI

RİZE-2015

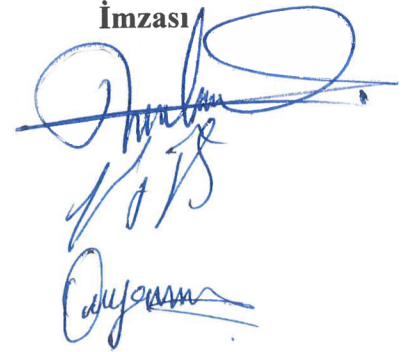
Her Hakkı Saklıdır

T.C.
RECEP TAYYİP ERDOĞAN ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

RİZE İLİNDEKİ ÇEŞİTLİ HASTANELERDE İZOLE EDİLEN *Klebsiella pneumoniae* SUŞLARINDA ANTİBİYOTİK DİRENÇ PROFİLLERİNİN BELİRLENMESİ VE BETA-LAKTAMAZ GENLERİNİN ARAŞTIRILMASI

Yrd. Doç. Dr. Fatih Ş. BERİŞ danışmanlığında, Dilek ÖZTÜRKOĞLU tarafından hazırlanan bu çalışma, Enstitü Yönetim Kurulu kararıyla oluşturulan jüri tarafından 11/01/2016 tarihinde Biyoloji Anabilim Dalı'nda **YÜKSEK LİSANS** tezi olarak kabul edilmiştir.

Jüri Üyeleri	Ünvanı Adı Soyadı
Başkan :	Doç. Dr. Cemal SANDALLI
Üye :	Yrd. Doç. Dr. Fatih Ş. BERİŞ
Üye :	Yrd. Doç. Dr. Derya YANMIŞ

İmzası



Prof. Dr. Selami ŞAŞMAZ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ MÜDÜRÜ

ÖNSÖZ

“Rize ilindeki çeşitli hastanelerde izole edilen *Klebsiella pneumoniae* 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 Meryem GEZİCİ, Aytül UZUN ve Esmâ AKYILDIZ olmak üzere tüm laboratuvar arkadaşlarıma;

Ayrıca eğitim hayatım boyunca her daim yanımda olan desteğini benden esirgemeyen tecrübelerinden yararlandığım çok saygı değer sevgili hocam Doç. Dr. Şükrü ÇELİK’e;

Hayatımın her alanında yanımda olan, maddi ve manevi her türlü desteğini esirgemeyen değerli aileme, teşekkürü borç bilirim.

Dilek ÖZTÜRKOĞLU

TEZ ETİK BEYANNAMESİ

Tarafımdan hazırlanan “Rize İli’ndeki 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. 11/01/2016

Dilek ÖZTÜRKOĞLU

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

ÖZET

RİZE İLİ'NDEKİ ÇEŞİTLİ HASTANELERDEN İZOLE EDİLEN *Klebsiella pneumoniae* SUŞLARINDA ANTİBİYOTİK DİRENÇ PROFİLERİNİN BELİRLENMESİ VE BETA-LAKTAMAZ GENLERİNİN ARAŞTIRILMASI

Dilek ÖZTÜRKOĞLU

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

Bu çalışma Rize Devlet Hastanesi ve Recep Tayyip Erdoğan Üniversitesi Eğitim ve Araştırma Hastanesi'ndeki hastalardan alınan örneklerin beta-laktamaz varlığını araştırmak amacıyla E testi yöntemiyle belirlenmiştir. Recep Tayyip Erdoğan Üniversitesi Eğitim ve Araştırma Hastanesi ve Rize Devlet Hastanesi 2011-2013 yılları arasında 121 hastaya ait 121 örnekte hastane enfeksiyonu kökenli *Klebsiella pneumoniae* izole edilmiştir. Recep Tayyip Erdoğan Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi Biyoloji Bölümü Moleküler Biyoloji Laboratuvarı'na gönderilen örnekler PZR yöntemi ile beta-laktamaz genleri tespit edildi. Klonlama sonucu elde edilen plazmitler DNA dizi analizi için Macrogen'e gönderildi ve sekans sonuçları değerlendirildi. Rize'deki hastanelerden izole edilen 121 örneklerden bir kısmında meropenem ve imipenem antibiyotiklerine duyarlılık gösterirken ampisiline yüksek oranda dirençlilik gösterdiği saptandı. Yapılan PZR çalışmaları 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 42 suшта bla_{SHV} , 19 suшта bla_{TEM} , 9 suшта bla_{CTX-M1} , 2 suшта bla_{CTX-M2} , 25 suшта bla_{OXA-23} ve 10 suшта bla_{OXA-51} saptanmıştır.

2015, 52 sayfa

Anahtar Kelimeler: *Klebsiella pneumoniaea*, beta-laktamaz, PZR, Rize

ABSTRACT

INVESTIGATION OF ANTIBIOTIC RESISTANCE PROFILES AND BETA LACTAMASE GENES OF *Klebsiella pneumoniae* STRAINS ISOLATED FROM RIZE HOSPITAL

Dilek ÖZTÜRKOĞLU

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

In this study, we aimed to investigate of antibiotic resistance profiles and beta-lactamase genes of *Klebsiella* strains collected from Rize State Hospital and Recep Tayyip Erdogan Education and Research Hospital. 121 *Klebsiella pneumoniae* strains were isolated from 121 patients in these hospitals from 2011 to 2013. After DNA isolation from the samples, beta-lactamase genes were detected by PCR in our laboratory. The PCR products were cloned in pGEM-T and the recombinant plasmids were sequenced by Macrogen Inc. As a results of antibiogram studies, we showed that the samples were resistant to ampicilline, but sensitive to meropenem and imipenem. We detected *bla_{SHV}*, *bla_{TEM}*, *bla_{CTX-M1}*, *bla_{CTX-M2}*, *bla_{OXA-23}* and *bla_{OXA-51}* in 42, 19, 9, 2, 25 and 10 respectively *bla_{IMP}*, *bla_{OXA-48}*, *bla_{OXA-58}*, *bla_{PER-2}*, *bla_{GES}*, *bla_{VIM}*, *bla_{VEB}*, and *bla_{NDM-1}* were not detected.

2015, 52 page

Keyword: *Klebsiella pneumoniae*, beta -lactamases, PCR, Rize

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. <i>Klebsiella</i> Türlerinin Morfolojileri ve Kültür Özellikleri	2
1.2.1. <i>Klebsiella</i> Türlerinin Antijen Yapıları ve Patojenite Faktörleri.....	2
1.2.2. <i>Klebsiella</i> Türlerinin Biyokimyasal Özellikleri	3
1.2.3. <i>Klebsiella</i> Türlerinin Klinik Önemi	4
1.2.4. <i>Klebsiella pneumoniae</i> 'nin Yaptığı Hastalıklar	5
1.3. Antibiyotiklerin Tanımı ve Tarihçesi.....	5
1.3.1. Antibiyotiklere Direnç Mekanizmaları	6
1.3.2. Beta-Laktam Antibiyotiklere Direnç.....	6
1.3.3. Aminoglikozid antibiyotiklere direnç mekanizmaları.....	8
1.3.4. Kloramfenikol direnci	8
1.3.5. Makrolid, Linkozamid ve Streptogramin B (MLSB) Antibiyotiklere direnç	8
1.3.6. Glikopeptid antibiyotiklerine direnç	9
1.3.7. Tetrasiklin direnci	9
1.3.8. Kinolon grubu antibiyotiklere direnç	9
1.4. Beta-laktam Antibiyotikler.....	9
1.4.1. Beta-laktamazların sınıflandırılması	10
1.5. Genişlemiş spektrumlu beta-laktamazlar	13
1.5.1. Genişlemiş spektrumlu beta-laktamazların Sınıflandırılması	13
2. YAPILAN ÇALIŞMALAR	15
2.1. Klinik örneklerin toplanması ve identifikasyonu	16
2.2. Antibiyotik Direncinin Saptanması.....	16
2.3. DNA Ekstraksiyonu	16
2.4. Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PZR).....	17

2.5.	Ligasyon ve Transformasyon İşlemleri.....	20
2.6.	Sonuçların Değerlendirilmesi.....	21
3.	BULGULAR	22
4.	TARTIŞMA VE SONUÇLAR.....	31
5.	ÖNERİLER	34
	KAYNAKLAR	35
	ÖZGEÇMİŞ	41

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 1.	Çalışmamızın akış aşamaları.....	15
Şekil 2.	SHV'e ait 1 ile 56 arası suşların jel görüntüsü.....	25
Şekil 3.	SHV'e ait 57 ile 86 arası suşların jel görüntüsü.....	25
Şekil 4.	SHV'e ait 87 ile 121 arası suşların jel görüntüsü.....	25
Şekil 5.	TEM'e ait 1 ile 38 arası suşların jel görüntüsü	26
Şekil 6.	TEM'e ait 39 ile 92 arası suşların jel görüntüsü	26
Şekil 7.	TEM'e ait 93 ile 121 arası suşların jel görüntüsü	26
Şekil 8.	OXA multiplex PZR 1 ile 34 arası jel görüntüsü	27
Şekil 9.	OXA multiplex PZR 35 ile 68 arası jel görüntüsü.....	27
Şekil 10.	SHV plazmit izolasyonu sonucu	28
Şekil 11.	SHV plazmit izolasyonu sonucu	28
Şekil 12.	TEM plazmit izolasyonu sonucu.....	28
Şekil 13.	OXA-23-24-51 plazmit izolasyonu sonucu.....	29

TABLolar DİZİNİ

Tablo 1.	<i>Klebsiella</i> Türlerinin Önemli Biyokimyasal Reaksiyonları	4
Tablo 2.	Antibiyotiklere dirençte en önemli mekanizmalar	7
Tablo 3.	Beta-laktamaz grupları ve genel özellikleri	11
Tablo 4.	GES, VIM, VEB, IMP, PER-2, SHV, OXA-23, OXA-24, OXA-48, OXA-51, OXA-58 genleri için kullanılan primer sıraları.....	17
Tablo 5.	NDM-1, TEM, CTX-M1 ve CTX-M2 genleri için kullanılan forward ve reverse primer sırası.....	19
Tablo 6.	Çalışmaya dahil edilen hastalardan alınan örnek türleri ve yüzdesi	22
Tablo 7.	Örneklerin alındığı bölümler ve hasta sayısı.....	22
Tablo 8.	Cinsiyete göre örneklerin dağılımı ve yüzdesi	23
Tablo 9.	Antibiyotik duyarlılık test sonuçları.....	24
Tablo 10.	PZR sonrasında tespit edilen gen bölgeleri ve sayısı	24
Tablo 11.	Rize suşlarının TEM sekans sonuçları.....	29
Tablo 12.	Rize suşlarının SHV sekans sonuçları.....	30
Tablo 13.	Ülkemizde çeşitli çalışmalarda <i>Klebsiella</i> spp. suşlarında saptanan direnç...	31

SEMBOLLER VE KISALTMALAR DİZİNİ

AK	Amikasin
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
CZ	Sefazolin
dNTP	Deoksinükleozit trifosfat
<i>E. coli</i>	<i>Escherichia coli</i>
ETP	Ertapenem
FEP	Sefepim
FOT	Fosfomisin
GES	Guiana geniş spektrum
GNB	Gram negatif bakteri
GN	Gentamisin
GSBL	Geniş spektrumlu Beta-laktamaz
I	Orta duyarlı
IMP	İmipenem hidroliz eden beta laktamaz
IPM	İmipenem
IPTG	Isopropyl β -D-1-thiogalactopyranoside
LB	Luria-Bertani
LEV	Levofloksasin
MBL	Metallo beta laktamazlar
MER	Meropenem
MHB	Müller-Hinton broth
MİK	Minimum inhibisyon konsantrasyonu
NDM	New Delhi Metallo beta laktamaz
OXA	Oksasilinaz grup beta laktamaz
PBP	Penisilin bağlayan protein

