



**T.C.
RECEP TAYYIP ERDOĞAN ÜNİVERSİTESİ
LİSANSÜSTÜ EĞİTİM ENSTİTÜSÜ
BİYOLOJİ ANABİLİM DALI**

***Escherichia coli* ve *Klebsiella pneumoniae* KLİNİK
İZOLATLARINDA ANTİBİYOTİK DİRENÇ GENLERİNİN
ARAŞTIRILMASI**

(Yüksek Lisans Tezi)

Fatma KAVALCI

**Danışman
Dr. Öğr. Üyesi Yeşim AKTÜRK DİZMAN**

**RİZE
2023**

KABUL VE ONAY

Recep Tayyip Erdoğan Üniversitesi, Lisansüstü Eğitim Enstitüsü, Biyoloji Anabilim Dalında, Dr. Öğr. Üyesi Yeşim AKTÜRK DİZMAN danışmanlığında, Fatma KAVALCI tarafından hazırlanan “*Escherichia coli* ve *Klebsiella pneumoniae* Klinik İzolatlarında Antibiyotik Direnç Genlerinin Araştırılması” adlı bu tez çalışması, 6/02/2023 tarihinde yapılan savunma sınavı sonucunda oy birliği/oy çokluğuyla başarılı bulunarak jürimiz tarafından **Yüksek Lisans Tezi** olarak kabul edilmiştir.

Jüri Üyeleri

Unvanı, Adı SOYADI

İmza

Başkan : Prof. Dr. Şengül ALPAY KARAOĞLU

Üye : Dr. Öğr. Üyesi Yeşim AKTÜRK DİZMAN

Üye : Dr. Öğr. Üyesi Esmâ AKYILDIZ

ETİK BEYAN

Biyoloji Yüksek Lisans Programından mezun olmak üzere teslim ettiğim “*Escherichia coli* ve *Klebsiella pneumoniae* Klinik İzolatlarında Antibiyotik Direnç Genlerinin Araştırılması” adlı tezim, bilim ve araştırma etiği prensiplerine riayet edilerek tarafımdan yazılmıştır.

Tez çalışmamda, başka kaynaklardan aktarılan bütün bilgi ve alıntılar, Enstitünüz Tez Yazım Kılavuzuna uygun olarak açıkça gösterilmiştir. Kaynağı gösterilenler dışında kalan bütün bilgiler uygun araştırma yöntemi kullanılarak tarafımdan edinilmiş ve esere bu şekilde yansıtılmıştır. Şahsıma ait olmayan hiçbir bilgi, kasıt veya kusurlar, şahsıma aitmiş gibi gösterilmemiştir. İnternet kaynakları dahil, sahibine/kaynağına atıf yapılmaksızın hiçbir bilgi kullanılmamıştır. Aksinin ortaya çıkması halinde doğacak bütün hukuki, idari, akademik ve etik sorumluluk tarafıma ait olacaktır. Eserin tesliminden sonra herhangi bir zamanda, bilim etiğine aykırılık tespit edilmesi ve / veya eserimle ilgili intihal veya intihal şeklinde anlaşılabilecek bir durumun ortaya çıkması halinde; Üniversiteniz ve eğitim kadronuzun hiçbir şekilde sorumlu tutulmayacağını hür irademle kabul, beyan ve taahhüt ederim.
..../..../...

Fatma KAVALCI

ÖN SÖZ

Tez çalışmam Recep Tayyip Erdoğan Üniversitesi Lisansüstü Eğitim Enstitüsü Biyoloji Anabilim Dalı'nda "Yüksek Lisans Tezi" olarak hazırlanmıştır. Çalışmada, Trabzon Fatih Devlet Hastanesinden izole edilen *E. coli* ve *Klebsiella pneumoniae* suşlarının antibiyotik direnç profilleri belirlenmiş ve direnç genleri moleküler yöntemlerle araştırılmıştır.