PER	Pseudomonas geniş direnç beta-laktamaz
PZR	Polimeraz Zincir Reaksiyonu
R	Direnç
S	Duyarlı
SAM	Ampisilin-sulbaktam
SCF	Sefaperazon-sulbaktam
SHV	Sulfhydryl tip beta-laktamaz
SS	Sefalosporin
Taq	<i>Thermus aquaticus</i>
TEM	Temoniera beta-laktamaz
Tm	Erime sıcaklığı
TMP-SXT	Trimetoprim-sulfometaxazol
TZP	Pipersalin-tazobaktam
VEB	Vietnam geniş spektrumlu beta-laktamaz
VIM	Verona-İmipenemaz Metallo beta-laktamaz
X-qal	5-bromo-4-chloro-3-indolyl- β -D-galactopyranoside
6-APA	6- amino penisilanik asit
7-ASA	7-aminosefalosporinik asit

1.GENEL BİLGİLER

1.1. Giriş

Antibiyotik kelimesi Yunanca *anti* (karşı) ve *bios* (yaşam) sözcüklerin bir araya gelmesiyle türetilmiştir. Birleştirilmiş haline bakıldığında ise antibiosis sözcüğü, sözlüklerde “mikroorganizmalar arasındaki karşıtlık” olarak tanımlanmıştır. Antibiyotik sözcüğü, birkaç farklı şekilde tanımlanmaktadır. Bir diğer tanıma göre “Bitkilerde ve küf mantarlarında bulunan bakteri ve diğer mikroorganizmaların gelişimini inhibe eden maddelerin ortak adıdır” (Türkoğlu, 2008).

Antibiyotikler ilk kullanılmaya başlandığından bugüne kadar, yaygın bir biçimde kullanımları sonucu, dirençli bakteriler meydana gelmiş ve tüm Dünya’da hızla yayılmıştır. Bazı antibiyotik kullanılması bugünlerde direnç boyutuna gelmesine rağmen tehlike boyutu gözlenmemektedir.

Antibiyotiklerin enzim yoluyla inaktive edilmesi bakterilerin kendilerini korumada en sık kullandıkları mekanizmalardan biridir. Verilebilecek en iyi örnek ise beta-laktam grubu antibiyotikleri hidroliz eden beta-laktamaz enzimleridir. Gram-negatif basillerde bulunan beta-laktamazlar 1960’larda yarı sentetik penisilinler ve sefalosporinlerin kullanılmaya başlanması ile önem kazanmaya başlamıştır.

1980 yıllarında yaygın olarak kullanılan Oksiimino-sefalosporinlerin Gram-negatif bakteriler infeksiyonların tedavisinde kullanılmaya başlanmasının ardından yeni beta-laktamazlar ortaya çıkmıştır. İlki Almanya’da bir *Klebsiella ozaenae* kökeninden gelen SHV-2 enzimidir. Etki spektrumlarının artmasından dolayı bu enzimler genişlemiş spektrumlu beta-laktamazlar olarak isimlendirilmişlerdir.

Çalışmamızda, Rize ilindeki hastalardan izole edilen *Klebsiella pneumoniae* suşlarının antibiyotik direnç profillerinin belirlenmesi ve bu ildeki beta-laktamaz genlerinin çeşitlerinin ve sıklığının araştırılması amaçlanmıştır.

1.2. *Klebsiella* Türlerinin Morfolojileri ve Kültür Özellikleri

Klebsiella türü bakteriler *Enterobacteriaceae* üyelerinin genel özelliklerini gösterir. Fakat *Enterobacteriaceae* üyelerinden farklı olarak hareketsiz özellik gösteren bazen ikişer ikişer, bazen kısa zincirler oluşturan 0,7-1,5 x 2,0-5,0 µm boyutlarında gram negatif, sporsuz, genellikle kapsüllü basillerdir. Adını XIX. yüzyılın sonlarında yaşamış Alman mikrobiyoloğu Edwin Klebs'den almıştır. Yaptığı araştırmaların sonunda *Klebsiella pneumoniae*'nin yaptığı ağır öldürücü pnömoni Carl Friedlander tarafından tanımlanmasından dolayı *Klebsiella pneumoinae* yıllarca "Friedlander basili" olarak adlandırılmıştır (Kıraç, 2011).

Klebsiella cinsinde yer alan bütün türlerin kolonilerinde mukoid yapıya sahip bir kapsül bulunmaktadır. Bu cins içerisinde yer alan *Klebsiella pneumoniae* ve *Klebsiella oxytoca* türleri hastane kaynaklı lobar pnömoniyeye sebep olan ve en sık izole edilen türlerdir (Leblebicioğlu, Usluer ve Ulusoy, 2003).

Bugüne kadar *Klebsiella* türlerinde 82 farklı kapsül antijeni bulunmuştur. Bu bakterilerde belirli bölgelerdeki enfeksiyon etkeni ile bazı kapsül tipleri arasında ilişki olabileceği şimdiye kadar yapılan çalışmalarda gösterilmiştir. *Klebsiella* cinsi, üriner sistem, alt solunum yolu, safrakesesi, cerrahi kesi yerinde enfeksiyona neden olmaktadır (Ürkmez, 2009).

1.2.1. *Klebsiella* Türlerinin Antijen Yapıları ve Patojenite Faktörleri

Klebsiella türlerinin polisakkarit yapısında O ve K antijenleri yer almaktadır. Günümüzde K antijenine bağlı tiplendirme O antijen tiplendirmelerine göre daha fazla uygulanmaktadır. Bunun nedeni K antijeni ile tiplendirmenin daha kolay olması, K antijenlerinin sayısının O antijenleri sayısından fazla olmasıdır. *Klebsiella* cinsi bakterilerin serolojik tiplendirmeleri uzman laboratuvarlarda yapılmaktadır.

A. Kapsüler Antijenler: *Klebsiella* türlerinde bakteri hücrelerini fagositozdan koruyan temel faktör polisakkarit yapısındaki kapsül virülansıdır (Golabi, 2011).

B. Fimbria: Fimbrialar bakterilerde yapışmadan sorumlu yapılardır. Bu yapılar gram negatif bakterilerde çok sık bulunurken Gram-pozitiflerin bazılarında bulunmaktadır. Oksijen, sıcaklık, pH gibi ortam koşulları çok kırılğan yapıda olan fimbriaların oluşumunu etkilemektedir (Bülüç, Gürol ve Bal, 2003).

C. Serum Direnci ve Lipopolisakkarit: Serum direnci Gram negatif bakterilerde önemli virulans faktörlerinden biridir. Serum direncinden TraT lipoproteini, kapsüler polisakkarit (CPS) ve O antijenleri (lipopolisakkaritler) sorumludur (Demir, 2006).

D. Sideroforlar: Demir intrasellüler olarak hemoglobulin, hemosiderin ferritin, myoglobulin ve ekstrasellüler olarak transferin gibi proteinlere bağlı olarak bulunmaktadır. Bakterinin üremesi için redoks tepkimelerinde katalizör olarak görev yapan demir, siderofor adı verilen düşük molekül ağırlıklı, yüksek duyarlıklılı şelatlar ile hücreye alınır (Güler, 2007).

1.2.2. *Klebsiella* Türlerinin Biyokimyasal Özellikleri

Klebsiella türleri ısıya dayanıksız olduğundan 55°C’de yarım saatte ölür. Bunun yanı sıra kuruluğa dirençlilik göstererek organik madde olduğundan içerisinde uzun süre kuru ortamda canlılığını sürdürebilirler. Ayrıca oda sıcaklığında haftalarca, +4°C’de ise aylarca canlılığını koruyabilme özelliğine sahiptir.

Bu bakteriler özellikle insanların gastrointestinal sisteminde, vertebratlar, kuşlar, sürüngenler ve hatta böceklerin normal florasında bulunmaktadır (Ürkmez, 2009). *Klebsiella* cinsi bakteriler hareketsiz olup, H₂S üretmeyerek ornitin dekarboksilaz negatif, lizin dekarboksilaz pozitif özelliği ile Enterobakter grubundaki diğer bakterilerden ayrılmaktadır. Bu türler diğer bağırsak bakterileri gibi 37°C’de ve pH 7’de optimum ürerler (Ağca, 2011).

Klebsiella cinsi bakterileri aerob ve fakültatif anaerob özelliğindedir. Sıvı besiyerlerinde ürerken ortama çok sayıda kapsül maddesi salarlar ve ortamda homojen bir bulanıklık ile dipte müköz bir çökelti oluşturur. Katı besiyerlerinde ise koloniler

şeklinde, tipik mukoid nitelikte, büyük, sarımsı gri renkte koloniler oluşur. Ortam koşulları uygun olmadığında ise S ve R kolonilerine dönüşebilirler (Iraz, 2009).

Tablo 1. *Klebsiella* Türlerinin Önemli Biyokimyasal Reaksiyonları (Kıraç, 2011)

	<i>K. pneumoniae</i>
Metil kırmızı	-
İndol	-
Voges- Proskauer	+
44,5°C’de laktozdan gaz	+
+10°C’de üreme	-
Laktoz	+
Malonat	+
Üreaz	+
Lizin dekarboksilaz	+
Arginin dihidrolaz	-
H ₂ S	-
Sitrat	-

1.2.3. *Klebsiella* Türlerinin Klinik Önemi

K. pneumoniae türleri genellikle düşük immün sistemli kişilerde yoğun balgam üreterek akciğerlerde kalıcı hasarlara sebep olabilmektedirler. Bu hasarlar genellikle direnci zayıf orta yaşlı veya yaşlı bireylerde daha sık görülmektedir. *Klebsiella pneumoniae*’ler bazı hastalarda ciddi enfeksiyonlara sebep olmaktadır. Diyabet, alkolizm, kanser, karaciğer hastalığı, KOAH ve kronik böbrek yetmezliği olan hastalarda enfeksiyonun bulaşma oranı daha yüksektir. Bu bakteri türleri hastanede yatan bir hastadan diğer hastaya rahatlıkla geçebilmektedir. Kontamine eşyaların kullanımı enfeksiyonların bulaşma riskini artırmaktadır.

Toplumda yatan hasta dışında *Klebsiella* bakterisinin neden olduğu enfeksiyon pnömoni ve en çok rastlantı şekilleri ise bronkopnömoni ve bronşittir. Bu hastalar, akciğer absesi, ampiyemi, kavitasyon ve üral adhezyon gelişmesine elverişlilerdir. *Klebsiella* bakterisi üriner sistemde, safra kanalında ve cerrahi girişim

yapılan yerde enfeksiyona neden olabilir. Klinik hastalık aralıklarında, tromboflebit, idrar yolu enfeksiyonu (İYE), kolesistit, ishal, üst solunum yolu enfeksiyonu, yara enfeksiyonu, osteomyelit, menenjit, bakteriyemi ve septemi yer almaktadır. Özellikle yoğun bakım birimlerinde görülme sıklığı daha fazladır. Antibiyotik kullanım da nazokomiyal enfeksiyonları arttığından bakterinin kana bulaşması sepsis veya septik şoku meydana getirir (URL-4, 2015).

1.2.4. *Klebsiella pneumoniae*'nin Yaptığı Hastalıklar

Klebsiella türlerinden kaynaklanan kavite ve kanlı balgamlar oluşmasına sebep olurken bu bakteriler yara, yumuşak doku ve idrar yolu enfeksiyonuna da sebep olurlar (Murray, Rosenthal and Pfaller, 2010).

Sağlıklı bireylere bakıldığında solunum yolunda ve dışkıda %5-10 oranında *K. pneumoniae* mevcuttur. *K. pneumoniae* enfeksiyonları fırsatçı enfeksiyonlardır ve üriner yol, yara enfeksiyonlarına sebep olurlar. *Klebsiella* türleri arasında *K. pneumoniae* yüksek oranda hastane enfeksiyonlarına yol açar (Golabi, 2011).

1.3. Antibiyotiklerin Tanımı ve Tarihçesi

Antibiyotik kelimesi Yunanca *anti* (karşı) ve *bios* (yaşam) sözcüklerin bir araya gelmesiyle türetilmiştir. Birleştirilmiş haline bakıldığında antibiosis sözcüğü ise, sözlüklerde “Mikroorganizmalar arasındaki karşıtlık” olarak tanımlanmıştır (Türkoğlu, 2008). Antibiyotik sözcüğü, birkaç farklı şekilde tanımlanmaktadır. Bir diğer tanıma göre “Bitkilerde ve küf mantarlarında bulunan bakteri ve diğer mikroorganizmaların gelişimini inhibe eden maddelerin ortak adıdır”.

Mikrobiyolojinin zirve yaptığı XIX. yüzyılın II. yarısında, mikroorganizmalardan yararlanılabileceğini ilk olarak düşünen Pasteur ve Joubert olmuştur. Steril idrarda üreyebilen basillerin kontamine olmuş idrarda üreyemediklerini ve öldüklerini gözlemişlerdir. Pasteur ve Joubert'in, kontamine olmuş idrara karıştırılan basillerin deney hayvanlarında hastalık meydana getirmediğini tespit etmişlerdir. Bu uygulamalar, enfeksiyonların antibiyotiklerle kontrolüne ilişkin ilk denemeler olmuştur.

1.3.1. Antibiyotiklere Direnç Mekanizmaları

Antibiyotiklerin ilk kullanmaya başlandığından bugüne kadar, yaygın bir biçim de kullanımları sonucu, dirençli bakteriler meydana gelmiş ve tüm Dünya’da hızla yayılmıştır. Bazı antibiyotik ilaçların kullanılması bugünlerde direnç boyutuna gelmesine rağmen tehlike boyutu gözlenmemektedir. Antibiyotik ilaçlara karşı direnç kazanan bakterilerin birçok farklı yolla kullanabilir ve aynı bakteriler de bir ilaca karşı farklı direnç mekanizmaları geliştirebilir. Sık kullanılan antibiyotik ilaçlara karşı bakterilerin geliştirdiği direnç mekanizmaları Tablo 2’de gösterilmektedir (Leblebicioğlu, Usluer ve Ulusoy, 2003).

1.3.2. Beta-Laktam Antibiyotiklere Direnç

Beta-laktamlar direnç gelişimi sırasında membranın geçirgenliğini azaltmasına sebep olan penisilin bağlayan proteinler sayesinde bu değişiklik meydana gelmektedir.

Beta-laktam molekülleri gram-negatif bakterilerde, dış membranı “outer membrane protein (Opr)” adı verilen, porin proteinlerden oluşan porlar sayesinde gerçekleşmektedir. Bu porinlerin sayısı ve özellikleri (yük, çözünürlük, büyüklük) ve antibiyotiğin özellikleri, ilacın hücre giriş hızına bağlıdır. Başta permeabilitenin azalmasına bağlı olan direnç, ilk önce enzimatik direnç ile birlikte önemli düzeyde dirence sebep olur.

Beta-laktam antibiyotikler penisilini bağlayan proteinlerin (PBP) hücrede hedefleri olan enzimlerdir. Bu PBP’leri kodlayan genler pnömokoklarda “mozaik gen” olarak adlandırılır. Bu nedenle genlerde bulunan konak hücre DNA segmentlerinin arasında, büyük ihtimalle dirençli başka bir konaktan alınan DNA segmentleri yer almaktadır (Türkoğlu, 2008).

Tablo 2. Antibiyotiklere dirençte en önemli mekanizmalar (Leblebicioğlu, Usluer ve Ulusoy, 2003).

Antimikrobik ilaç grubu											
Diranenç mekanizması	Beta-laktamaz	Aminooglikozid	Kloramfenikol	Makrolid	Linkozamid	Sülfonamid	Trimetoprimosiklin	Tetrasiklin	Kinolon	Vankomisin	Rifampin
Enzimatik inhibisyon	I	I	P	P	-	-	-	-	-	-	-
Membranın geçirgen olmaması	K	K	P	-	-	K	K	I	-	K	-
Antibiyotiğin dışarı	-	-	-	K	K	-	-	I	K	-	-
Ribozomal hedefte değişiklik	-	K	K	I	I	-	-	I	-	-	-
Hücre duvarı prekürsörü	-	-	-	-	-	-	-	-	-	I	-
Hedef enzimlerde değişiklik	K	-	-	-	-	I	I	-	K	-	K
Hedef enzimin aşırı üretimi	-	-	-	-	-	K	K	-	-	-	-
İnhibe edilen evrelerin	-	-	-	-	-	I	I	-	-	-	-
P: Plazmid	K: Kromozomal	I: İkisi de olabilir	I: Henüz tanımlanmamış								

PBP'ler ile oluşan örneğin, metisilindir. Metisiline direnç, kromozomda bulunan mecA geni tarafından beta-laktam antibiyotiklerinden etkilenmeyen yeni bir PBP (PBP2a) sentezlenmesine bağlıdır.

1.3.3. Aminoglikozid Antibiyotiklere Direnç Mekanizmaları

Aminoglikozid antibiyotiklere direnç mekanizmaları üç şekilde gerçekleşmektedir.

- 1) Aminoglikozidleri değiştiren enzimler
- 2) Ribozomlardaki değişiklikler
- 3) İlacın hücre içine alınmasının engellenmesidir.

Aminoglikozidlere direnç en fazla aerobik bakterilerde plazmid veya kromozomda bulunan genlerce kodlanan değiştirici enzimlerle sağlanmaktadır. Bu antibiyotiklere karşı gelişen ribozomal direnç, aminoglikozid antibiyotiklerin bakteri hücreesindeki hedefleri olan ribozomlarda oluşan mutasyonlar sonucu ortaya çıkmaktadır (Kalkan, 2008).

1.3.4. Kloramfenikol Direnci

Kloramfenikole direnç öncelikle, Gram-pozitif ve Gram-negatif bakterilerde kloramfenikol asetiltransferaz (CAT) olarak bilinen enzime bağlıdır. Plazmid veya kromozom kontrolündeki bu enzim sentezlenebilir ve ilacı asetile eder. Kloramfenikol asetile olduktan sonra ribozomlardaki bağlanma bölgesi olan 50S alt birimine bağlanamaz (Mansur, 2010).

1.3.5. Makrolid, Linkozamid ve Streptogramin B (MLSB) Antibiyotiklerine Direnç

Makrolid, Linkozamid ve Streptogramin B (MLSB) antibiyotiklerine direnç üç şekilde olmaktadır.

- 1) Hedef bağlanma bölgesinde değişiklik
- 2) İlacın değiştirilmesi, transportta değişiklik
- 3) Geçirgenliğin azalmasıdır.

Meydana gelen değişiklikler içerisinde eğer hedef bağlanması gerçekleştiyse en önemli direnç mekanizması ribozomlara bağlanmanın engellenmesidir. Hedefe bağlanan bölgedeki değişikliklere bağlı olarak dirençten farklı olarak MLSB antibiyotiklerinin enzimatik faaliyetinin değiştirilmesi, özgül bir olaydır. Makrolidleri

değiştiren enzimler *Enterobacteriaceae* ve *Lactobacillus* cinslerinde saptanmıştır (Bülüç, Gürol, ve Bal, 2003).

1.3.6. Glikopeptid Antibiyotiklere Direnç

Glikopeptid antibiyotikler, Gram pozitif bakterilerde hücre duvarı yapımı sırasında çapraz bağlanma reaksiyonunun engellenmektedir. Ayrıca peptidoglikan tabakanın terminal bölgesinde bulunan D-alanine bağlanmaktadır (Mansur, 2010).

1.3.7. Tetrasiklin Direnci

İlacın dışarı pompalanması için tetrasikline dirençte enzimatik değişim ve ribozomun sitosolik proteinlerle korunması gibi mekanizmalarında rol oynayabilmesine karşı en önemli direnç mekanizmasıdır. Tetrasiklin direnç determinantı tarafından üretilen özgül bir membran proteinine bağlanan plazmid, kromozom veya sıklıkla transpozonlarda bulunur (Çıbık, 2004).

1.3.8. Kinolon Grubu Antibiyotiklere Direnç

Kinolon grubu antibiyotiklere direnç; DNA-giraz enziminde değişiklik ve ilacın hücreye girişini azaltan mutasyonlar sonucu meydana gelmektedir.

Bakterilerdeki hedef kinolonların DNA replikasyonu için gerekli olan iki tip topoizomeraza sahiptir. Bunlar DNA-giraz ve topoizomeraz IV'tür. Kinolonlar bu topoizomerazlar ile etkileşim sonucu DNA sentezini inhibe ederler (Leblebicioğlu, Usluer ve Ulusoy, 2003).

1.4. Beta-laktam Antibiyotikler

Antibiyotiklerin enzim yoluyla inaktive edilmesi bakterilerin kendilerini korumada en sık kullandıkları mekanizmalardan biridir. Verilebilecek en iyi örnek ise beta-laktam grubu antibiyotikleri hidroliz eden beta-laktamaz enzimleridir. Gram negatif basillerde bulunan beta-laktamazlar 1960'larda yarı sentetik penisilinler ve sefalosporinlerin kullanılmaya başlanması ile önem kazanmaya başlamıştır. Aynı dönemde yeni beta-laktam antibiyotiğin kullanıma girmesiyle bu enzimlerin sınıflandırılması gerekli görülmüş ve birçok sınıflandırma şeması önerilmiştir. Bu enzimler ilk olarak penisilinazlar ve sefalosporinazlar olarak ikiye ayrılmış, daha sonra da plazmid aracılı veya kromozomal olarak sınıflandırılmışlardır. Enzim kinetiği ve izoelektrik noktalama çalışmalarından elde edilen bilgiler ışığında tekrar düzenlemeler yapılmıştır (Kurşun, 2008).

1.4.1. Beta-Laktamazların Sınıflandırılması

Beta-laktam grupları bakterinin hücre duvarı sentezinin seçici inhibitörleridir. Bu sebepten dolayı üreme evresindeki bakteriye karşı aktiftir. Aktifliği ile beraber peptidoglikan sentezinde görevli transpeptidaz ve karboksipeptidazları yok eder, hücre duvar sentezini durdurarak engellerler. İlk adımda ilacın etkisi ilacın hücre reseptörlerine (penisilin bağlayıcı protein; PBP) bağlanmasıdır. Farklı reseptörlerin ilaca farklı afinitesi ve etkisi vardır. 1970 yılında Beta-laktamazların sınıflandırılması ilk kez Jack ve Richmond tarafından gündeme getirilmiştir. Richmond ve Sykes tarafından 1973 yılında ilk sınıflamaya yapılmıştır. 1989 yılında Bush tarafından, sınıflandırmadaki eksiklikler tamamlanmış ve 1995'te güncellenmiştir. Moleküler sınıflandırmada A, C ve D sınıfı enzimlerin aktif bölgelerinde serin bulunurken, B sınıfı enzimler aktiviteleri için çinko iyonlarına gereksinim duyarlar (Orak, 2005).