Yüksek lisans öğrenimim süresince önemli ölçüde katkısını ve emeğini eksik etmeyen, her konuda yardımcı olan, her koşulda desteğini esirgemeyen özverili, özenli ve değerli danışmanım Sayın Dr. Öğr. Üyesi Yeşim AKTÜRK DİZMAN'a teşekkürü bir borç bilirim. Recep Tayyip Erdoğan Üniversitesi, Biyoloji Bölümü öğretim üyesi Sayın Prof. Dr. Şengül ALPAY KARAOĞLU ve Sayın Prof. Dr. Fatih Şaban BERİŞ'e çalışmalarım süresinde ihtiyaç duyduğum vakit verdikleri destek ve öğretilerinden ötürü teşekkür ederim. Çalışmada kullanılan klinik izolatların teminini sağlayan Dr. Öğr. Üyesi Esmâ AKYILDIZ'a teşekkürlerimi iletiyorum. Ayrıca paylaşımlarından ve de motivasyonlarından yararlandığım bölüm arkadaşlarım Arş. Gör. Şeyma SUYABATMAZ ve Dr. Arif BOZDEVECİ'ye teşekkürlerimi sunarım.

Bu süreçte ve tüm yaşantım boyunca maddi manevi desteğiyle yaşamı sevincim olan sevgili anneme, varlıklarıyla dahi bana moral ve motivasyon olan kardeşlerim Ebru ve Barış'a minnet ve şükranlarımı sunarım.

Fatma KAVALCI

2023/Rize

İÇİNDEKİLER

KABUL VE ONAY	I
ETİK BEYAN.....	II
ÖN SÖZ	III
İÇİNDEKİLER	IV
ÖZET	VIII
ABSTRACT.....	IX
KISALTMALAR.....	X
TABLolar LİSTESİ.....	XI
ŞEKİLLER LİSTESİ	XII
GİRİŞ	1
1. GENEL BİLGİLER	4
1.1. Antibiyotik Direnci	4
1.1.1. Doğal (İntrinsik) Direnç	4
1.1.2. Kazanılmış Direnç.....	4
1.1.3. Çapraz Direnç	5
1.2. Antibiyotiklere Karşı Oluşan Direnç Mekanizmaları	6
1.2.1. İlacın Bağlandığı Reseptör ya da Bağlanma Bölgesinde Oluşan Değişiklikler.....	6
1.2.2. Antibiyotik İnaktivasyonu Sonucu Gelişen Direnç	7
1.2.3. İlacın Enzimatik İnaktivasyonu	7
1.2.4. Aktif Pompalama ile İlacın Dışarı Atılması.....	7
1.2.5. Metabolik Yoldaki Değişimler.....	8
1.3. Antibiyotiklerin Tarihsel Gelişimi	8
1.4. Antibiyotiklerin Sınıflandırılması	9
1.4.1. Antibiyotiklerin Etki Güçlerine Göre Sınıflandırılması.....	10
1.4.2. Antibiyotiklerin Etki Mekanizmalarına Göre Sınıflandırılması	10

1.4.3. Antibiyotiklerin Kimyasal Yapılarına Göre Sınıflandırılması.....	11
1.5. Beta (β) Laktam Antibiyotikler.....	11
1.5.1. Penisilinler	12
1.5.2. Sefalosporinler	13
1.5.3. Karbapenemler	13
1.5.4. Monobaktamlar	14
1.6. β-Laktamların Etki Mekanizmaları.....	14
1.7. Beta (β) Laktamaz İnhibitörleri.....	15
1.8. Beta (β) Laktamazlar.....	16
1.8.1. Beta Laktamazların Sınıflandırılması	16
1.8.2. Beta Laktamaz Türleri	18
1.8.2.1. AmpC tipi Beta Laktamazlar	18
1.8.2.2. Genişlemiş Spektrumlu Beta Laktamazlar (GSBL)	19
1.8.2.2.1. SHV	20
1.8.2.2.2. TEM	20
1.8.2.2.3. CTX-M	20
1.8.2.2.4. OXA.....	21
1.8.2.2.5. PER	22
1.8.2.2.6. GES.....	22
1.8.2.3. Metallo Beta Laktamazlar (MBL)	22
1.9. <i>Enterobacteriaceae</i>	23
1.9.1. <i>Escherichia coli</i>	24
1.9.1.1. <i>E. coli</i> 'nin Genel Özellikleri.....	24
1.9.1.2 Morfoloji ve Boyama Özellikleri	25
1.9.1.3. Kültür (Üreme) Özellikleri	26
1.9.1.4. Antijen Yapıları	26
1.9.1.5. Sınıflandırması	26
1.9.1.6. Dirençlilik.....	27
1.9.1.7. Plazmit ve Bakteriyosin İçeriği	27
1.9.1.8. Yaptığı Hastalıklar.....	28

1.9.1.8.1. Bağırsaklarda Oluşturdukları Hastalıklar	28
1.9.1.8.2. Bağırsak Dışı Oluşturduğu Hastalıklar.....	29
1.9.1.9. Tedavi	30
1.9.2. <i>Klebsiella</i> Türlerinin Morfolojileri ve Kültür Özellikleri	31
1.9.2.1. Virülans Faktörleri.....	31
1.9.2.2. Neden Olduğu Hastalıklar	32
2. YAPILAN ÇALIŞMALAR.....	33
2.1. Materyal	33
2.1.1. Kullanılan Alet ve Ekipmanlar	33
2.1.2. Kullanılan Kimyasallar, Enzimler, Vektörler, Kitler	33
2.1.3. Besiyerlerinin Hazırlanması.....	34
2.1.4. Çözeltiler ve Tampon Solüsyonlarının Hazırlanışı	34
2.2. Metod	36
2.2.1. <i>E. coli</i> ve <i>K. pneumoniae</i> İzolatlarının Temini	36
2.2.2. <i>E. coli</i> ve <i>K. pneumoniae</i> İzolatlarının Canlandırılması ve DNA İzolasyonu	37
2.2.3. Direnç Genlerinin Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PZR) İle Belirlenmesi	37
2.2.4. Agaroz Jel Elektroforezi Analizi.....	40
2.2.5. Kompetent Hücrelerin Hazırlanması	40
2.2.6. Ligasyon Hazırlama	40
2.2.7. PZR Ürünlerinin pGEM-T Easy Vektörüne Klonlanması.....	41
2.2.8. Plazmid İzolasyonu ve Pozitif Klonların Seçilmesi.....	41
2.3. Bulgular.....	42
2.3.1. Bakteri İzolatlarının Dağılımı	42
2.3.2. Bakteri İzolatlarının Antibiyotik Duyarlılıkları	42
2.3.3. <i>E. coli</i> ve <i>K. pneumoniae</i> İzolatlarının Antimikrobiyal Profilleri.....	46
2.3.4. Bakteri İzolatlarında Çoklu İlaç Direnç Profili.....	47
2.3.5. Antibiyotik Direnç Genlerinin Moleküler Yöntemler ile Araştırılması47	
2.3.5.1. <i>bla</i> _{OXA-48} ve <i>bla</i> _{OXA-51} Genlerinin PZR ile Araştırılması.....	47
2.3.5.2. <i>bla</i> _{CTX-M1} Geninin PZR ile Araştırılması	48

2.3.5.3. <i>bla</i> _{TEM} Geninin PZR ile Araştırılması	49
2.3.6. Direnç Genlerinin Klonlanması	50
2.3.7. Direnç Geni Saptanan İzolatların Antibiyotik Direnç Profilleri	52
3. TARTIŞMA, SONUÇ VE ÖNERİLER	56
3.1. Tartışma ve Sonuç.....	56
3.2. Öneriler	61
KAYNAKÇA.....	63



Recep Tayyip Erdoğan Üniversitesi Lisansüstü Eğitim Enstitüsü

Ana Bilim Dalı : Biyoloji
Tez Türü : Yüksek Lisans Tezi
Danışman : Dr. Öğr. Üyesi Yeşim AKTÜRK DİZMAN
Hazırlayan : Fatma KAVALCI
Yıl : 2023
Sayfa Sayısı : 93