Beta-laktam antibiyotikler başlıca 5 grupta toplanabilir:

- A. Penisilinler
- B. Sefalosporinler
- C. Monobaktamlar
- D. Karbapenemler
- E. Betalaktamaz inhibitörler (klavulonik asit, sulbaktam, tazobaktam)' dir.

Tablo 3. Beta-laktamaz grupları ve genel özellikleri

Beta-laktamaz (Bush grubu)	Moleküler grup (Ambler)	Tercih edilen substrat	Klavulanik asit ile inhibisyon
1	C	Sefalosporinler	-
2a	A	Penisilinler	+
2b	A	Penisilinler	+
2be	A	Sefalosporinler Penisilinler, dar ve geniş spektrumlu sefalosporinler, monobaktamlar	+
2br	A	Penisilinler	±
2c	A	Penisilinler, karbenisilin	+
2d	D	Penisilinler, kloksasilin	±
2e	A	Sefalosporinler	+
2f	A	Penisilinler, sefalosporinler, karbapenemler	+
3	B	Birçok beta-laktam, karbapenem dahil penisilinler	-
4	?		-

A. Penisilinler

Penisilinler 1929 yılında ilk keşfedilen beta-laktam antibiyotiği Alexander Fleming tarafından *Penicillium notatum*'da (yeşil renkli küf mantarı) keşfedilmiştir. Ardından da Howard Florey ve arkadaşları penisilin üretimini özel üretime almışlardır (Günaydın, 2013). Yapısında 6- amino penisilanik asit (6-APA) bulunmaktadır. Penisilinlerde bu yapı (6- amino penisilanik asit) bozulmasıyla antibakteriyel etkisinin kaybolmasına sebep olur (Orak, 2005).

B. Sefalosporinler

1945 yılında *Cephalosporicum acremonium* mantarından elde edilen sefalosporinler, geliştirilerek antibakteriyel tedavide yaygın olarak kullanılır (Kaya, 2009; Günaydın, 2013).

Sefalosporinlerin yapıları penisilinlere çok benzerlik gösterir. Ama sefalosporinlerde penisilinlerdeki tiazolidin halkası yerine dihidroitiyazin halkası mevcutken penisilinlerdeki β -laktam halkasına sahiptirler. Bu farklılık nedeniyle, penisilinlerin temel yapısı 6-amino penisilanik asitten (6-APA) oluşurken sefalosporinlerin temel yapısı 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).

C. Monobaktamlar

Monobaktamlar *Chromobacterium*, *Agrobacterium*, *Gluconobacterium*, *Flexibacterium* ve *Pseudomonas* gibi toprakta yaşayan çeşitli bakteriler tarafından üretilmektedir. Monobaktamlar diğerlerinden farklı olarak yapısında beta-laktam halkasından ziyade yan zincir bulundurmamaktadır. Gram negatif bakterilere karşı güçlü etki gösterirken gram pozitif ve anaerobik bakterilere etkinliği yoktur. Bu yüzden dar spektrumlu olarak adlandırılmaktadır (Altınkanat, 2006).

D. Karbapenemler

Karbapenemlerin diğer beta laktamalardan ayıran özelliği yapısında hidroksietil yan zinciri bulunmaktadır. *Streptomyces cattleya* toprak mantarı bu grubun etken maddesi olan tienamisin üretmektedir. Günümüzde geliştirilen karbapenemler en geniş spektrumlu beta-laktam antibiyotikleridir. Gram pozitif ve gram negatif aerob, anaerob bakterilerinin çoğuna karşı etkilidir (Kaya, 2009).

E. Beta-Laktam İnhibitörleri

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

1.5. Genişlemiş Spektrumlu Beta-Laktamazlar

1980 yıllarında yaygın olarak kullanılan Oksiimino-sefalosporinlerin Gram negatif bakteriler infeksiyonların tedavisinde kullanılmaya başlanmasının ardından yeni beta-laktamazlar ortaya çıkmıştır. İlk olarak Almanya'da SHV-2 enzimi *Klebsiella ozaenae* köken almıştır. Etki spektrumlarının artmasıyla bu enzimlere genişlemiş spektrumlu beta-laktamazlar denilmiştir.

Gram negatif bakterilerin çoğu GSBL enterik olduğundan klasik plazmid kökenli beta-laktamazları olan TEM-1, TEM-2 ve SHV-1'den köken alır. Ana enzimin moleküler yapısındaki aminoasitlerden bir ve ya dördünün yerine farklı aminoasitlerin gelmesi sonucu meydana gelirler. Günümüzde 100 ve üzeri TEM tipi ve 50 ve üzeri SHV tipi GSBL mevcuttur. GSBL tipleri ve sayılarına ilişkin en güncel bilgilere ulaşmak için '<http://www.lahey.org/studies/webt.html>' web adresinden yararlanılabilir (Oktun, 2007).

1.5.1. Genişlemiş Spektrumlu Beta-Laktamazların Sınıflandırılması

Ambler'in moleküler sınıflamasına göre sınıf A'da (Bush sınıflamasına göre Grup 2be), oksasilini hidrolize eden beta-laktamazlar ise sınıf D'de (Bush sınıflamasına göre

Grup 2d) yer alırlar. Genetik özelliklerine bakıldığında GSBL'ler dokuz farklı grup içinde toplanmaktadır. Bu gruplar TEM, SHV, CTX-M, PER, VEB, GES/IBC, TLA, BES ve OXA'dır (Oktun, 2007).

TEM: TEM türü enzimlerin ilk türevi 1987 yılında yayınlanan GSBL özelliği gösteren TEM-3'tür. TEM-1 ve TEM-2 penisilin ve penisilin türevlerini parçalayabilen bir genişlemiş spekturumlu beta-laktamazlardır. TEM-3 ise farklı olarak 3. kuşak sefalosporinleri de parçalayabilen bir GSBL'dir (Yanık, 2003). Bu gruptaki beta-laktamazlar başta *K. pneumoniae* ve *E. coli* gibi izolatlarda sıkça rastlanmaktadır (Demir, 2006).

SHV: 1983 yılında bulunan ve GSBL özelliği gösteren ilk SHV türü enzim SHV-2' dir (Golabi, 2011). Bu enzim, SHV-1'in 238. pozisyondaki aminoasidi glisin yerine serinin almasıyla oluşan bir nokta mutasyonudur (Altınkanat, 2006). SHV-1 enzimi ampisilin, tikarsilin ve piperasilin gibi geniş spekturumlu 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 (Özkuş, 2007).

CTXM: *E. coli* ve *Salmonella typhimurium* gibi enterik gram negatif bakterilerde CTX-M tipi enzimler bulunmuştur. 1989 yılında Almanya'da CTX-M beta-laktamaz enzimi ilk olarak yayınlanmıştır (Güler, 2007). Günümüze kadar bakıldığında CTX-M grubunda 40 enzim bulunmaktadır ve bunların en yaygın olanları ise CTX-M-14, CTX-M-3, CTX-M-2 enzimleridir (Kıraç, 2011).

PER: Ülkemizde *S. typhimurium*, *P. aeruginosa* ve *A. baumannii* izolatlarından PER-1 enzimi bulunmuştur. Türkiye'de tespit edilmeyen PER-2 bugüne kadar sadece Arjantin'de *S. typhimurium*'da keşfedilmiştir (Golabi, 2011).

VEB: İlk olarak Vietnam'da bulunan VEB-1 *E.coli* suşundan izole edilmiştir. VEB-1 farklı substrat olarak aztreonam ve seftazidimi kullanmasıdır (Güler, 2007).

OXA: Bu enzim tipi oksisilini hidroliz eder ve ilk olarak *P. aeruginosa*'da bulunmuştur (Altınkanat, 2006). TEM ve SHV tipi beta laktamazlardan farklı olarak moleküler

sınıflamada sınıf D’de, fonksiyonel sınıflamada grup 2d’de bulunan OXA tipi enzimler OXA-1’den OXA-10’a kadar beta-laktamaz grubu içinde yer alırken diğerleri geniş spekturumlu beta-laktamazlar grubu içerisinde yer alırlar (Altınkanat, 2006).

2. YAPILAN ÇALIŞMALAR

Bu çalışma, 2011-2013 yılları arasında Rize Devlet Hastanesi ve Recep Tayyip Erdoğan Üniversitesi Eğitim ve Araştırma Hastanesi’ndeki üroloji polikliniği, kadın doğum polikliniği, yoğun bakım servisi, evde bakım hizmetleri polikliniği, dahiliye servisi, çocuk polikliniği, dahiliye polikliniği, genel cerrahi servisi, kalp damar servisi, cerrahi yoğun bakım servisi, enfeksiyon hastalıkları, kronik yoğun bakım servisi, kardiyovasküler cerrahi yoğun bakım servisi, dahiliye yoğun bakım servisi, göğüs hastalıkları servisi, onkoloji servisi ve çocuk cerrahi polikliniğinden alınan örnekler moleküler biyoloji laboratuvarlarına gönderildi. Klinik örneklerden izole edilen 121 adet *Klebsiella pneumoniae* grubu bakteri ile yapılmıştır. Çalışmamızın akış şeması aşağıda şekil 1’de ki gibi gösterilmiştir.



Şekil 1. Çalışmamızın akış aşamaları

2.1. Klinik Örneklerin Toplanması ve İdentifikasyonu

Rize Devlet Hastanesi ve Recep Tayyip Erdoğan Üniversitesi Eğitim ve Araştırma Hastanesi'ndeki üroloji polikliniği, kadın doğum polikliniği, yoğun bakım servisi, evde bakım hizmetleri polikliniği, dahiliye servisi, çocuk polikliniği, dahiliye polikliniği, genel cerrahi servisi, kalp damar servisi, cerrahi yoğun bakım servisi, enfeksiyon hastalıkları, kroner yoğun bakım servisi, kardiyovasküler cerrahi yoğun bakım servisi, dahiliye yoğun bakım servisi, göğüs hastalıkları servisi, onkoloji servisi ve çocuk cerrahi polikliniği hastalarından toplanan ve izole edilen toplam 121 adet *K. pneumoniae* suşu Moleküler Biyoloji Laboratuvarı'na gönderilmiştir.

2.2. Antibiyotik Direncinin Saptanması

Antibiyotik duyarlılık testleri Rize Devlet Hastanesi ve Recep Tayyip Erdoğan Üniversitesi ve Eğitim Araştırma Hastanesi'nde ampisilin, amikasin, amoksisilin-klavulonik asit, ampisilin-sulbaktam, imipenem, levofloksasin, sefotaksim, seftriakson, siprofloksasin, gentamisin, ertapenem, piperasilin-tazobaktam, sefazolin, nitrofurantoin, seftazidim, sefaperazon-sulbaktam, meropenem, tekrasiklin, sefoksitin, sefepim, aztreonam, norfloksasin, ofloksasin, piperasilin, trimetoprim-sulfometaxazol, tobramisin, netilmisin, tigesiklin, fosfomisin, tikarsilin- klavulonik asit E- test stripleri kullanılarak ve sonuçlar CLSI (Clinical and Laboratory Standart Institute) kriterlerine göre değerlendirilerek Recep Tayyip Erdoğan Üniversitesi Moleküler Biyoloji Laboratuvarına gönderilmiştir.

2.3. DNA Ekstraksiyonu

Laboratuvarımıza gönderilen 121 *K. pneumoniae* suşları kaynatma DNA izolasyonu metodu ile izolasyonu yapıldı. DNA izolasyonu aşamasında ilk önce 3 mL LB besiyerine 100 µl kültürden alınarak ekim yapıldı. Ardından 16 saat boyunca 37°C'de çalkalayıcı etüvde büyümeye bırakıldı. Büyüyen kültürler 10.000 rpm de 1

1 dakika santrifüj yapıldı. Santrifüj sonrasında süpernatant dökülerek pellet üzerine 1 mL dH₂O eklendi ve ardından da vorteksleme işlemine tabi tutuldu. Daha sonra dH₂O ekleme ve vorteksleme işlemi tekrar yapıldı. Bu işlem sonucunda 100 °C lik ısıtıcı blok yardımıyla 10 dakika boyunca kaynatma işlemi gerçekleştirildi. Ve son olarak soğuk santrifüjde 10 dakika boyunca 13.000 rpm de çöktürme yapılarak süpernatant alınarak kaynatma işlemi sonlandırıldı.

2.4. Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PZR)

Çalışılan 121 *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 yapıldı. Bir reaksiyon için gerekli şartlar: 5 µl reaksiyon tamponu (MBI Fermentas), 3 µl 25 mM MgCl₂, genomik DNA 5 µl, her bir primerden 2 µl, 10mM 2,5 µl dNTP ve 0,5 Taq DNA polimeraz (MBI Fermentas) son hacim 50 µl olacak şekilde dH₂O ilave edildi. *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 4'de gösterilmiştir.

Tablo 4. GES, VIM, VEB, IMP, PER-2, SHV, OXA-23, OXA-24, OXA-48, OXA-51, OXA-58 genleri için kullanılan primer sıraları

İlgili Gen	Primer sırası (5'→3')	Nükleotid Uzunluğu	Tm Sıcaklığı
<i>bla</i> _{GES}	F: ATGCGCTTCATTCACGCAC R: CTATTTGTCCGTGCTCAGGA	19 20	55°C
<i>bla</i> _{VIM}	F: ATTGGTCTATTTGACCGGTC R: TGCTACTCAACGACTGAGCG	21 20	45 °C
<i>bla</i> _{VEB}	F: ATTTCCCGATGCAAAGCGT R: TTATTCCGGAAGTCCCTGT	19 19	52 °C
<i>bla</i> _{PER-2}	F: ATGAATGTCATCACAAAATG R: TCAATCCGGACTCACT	20 16	45°C
<i>bla</i> _{SHV}	F: ATGCGTTATATTCGCCTGTG R: TTAGCGTTGCCAGTGCTC	20 18	55 °C
<i>bla</i> _{IMP}	F:CATGGTTTGGTGGTTCTTGT R:ATAATTTGGCGGACTTTGGC	20 20	55 °C
<i>bla</i> _{OXA-23}	F:GATCGGATTGGAGAACCAGA R:ATTTCTGACCGCATTTCAT	20 20	52 °C
<i>bla</i> _{OXA-24}	F: GGTTAGTTGGCCCCCTTAAA R: AGTTGAGCGAAAAGGGGATT	20 20	52 °C
<i>bla</i> _{OXA-48}	F: TTGGTGGCATCGATTATCGG R:GAGCACTTCTTTTGTGATGGC	20 21	52 °C
<i>bla</i> _{OXA-51}	F: TAATGCTTTGATCGGCCTTG R:TGGATTGCACTTCATCTTGG	20 20	52 °C
<i>bla</i> _{OXA-58}	F: AAGTATTGGGGCTTGTGCTG R: CCCCTCTGCGCTCTACATAC	20 20	52 °C

*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 reaksiyonları Thermo Cyclor yardımıyla in vitro ortam koşullarında GES için ilk olarak denatürasyon basamağında 94 °C 5 dakika ve 94 °C 30 saniye boyunca ısıya maruz bırakıldı sonra annealing basamağında 55 °C de 30 saniye son olarak da uzama basamağında ise 72 °C de 1 dakika boyunca Thermo Cyclor cihazında 34 döngü de bu işlemi gerçekleştirildi. VIM için denatürasyon basamağında 94 °C de 5 dakika ve 94 °C de 30 saniye, annealing basamağında 57 °C de 45 saniye, uzama basamağında ise 72 °C de 7 dakika 24 döngü de gerçekleştirildi. VEB için denatürasyon basamağın da 94 °C de 5 dakika ve 94 °C de 30 saniye, annealing basamağında 52 °C de 30 dakika ve uzama basamağında 72 °C de 1 dakika 34 döngü de gerçekleştirildi. IMP için denatürasyon basamağında 94 °C de 5 dakika ve 94 °C de 30 saniye, annealing basamağında 55 °C de 30 saniye, uzama basamağında ise 72 °C de 7 dakika boyunca 24 döngü de gerçekleştirildi. PER-2 için denatürasyon basamağı 94 °C de 5 dakika ve 94 °C de 30 saniye, annealing basamağında 45 °C de 1 dakika, uzama basamağında ise 72

°C de 2 dakika boyunca 34 döngü de gerçekleştirildi. SHV için denatürasyon basamağında 94 °C de 5 dakika ve 94 °C de 1 dakika, annealing basamağında 52 °C de 1 dakika, uzama basamağında ise 72 °C de 10 dakika boyunca 31 döngü de gerçekleştirildi. OXA-23, 24, 48, 51, 58 için multiplex PZR yapıldı. Koşulları denatürasyon basamağında 94 °C de 3 dakika ve 94 °C de 25 saniye, annealing basamağında 52 °C de 40 saniye, uzama basamağında 72 °C de 50 saniye boyunca 29 döngü de gerçekleştirildi.

*bla*_{NDM-1}, *bla*_{TEM}, *bla*_{CTX-M1} ve *bla*_{CTX-M2} genlerinin tespiti için polimeraz zincir reaksiyonu yapıldı. Bir reaksiyon için gerekli şartlar: 3 µl 25 mM MgCl₂, genomik DNA 5 µl, her bir primerden 1 µl, 5 µl reaksiyon tamponu (MBI Fermentas), 10 mM 2,5 µl dNTP ve 0,5 Taq DNA polimeraz son hacim 50 µl olacak şekilde dH₂O ilave edildi.

Tablo 5. NDM-1, TEM, CTX-M1 ve CTX-M2 genleri için kullanılan forward ve reverse primer sırası

İlgi Gen	Primer sırası (5'→3')	Nükleotid Uzunluğu	Tm Sıcaklığı
NDM1	F: GAGATTGCCGAGCGACTTG	19	54 °C
	R: CGAATGTCTGGCAGCACACTT	21	
CTXM1	F: GCGTGATAACCACTTCACCTC	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 NDM-1 için denatürasyon basamağında 94 °C de 3 dakika ve 94 °C de 45 saniye, annealing basamağında 54 °C de 1 dakika, uzama basamağında ise 72 °C de 2 dakika boyunca 31 döngü de gerçekleştirildi. TEM için denatürasyon basamağında 94 °C de 5 dakika ve 94 °C de 1 dakika, annealing basamağında 55 °C de 1 dakika, uzama basamağında ise 72 °C de 10 dakika boyunca 31 döngü de gerçekleştirildi. CTX-M1, M2 için multiplex PZR yapıldı. Koşulları ise denatürasyon basamağında 94 °C de 3

dakika ve 94 °C de 25 saniye, annealing basamağında 52 °C de 40 saniye, uzama basamağında ise 72 °C de 5 dakika boyunca 29 döngü de gerçekleştirildi.

Polimeraz zincir reaksiyonu sonucu oluşan ürünlerin görüntülenmesi agaroz jel elektroforez yardımıyla gerçekleştirildi. Bu işlemin hazırlık aşaması şu şekilde gerçekleşmektedir. % 1'lik jel hazırlamak için 100 mL 10X TAE tamponuna 1 g agaroz eklenerek çözünmesi için ısıya tabi tutuldu. Çözelti oda sıcaklığına geldiğinde 10 mg/mL konsantrasyon da 4 µl etidyum bromid eklenerek agaroz jel aparatına döküldü. Jel donduktan sonra 5-10 µL arasında DNA örnekleri 2,5 µL yükleme boyası ile karıştırılarak kuyucuklara pipet yardımıyla aktarılır. Jel aparatı yerleştirilir ve yürütme tamponu yardımıyla 30 dakika 160 V da yürütme işlemi gerçekleştirildi. Yürütme işlemi bitince UV. ışığında görüntüleme işlemi yapılarak 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 reaksiyon şartı pGEM-T/Easy vektöründen 0.15 µl, Ligasyon Bufferdan 1,5 µl, T4 DNA ligaz enziminden 0,15 µl, PZR ürününden 1,2 µl alınarak 16 °C de 5 saat boyunca ligasyon işlemine tabi tutulmuştur. Beş saatlik ligasyon işlemi sonunda transformasyon aşamasına geçildi. 110 µl'lik *E. coli* DH5-alfa hücrelerine 5 µl ligasyon ürününden eklendi. Ardından buzda 30 dakika bekletildi. Bekleme sonunda 42 °C de 2 dakika Thermo-Shaker cihazında bekletildi. Sonra tekrar buzda 2 dakika bekletildi. Daha sonra tüplerin içine 200 µl LB eklendi. 2 saat boyunca 37 °C çalkalayıcı etüvde inkübe edildi. İnkübasyonun ardından 14000 rpm de 1 dakika çöktürme işlemi gerçekleştirildi. Önceden hazırlanmış olan ampisilinli luria broth agar petrisine ilk önce 40 µl X-gal (5-bromo-4-kloro-3-indolyil-β-D-galactopiranosite) daha sonra ise 40 µl IPTG (Isopropyl β-D-1-thiogalactopyranoside) baget yardımıyla yayıldı. Ardından ligasyon ürününü de baget yardımıyla petriye yayılma işlemi yapıldı. 37 °C lik etüvde 16 saat boyunca inkübasyon işlemine tabir tutuldu. Süre sonunda petride oluşan mavi beyaz koloniler seçilerek 3 mL ampisilinli LB sıvı besiyerine ekim yapıldı. Ekimin ardından kültürler 16 saat boyunca 37 °C de çalkalayıcı etüvde büyümeye bırakıldı. Büyüyen plazmitlerin izolasyonu yapıldı.

Plazmit izolasyonu kiti (Thermo Scientific, Litvanya) kullanıldı. Tüplere alınan kültürlerin pelletleri üzerine 250 µl resuspansiyon solusyonundan eklenerek vorteksleme işlemi yapıldı. Arkasından 250 µl Lysis solusyonu eklenerek alt üst edilerek 350 µl neutralization solusyonu eklendi. Bu aşamalardan sonra 14000 rpm de 5 dakika santrifüje tabi tutuldu. Ardından süpernatant kitin içinde bulunan filtreli tüpe aktarıldı ve tekrardan 14000 rpm de 1 dakika boyunca santrifüjlenerek filtreli tüpe aktarılan süpernatant filtreden geçmesini sağlanarak dibe çöken sıvı ardından atıldı. Filtreye 500 µl wash solusyonu eklenerek filtreden aşağıya geçmesini sağlamak için 14000 rpm de 1 dakikalık santrifüj yapıldı. Bu işlem iki kez tekrarlandı. Tekrarlamının ardından filtre yeni tüpe alınarak üzerine 50 µl elusyon buffer eklenerek 14000 rpm de 2 dakika santrifüj edilerek plazmit izolasyonunu gerçekleştirildi. Sonucu görüntülemek için agaroz jel elektroforezi kullanıldı.