ÖZET

***Escherichia coli* ve *Klebsiella pneumoniae* KLİNİK İZOLATLARINDA
ANTİBİYOTİK DİRENÇ GENLERİNİN ARAŞTIRILMASI**

Enterobacteriaceae'de β -laktamlara karşı direnç dünya çapında artmaktadır. Bu çalışma, 50 klinik *Escherichia coli* ve 47 klinik *Klebsiella pneumoniae* izolatında antibiyotik direnç genlerinin sıklığını ve antibiyotik direnç oranlarını belirlemeyi amaçlamıştır. Antibiyotik duyarlılık testi için 24 farklı antibiyotik kullanıldı. Bakteri izolatlarının (sırasıyla *E. coli* ve *K. pneumoniae*) antibiyotiklere direnç profilleri sefiksime (%80-97,7), piperasiline/tazobaktam (%20-97,7), ampisiline (%100), seftriakson (%98-91,1), sefuroksime (%100-97,7), sefuroksim aksetil (%100-97,7), siprofloksasin (%76-100), fosfomisin (%6-35,7), gentamisin (%38-26,6), ertapenem (%26-22,2) ve seftazidim (%80-95,5) olarak tespit edildi. Trimetoprim/sulfametaksazola karşı sadece *K. pneumoniae*'de %76,5 direnç gözlemlendi. *E. coli* ve *Klebsiella pneumoniae* izolatlarında çoklu ilaç direnç oranları sırasıyla %42 ve %42,2 olarak belirlendi. *bla*_{CTX-M1}, *bla*_{TEM}, *bla*_{KPC}, *bla*_{GES}, *bla*_{SHV}, *bla*_{VIM}, *bla*_{PER-2}, *bla*_{VEB}, *bla*_{IMP}, *bla*_{CMY-2}, *bla*_{CTX-M2}, *bla*_{MOX}, *bla*_{FOX}, *bla*_{DHA}, *bla*_{MIR}, *bla*_{MCR-1} *qnrS*, *qnrA*, *qnrB*, *fosA*, *fosC*₂, *fosA*₃, *murA*, *uhpT*, *glpT* genleri PZR ile tespit edildi. *bla*_{OXA-51}, *bla*_{OXA-23}, *bla*_{OXA-48} ve *bla*_{OXA-24} benzeri genlerin tespiti için multipleks PZR kullanıldı. Multipleks PZR'da, bir *E. coli* suşunun *bla*_{OXA-51}, 5 *K. pneumoniae* suşunun *bla*_{OXA-48} taşıdığı tespit edildi. Hiçbir izolatta OXA-23 ve OXA-24 tipi karbapenemaz tespit edilmemiştir. CTX-M1 tipi beta laktamazlar 14 izolatta ve TEM tipi beta laktamazlar 10 izolatta tespit edildi. Diğer direnç genleri hiçbir izolatta tespit edilmedi. Bu sonuçlar, CTX-M1 beta laktamazın, genişlemiş spektrumlu beta laktamaz üreten *E. coli* ve *K. pneumoniae* suşları arasında en yaygın A sınıfı beta laktamaz türü olduğunu göstermektedir.

Anahtar Kelimeler: *E. coli*, *K. pneumoniae*, OXA-48, CTX-M1, TEM, antibiyotik direnç geni

Recep Tayyip Erdogan University Institute of Graduate Studies

Department : Biology

Thesis Type : Master Thesis

Supervisor : Assistant Professor Yeşim AKTÜRK DİZMAN

Author : Fatma KAVALCI

Year : 2023

Pages : 93

ABSTRACT

INVESTIGATION OF ANTIBIOTIC RESISTANCE GENES IN CLINICAL ISOLATIONS OF *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae*