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 edilerek sonuçlar değerlendirildi.

3. BULGULAR

Rize ilindeki iki hastaneden izole edilen toplam 121 hastadan alınan numuneler de en fazla % 41,37 payla idrar kültürü ardından da % 25,61 TAK takip etmektedir. (Tablo 6).

Tablo 6. Çalışmaya dahil edilen hastalardan alınan örnek türleri ve yüzdesi

Örnek türü	Hasta sayısı	
	N	%
İdrar kültürü	50	41,37
Kan kültürü	7	5,78
Balgam kültürü	4	4,93
Yara kültürü	4	4,93
Lavaj kültürü	5	4,13
Trekeal kültürü	20	16,52
TAK	31	25,61
Toplam	121	100

Çalışmaya dahil edilen 121 hastadan izole edilen *K. pneumoniae* suşu başta Cerrahi Yoğun Bakım Servisi olmak üzere yoğun bakım servislerinde çok sık görüldüğü saptanmıştır.

Ele alınan *K. pneumoniae* suşlarının cinsiyete göre dağılımı incelendiğinde % 59,5 payla erkeklerde daha fazla olduğu görülmüştür. (Tablo 7)

Tablo 7. Cinsiyete göre örneklerin dağılımı ve yüzdesi

Cinsiyet	Hasta sayısı	
	N	%

Kadın	49	40,50
Erkek	72	59,50

Tablo 8. Örneklerin alındığı bölümler ve hasta sayısı

Bölümler	Hasta sayısı	
	N	%
Cerrahi Yoğun Bakım Servisi	28	23,14
Çocuk Polikliniği	19	15,70
Dahiliye Yoğun Bakım Servisi	14	11,57
Kardiyovasküler Cerrahi Yoğun Bakım	12	9,91
Kroner Yoğun Bakım Servisi	10	8,26
Üroloji Polikliniği	9	7,43
Kadın Doğum Polikliniği	6	4,95
Yoğun Bakım Servisi	5	4,13
Dahiliye Servisi	4	3,30
Enfeksiyon Hastalıkları	3	2,47
Çocuk Cerrahi Polikliniği	3	2,47
Evde Bakım Hizmetleri Polikliniği	2	1,65
Dahiliye Polikliniği	2	1,65
Genel Cerrahi Servisi	1	0,82
Kalp Damar Servisi	1	0,82
Göğüs Hastalıkları Servisi	1	0,82
Onkoloji Servisi	1	0,82
Toplam	121	100

Rize ilindeki hastanelerden toplanan numuneler de çalışılan 121 örneğin ampisilin antibiyotiğine yüksek oranda dirençlilik gösterdiği, imipenem ve meropenem antibiyotiklerine karşı yüksek oranda duyarlı olduğu gözlenmiştir. (Tablo 9)

Çalışmaya dahil edilen 121 *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. Yapılan PZR çalışmaları 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 42 suшта *bla_{SHV}*, 19 suшта *bla_{TEM}*, 9 suшта *bla_{CTX-M1}*, 2 suшта *bla_{CTX-M2}*, 25 suшта *bla_{OXA-23}* ve 10 suшта *bla_{OXA-51}* saptanmıştır. PZR sonuçları Tablo 10’da gösterilmiştir.

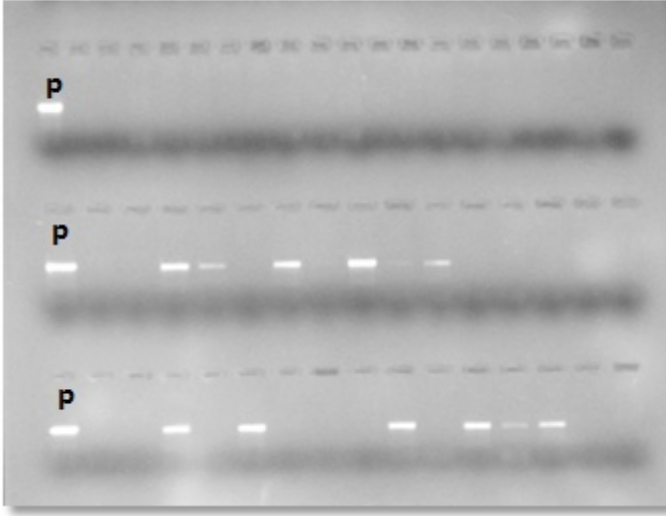
Tablo 9. Antibiyotik duyarlılık test sonuçları

	DUYARLI		ORTA DUYARLI		DİRENÇLİ	
	Sayı	Yüzde	Sayı	Yüzde	Sayı	Yüzde
Ampisilin (AMP)	40	33,05	-	-	81	66,94
Amikasin (AK)	94	77,68	11	9,09	16	13,22
Amoksisilin- klavulonik asit (AMC)	81	66,94	5	4,13	35	28,92
Ampisilin-sulbaktam (SAM)	81	66,94	3	2,47	37	30,57
İmipenem (IPM)	108	89,25	-	-	13	10,74
Seftriakson (CRO)	83	68,59	-	-	38	31,40
Siprofloksasin (CIP)	89	73,55	16	13,22	6	4,95
Gentamisin (CN-GN)	87	71,9	6	4,95	11	9,09
Piperasilin-tazobaktam (TZP-TPZ)	81	66,94	14	11,57	26	21,31
Seftazidim (CAZ)	96	79,33	2	1,63	23	19,00
Meropenem (MEM, MER)	101	83,47	-	-	20	16,52
Aztreonam (ATM)	95	78,51	-	-	31	25,61

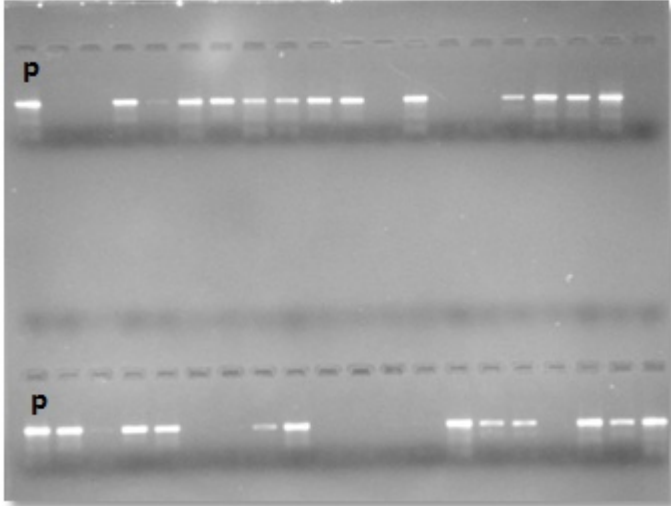
Tablo 10. PZR sonrasında tespit edilen gen bölgeleri ve sayısı

İlgili gen bölgesi	Sayısı
SHV	42
TEM	19
OXA-23	25
OXA-51	2
CTX-M-1	9
CTX-M-2	2

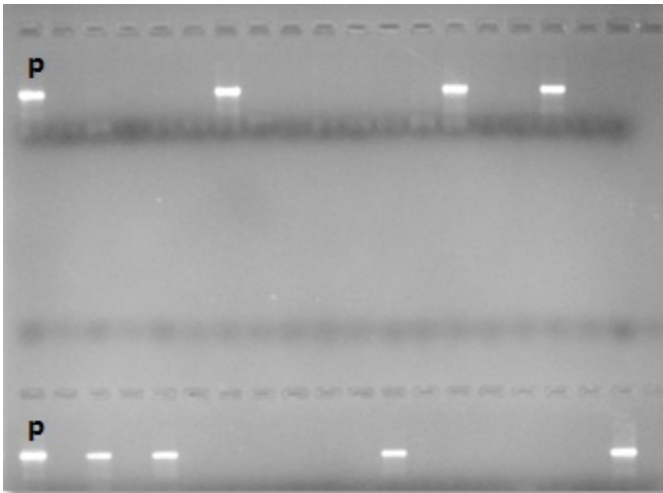
Ayrıca yapılan çalışma sonunda *bla_{IMP}*, *bla_{OXA-48}*, *bla_{OXA-58}*, *bla_{PER-2}*, *bla_{GES}*, *bla_{VIM}*, *bla_{VEB}*, *bla_{NDM-1}* genleri tespit edilememiştir.



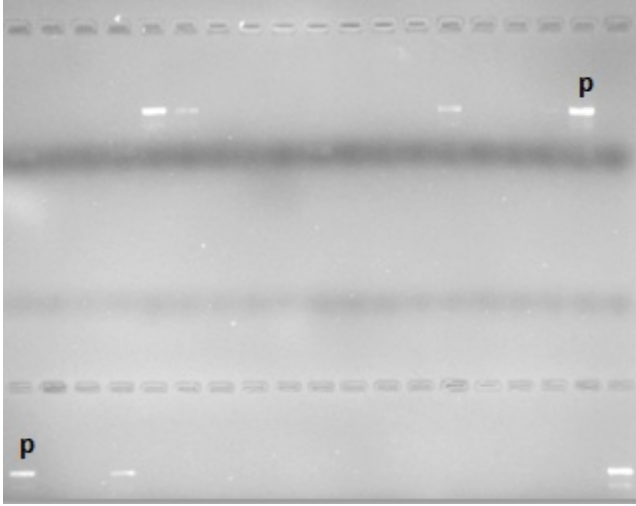
Şekil 2. SHV'e ait 1 ile 56 arası suşların jel görüntüsü (843bp)



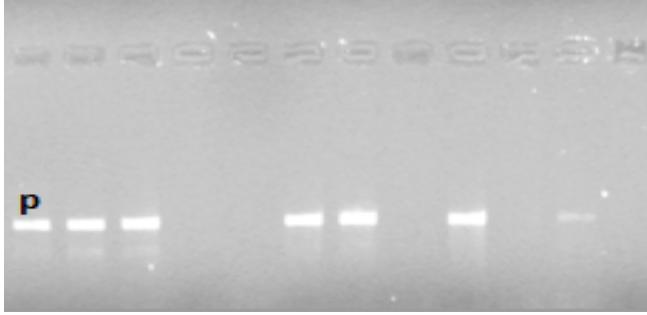
Şekil 3. SHV'e ait 57 ile 86 arası suşların jel görüntüsü (843bp)



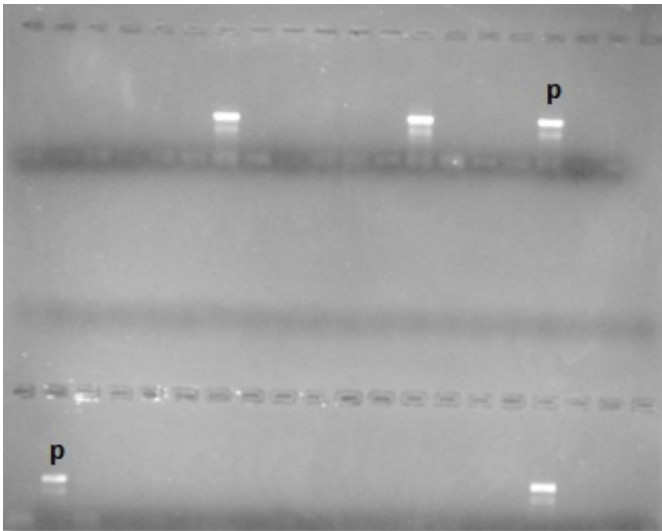
Şekil 4. SHV'e ait 87 ile 121 arası suşların jel görüntüsü (843bp)



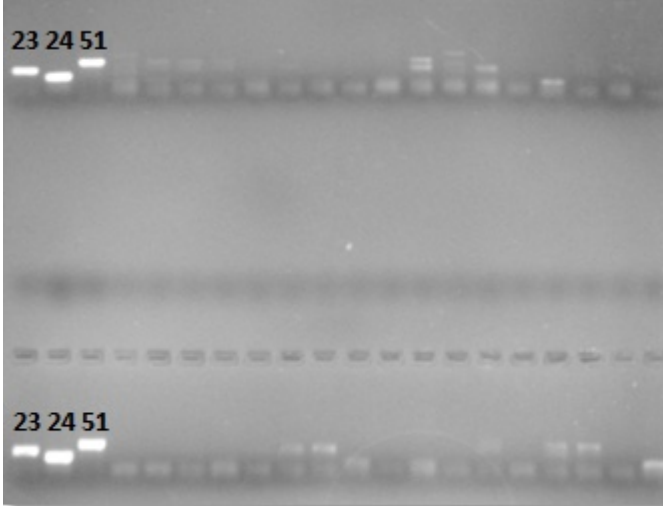
Şekil 5. TEM'e ait 1 ile 38 arası suşların jel görüntüsü (847 bp)



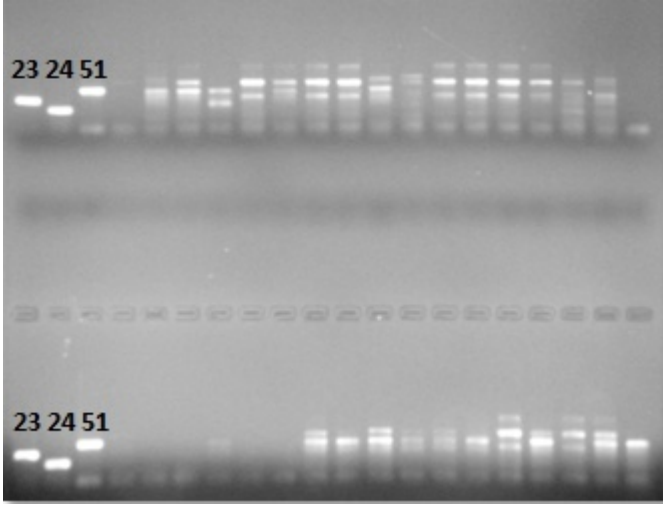
Şekil 6. TEM'e ait 39 ile 92 arası suşların jel görüntüsü (847 bp)



Şekil 7. TEM'e ait 93 ile 121 arası suşların jel görüntüsü (847 bp)

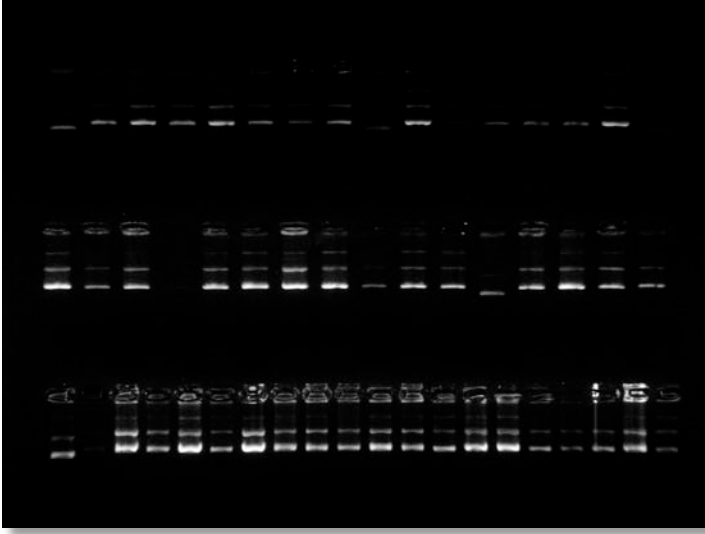


Şekil 8. OXA multiplex PZR 1 ile 34 arası suşların jel görüntüsü

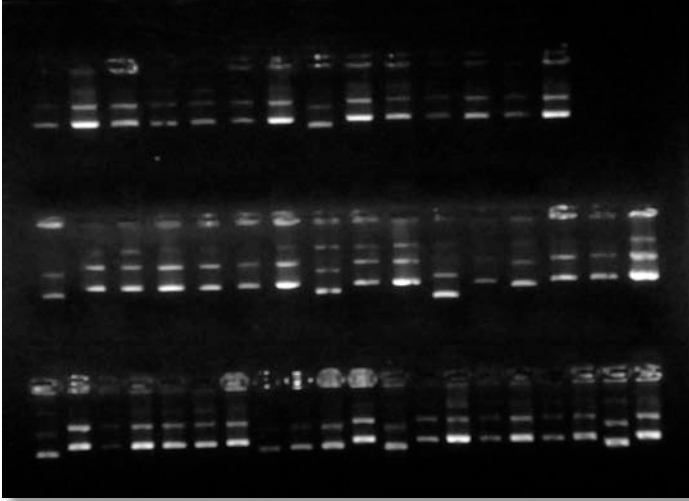


Şekil 9. OXA multiplex PZR 35 ile 68 arası suşların jel görüntüsü

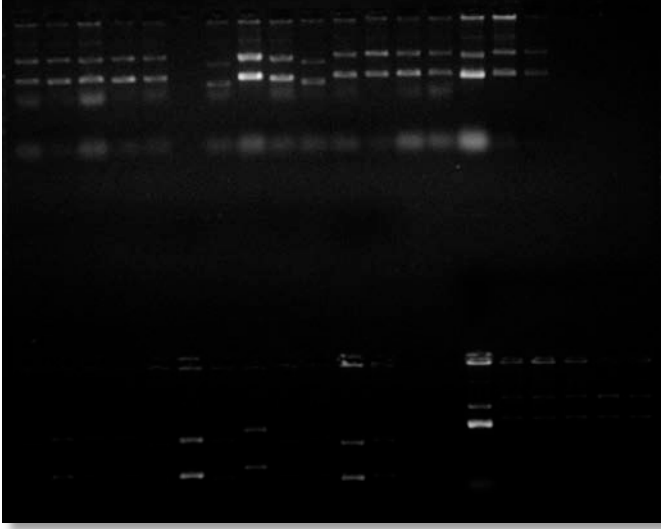
PZR'da spesifik primerler ile çoğaltılan genler pGEM-T/Easy vektörüne aktarılmış, PZR ürününü taşıyan pGEM-T/Easy vektörü, *E. coli* DH5-alfa kompetent hücrelerine transforme edilerek klonlama çalışmaları yapılmıştır.



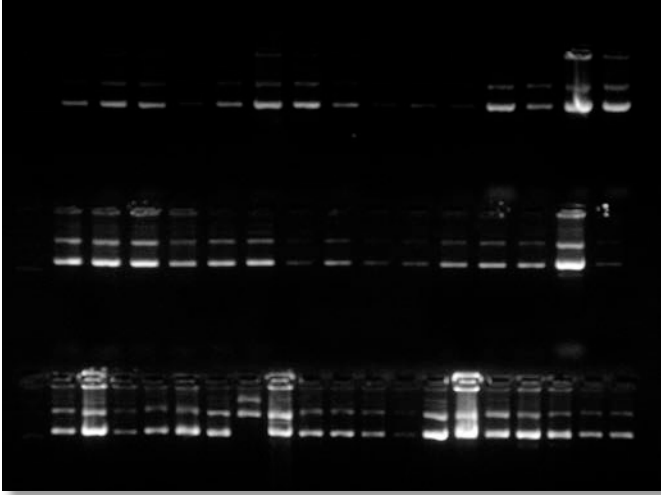
Şekil 10. SHV plazmit izolasyonu sonucu



Şekil 11. SHV plazmit izolasyon görüntüsü



Şekil 12.TEM plazmit izolasyon sonucu



Şekil 13. OXA-23-24-51 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 Tablo11 ve12'de gösterilmiştir.

Tablo 11. Rize suşları TEM sekans sonuçları

Suş kodu	Sonuç	Benzerlik Yüzdesi
TEM 821-1	TEM-1	% 100
TEM 724-2	TEM-1	% 100
TEM 863-2	TEM-1	% 100
TEM 1337-1	TEM-1	% 100
TEM 1368-2	TEM-1	% 100

Tablo 12. Rize suşları SHV sekans sonuçları

Suş kodu	Sonuç	Benzerlik Yüzdesi
FB 1	SHV-27	% 99
FB2	SHV-93	% 99
FB3	SHV-1	% 100
FB4	SHV-85	% 100
FB6	SHV-33	% 99
FB8	SHV-161	% 99
FB9	SHV-1	% 100
FB10	SHV-85	% 100
FB11	SHV-1	% 100
FB12	SHV-36	% 100
FB13	SHV-36	% 100
FB14	SHV-85	% 100
FB15	SHV-36	% 100
FB16	SHV-36	% 100
FB18	SHV-1	% 100
FB19	SHV-1	% 100
FB20	SHV-1	% 100
FB21	SHV-36	% 100
FB22	SHV-1	% 100

4. TARTIŞMA VE SONUÇLAR

Bu çalışmada toplam 121 hastadan izole edilen örneklerde kan, yara, idrar, vajen, balgam, trekeal, TAK kültürlerinden % 41,37 payla en fazla idrar kültürü olduğu görülmüştür.

Ağca (2011) ve Mehli (2007)'nin yaptıkları çalışmalarda gönderildiği örnek türüne göre değerlendirildiğinde en fazla idrar kültürü olduğunu saptamıştır. Bu sonuçlar çalışmamızla benzer sonuç göstermektedir.

Tablo 13. Ülkemizde çeşitli çalışmalarda *Klebsiella* spp. suşlarında saptanan direnç oranı

Araştırma	Yıl	AMP	IMP	AK	CRO	GN	CAZ	TZP	ATM
Yılmaz ve ark.	2009	-	4	32	92	-	92	59	-
Gazi ve ark.	2007	-	0,0	-	47	33,9	26,9	-	37,4
Ağca ve ark.	2011	100	0,0	2	46	25	46	-	-
Iraz ve ark.	2009	100	0,0	-	40	13	7	47	40
Uyanık ve ark.	2010	-	0,0	13	100	13	-	67	-
Ertürk ve ark.	2012	-	0,0	0,0	27	23	23	23	-
Uzun ve ark.	2012	84	0,0	11	50	48	56	25	56
Bu Çalışma	2015	67	11	13	31	9	19	21	26

Amikasin AK, İmipenem IMP, Ampisilin AMP, Sefriakson CRO, Gentamisin GN, Seftazidim CAZ, Pipersalin tazobaktam TZP, Aztreonam ATM

Yapılan çalışmada Rize'deki hastanelerden izole edilen örneklerinin meropenem ve imipenem antibiyotiklerine karşı en yüksekduyarlı olduğu gözlenmiştir.

Daha önce yapılan çalışmalarda *Klebsiella pneumoniae* suşlarında imipenem duyarlılığını % 100 olarak bulmuşlardır (Gazi vd., 2007; Ağca, 2011; Iraz, 2009; Uyanık vd., 2010; Ertürk vd., 2012; Uzun vd., 2012) Ayrıca Yılmaz vd., 2009 yılında yaptıkları çalışmada imipenem duyarlılığını %96 olarak bulmuşlardır. Bu sonuçlarla benzer olarak yapılan bu çalışmada da imipenem duyarlılığının yüksek oranda olduğu görülmüştür.

Çalışmamız da Rize ilindeki hastalardan izole edilen örnekler en fazla Ampisiline (% 67) dirençlilik göstermektedir. Ağca, 2011; Iraz, 2009 yaptıkları

çalışmalarda ampisilin dirençliliğini % 100 bulurken Uzun vd., 2012'de yaptıkları çalışmada ampisilin dirençliliğini % 84 olarak bulmuşlardır.

Akyar vd., 2010 yılında yaptığı çalışmada 2004 ile 2008 yılları arasındaki hastalardan izole edilen örneklerin toplam da % 32 ile yoğun bakım servisinden alındığı görölmektedir. Yapılan bu çalışmada da benzer olarak hastalardan izole edilen örneklerin % 23.14 pay ile en fazla yoğun bakım servisinden alındığı görölmektedir.

Gazi vd., 2007; Uzun vd., 2012; Iraz, 2009 yaptıkları çalışmalarda Aztreonam dirençliliğini sırasıyla % 37.4, % 56, % 40 olarak bulmuşlar. Yapılan bu çalışma da ise aztreonam dirençliliği % 26 olarak bulunmuştur.

Bugüne kadar β -laktamazların farklı pozisyonlarında ki amino asit değişimleri ele alındığında birçok farklı tipileri (167 adet TEM ve 191 adet SHV gibi) tespit edilmiştir (URL-2).

SHV tipi enzimlerin geniş spektrumlu ilk türevi 1983 yılında bildirimine göre SHV-2 olup, 238. Pozisyonunda glisinin yerine serin amino asitinin yer almasıyla SHV-1'den türevlenmiştir. Daha öncelerden çalışılan SHV araştırmalarında genellikle SHV2, SHV5 ve SHV12 rastlanmıştır (Taşlı ve Bahar, 2005). Bu çalışmamızda ise SHV türevlerinden SHV1, SHV14, SHV41, SHV142, SHV38, SHV33, SHV36 ve SHV 85 bulundu.

Rastgele kullanılan antibiyotikler her geçen yıl artmakta ve bununla birlikte antibiyotik direnç gelişimi artmaktadır.

“Rize İli'ndeki 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 dahil edilen Rize Devlet Hastanesi ve Recep Tayyip Erdoğan Üniversitesi Eğitim ve Araştırma Hastanesi'ndeki hastalardan alınan numuların en fazla idrar kültürü olduğu daha sonra ise TAK olduğu görölmüştür.

2. Rize ilindeki 121 hastadan izole edilen *K. pneumoniae* suşu başta Cerrahi Yoğun Bakım Servisi olmak üzere yoğun bakım servislerinde çok sık görüldüğü saptanmıştır. Ayrıca çocuk polikliniğinde de yüksek oranda görüldüğü saptanmıştır.
3. Yapılan bu çalışmada *K. pneumoniae*'nin cinsiyete göre dağılımı incelendiğinde % 59,5 payla erkeklerde daha fazla olduğu görülmüştür.
4. Rize Devlet Hastanesi ve Recep Tayyip Erdoğan Üniversitesi Eğitim ve Araştırma Hastanesinden alınan numuların en fazla Ampisiline dirençlilik gösterdiği, imipenem, meropenem ve seftazidim antibiyotiklerine karşı sırasıyla % 89.25, % 83.47 ve % 79.33 duyarlı olduğu gözlenmiştir.
5. Çalışılan 121 *Klebsiella pneumoniae* suşunda 42 tane SHV pozitif tespit edilmiştir.
6. İlk defa Türkiye de *Klebsiella pneumoniae* suşlarında SHV-33 tespit edilmiştir.
7. 121 suştandan 19 tanesinde TEM direnç gen bölgesi tespit edilmiştir.
8. CTX-M1 ve CTX-M2 grup primerleri ile çoğaltılan örneklerden 9 suшта CTX-M1, 2 suшта CTX-M2 tespit edilmiştir.
9. OXA-23, OXA-24 ve OXA51 grup primerleri ile çoğaltılan örneklerden 25 suшта OXA-23, 1 suшта OXA-24 ve 2 suшта OXA-51 tespit edilmiştir.

5. ÖNERİLER

Günümüzde en çok beta-laktam antibiyotikleri kullanılmaktadır. Bu antibiyotiklerin tercih edilmesi nedeni toksitesinin az olması, tüm yaş gruplarına uygulanabilir olması ve bakterisidal olmasından kaynaklanmaktadır. Fakat bilinçsiz ve yanlış kullanımıyla beta-laktamaz direnç gelişimine sebep olmaktadır.

Bu antibiyotikler bakterilerin üremesini engeller veya ölmesini sağlar. Bu nedenle kullanılan bilinçsizce tüketmesi vücuttaki yararlı bakterilerin ölmesine neden olabilir.

Bakterilerde bu direnç gelişiminin önlemek için reçetesiz antibiyotik kullanılmamalı, kullanılan antibiyotiğin uygun olarak yeterli miktarda tüketilmelidir. Ancak vücuda gereğinden fazla alınması vücutta buna bağlı olarak direnç kazanarak tedaviye yanıt vermemektedir. Tedavi aşamasında gerekli kadar kullanılmazsa istenilen sonuç alınmaz ve hastalığın tekrarlama riski artar.

Mikroorganizmalar birçok farklı mekanizma ile antimikrobik ilaçlara direnç gösterebilmektedir. Direncin, antibiyotik kullanımı ve süre ile doğrudan ilişkili olduğu bilinmektedir. Antimikrobik ilaçlara direnç mekanizmalarının ve farklı merkezlerdeki direnç oranlarının bilinmesi, ülkemizde diğer ülkelere kıyasla daha yüksek olan direnç sorununun azaltılması için alınacak önlemlere yol gösterecektir.

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.,
- Akyar, I., Kocagöz, S., Kocagöz, T., Sar, N., Gültekin, M., Ercis, S., Özen, Ö., Öztürk, N., Onaç, H. Kabaş, Z. 2010.** Beş yılda izole edilen 15434 *Escherichia coli* ve 3178 *Klebsiella* spp. suşunda genişlemiş spektrumlu beta-laktamaz üretiminin yıllara, kliniklere ve örnek türlerine dağılımı. Ankem Dergisi, 24(1), 34-41.
- 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 Mikrobiyoloji Cemiyeti 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.,
- Ertürk, A., Çicek, A., Köksal, E., Köksal, Z. ve Özyurt, S. 2012.** Yoğun bakım ünitesinde yatan hastaların çeşitli klinik örneklerinden izole edilen mikroorganizmalar ve antibiyotik duyarlılıkları. Ankem Dergisi, 26(1), 1-9.
- Gazi, H., Sürücüoğlu, S. ve Kurutepe, S. 2007.** İdrar kültürlerinden izole edilen Gram negatif bakterilerde antibiyotiklere direnç. Ankem Dergisi, 21(1), 19-22.
- 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., Kurtuluş, M., Yaman, G., Andiç, Ş. ve Berktaş, 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.,
- Iraz, M., 2009.** Malatya Devlet Hastanesi'nde klinik örneklerden izole edilen *Escherichia coli* ve *Klebsiella spp.* Suşlarında genişlemiş spekturumlu beta-laktamaz pozitifliği ile antibiyotik duyarlılığı. Ankem Dergisi, 23(4), 161-165.

- 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.,
- Kurşun, E., 2008.** Toplumda Genişlemiş Spektrumlu Beta-Laktamaz Salgılayan *Escherichia coli* ve *Klebsiella* Suşlarının Etken Olduğu İnfeksiyon Hastalıklarındaki Risk Faktörlerinin Ve GSBL Fekal Kolonizasyonu İçin Risk Faktörlerinin Belirlenmesi. Uzmanlık Tezi. Başkent Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Ankara, Türkiye, 64 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.,
- Leblebicioğlu, H., Usluer, G. ve Ulusoy, S., 2003.** Güncel Bilgiler Işığında Antibiyotikler. Bilimsel Tıp Yayınevi, ISBN:975-6986-19-0, 572 s., 31-40.
- 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.,
- Mehli, M., Zer, Y. ve Gayyurhan, E. 2007.** Çeşitli klinik örneklerden izole edilen *Enterobacteriaceae* suşlarında GSBL oluşturmanın ÇDST ve VITEK2 yöntemleri ile araştırılması. Ankem Dergisi, 21(2), 71-75.
- Murray, P., Rosenthal, K. and Pfaller, M. 2010.** Tıbbi Mikrobiyoloji. Atlas Kitapçılık, ISBN:978-975-7175-89-6, 947 s., Başustaoğlu, A. (Ç. Ed.), Yıldırım, Ş. (Yrd. Ç. Ed.), Tanyüksel, M. (Yrd. Ç. Ed.) ve Yapar, M. (Yrd. Ç. Ed.), 313.

- 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 Spekturumlu Beta- Laktamaz Tayini. Uzmanlık Tezi. Çukurova Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Adana, Türkiye, 87 s.,
- Otkun, M., 2007.** Hastane Kökenli *Escherichia coli* İzolatlarında Genişlemiş Spektrumlu Beta-Laktamazlar. Uzmanlık Tezi. Trakya üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Edirne, Türkiye, 78s.,
- 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., Ketten, 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.
- Türkoğlu, F., 2008.** Pediatri Kliniğine Başvuran Annelerin Çocuklarda Antibiyotik Kullanımı Konusundaki Bilgi Ve Tutumlarının Araştırılması. Uzmanlık Tezi. Göztepe Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Aile Hekimliği, İstanbul, Türkiye, 120 s.,
- 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.** [wikipedi](http://tr.wikipedia.org/wiki/Klebsiella_pneumoniae), (10 Ekim 2015).
- URL-4, 2015.** [https://tr.wikipedia.org/wiki/Klebsiella pneumoniae](https://tr.wikipedia.org/wiki/Klebsiella_pneumoniae) (15 Ekim 2015).
- 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.
- Uzun, B., Güngör, S., İlgün, M., Özdemir, R., Baran, N. ve Ergin, Ö. 2012.** Kan kültürlerinden izole edilen *Escherichia coli* ve *Klebsiella pneumoniae* izolatlarında genişlemiş spektrumlu beta-laktamaz sıklığı ve in-vitro antibiyotiklere direnç paternleri. *Ankem Dergisi*, 26(4), 181-186.
- 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 Spektrumlu 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.,
- Yılmaz, N., Ağuş, N., Köse, Ş., Yurtsever, S. ve Öner, Ö. 2009.** Geniş spektrumlu beta-laktamaz salgılayan *Escherichia coli* ve *Klebsiella pneumoniae* suşlarının ertapenem ve diğer antibiyotiklere duyarlılıkları. *Türk Mikrobiyoloji Cem Dergisi*, 39(3-4), 80-84.

ÖZGEÇMİŞ

Dilek ÖZTÜRKOĞLU 01/07/1988 tarihinde Zonguldak'ın Devrek ilçesinde doğdu. İlköğretimini 1995 yılında Zonguldak'ın Gökçebey ilçesinde Atatürk İlköğretim Okulu'nda ve Ortaöğretimini 2004 yılında Zonguldak'ın Devrek ilçesinde Devrek Lisesi'nde tamamladı. 07/09/2009 tarihinde başladığı lisans eğitimini 21/06/2013 tarihinde Recep Tayyip Erdoğan Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi Biyoloji Bölümü'nde 2.70 derecesi ile tamamladı. 2013 yılında Recep Tayyip Erdoğan Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Biyoloji Bölümü'nde başladığı yüksek lisans öğrenimini halen devam ettirmektedir.