Resistance to β -lactams in *Enterobacteriaceae* has been increasing worldwide. This study has aimed to determine the frequency of antibiotic resistance genes and antibiotic resistance rates in 50 clinical *E.coli* and 47 clinical *Klebsiella pneumoniae* isolates. 24 different antibiotics were used for antibiotic susceptibility testing. Antibiotic resistance profiles of bacterial isolates (*E.coli* and *Klebsiella pneumoniae*, respectively), cefixime (80%-97.7%), piperacillin/tazobactam (20%-97.7%), ampicillin (100%-100%), ceftriaxone (98%-91.1%), cefuroxime (100%-97.7%), cefuroxime axetil (100%-97.7%), ciprofloxacin (76%-100%), fosfomycin (6%-35.7%), gentamicin (38%-26.6%), ertapenem (26%-22.2%) and ceftazidime (80%-95.5%). Trimethoprim/sulfamethoxazole resistance in *Klebsiella pneumoniae* was detected as 76.5%. Multi-drug resistance rates in *E.coli* and *Klebsiella pneumoniae* isolates were determined as 42% and 42.2%, respectively. Multiplex PCR was used to detect *bla*_{OXA-51}, *bla*_{OXA-23}, *bla*_{OXA-48} and *bla*_{OXA-24} like genes. *bla*_{CTX-M1}, *bla*_{TEM}, *bla*_{KPC}, *bla*_{GES}, *bla*_{SHV}, *bla*_{VIM}, *bla*_{PER-2}, *bla*_{VEB}, *bla*_{IMP}, *bla*_{CMY-2}, *bla*_{CTX-M2}, *bla*_{MOX}, *bla*_{FOX}, *bla*_{DHA}, *bla*_{MIR}, *bla*_{MCR-1}, *qnrS*, *qnrA*, *qnrB*, *fosA*, *fosC*₂, *fosA*₃, *murA*, *uhpT*, *glpT* genes, detected by PCR. In multiplex PCR, one *E.coli* strain was found to carry *bla*_{OXA-51}, and 5 *Klebsiella pneumoniae* strains, to carry *bla*_{OXA-48}. OXA-23 and OXA-24 type carbapenemases were not detected in any of the isolates. CTX-M1 type beta lactamases were detected in 14 isolates and TEM type beta lactamases, in 10 isolates. Other resistance genes were not detected in any isolate. These results indicate that CTX-M1 beta-lactamase is the most common type of class A beta-lactamase among extended-spectrum beta-lactamase producing *E. coli* and *Klebsiella pneumoniae* strains.

Keywords: *E.coli*, *Klebsiella pneumoniae*, OXA-48, CTX-M1, TEM, antibiotic resistance gene

KISALTMALAR

Bp	Baz çifti
Dk	Dakika
dH ₂ O	Distile su
dNTP	Deoksinükleozit trifosfat
DNA	Deoksiribonükleik asit
<i>E. coli</i>	<i>Escherichia coli</i>
<i>EcoRI</i>	<i>E. coli</i> RY13
EDTA	Etilendiamin tetraasetik asit
EUCAST	Avrupa Antimikrobiyal Duyarlılık Testleri Komitesi
FSB	Frozen storage buffer
GSBL	Genişlemiş spektrumlu beta laktamaz
<i>K. pneumoniae</i>	<i>Klebsiella pneumoniae</i>
LB	Luria-Bertani
µL	Mikrolitre
µM	Mikromolar
µm	Mikrometre
MİK	Minimum inhibisyon konsantrasyonu
PBP	Penisilin bağlayan protein
R	Dirençli
Rpm	Dakikadaki dönüş sayısı
S	Duyarlı
Taq	<i>Thermus aquaticus</i>
TAE	Tris-asetik asit-etilendiamintetraasetik asit
Tm	Erime sıcaklığı
Tris	Tris (hidroksimetil) aminometan
PZR	Polimeraz Zincir Reaksiyonu
X-Gal	5-Bromo-4-kloro-3-indol-b-D-galaktozid

TABLÖLAR LİSTESİ

Tablo 1. Antibiyotikler ve etki mekanizmaları	9
Tablo 2. Penisilin grubu antibiyotikler	12
Tablo 3. Sefalosporin grubu antibiyotikler	13
Tablo 4. Beta-laktamazların Bush-Jacoby ve Medeiros sınıflandırılması	17
Tablo 5. <i>Enterobacterales</i> takımı üyelerinin antibiyotik duyarlılık ve dirençlilik sınır değeri profilleri	36
Tablo 6. PZR’de kullanılan primerler ve ürün büyüklükleri.....	38
Tablo 7. Termal döngü şartları.....	39
Tablo 8. Kadın-Erkek Hasta Yüzdesi.....	42
Tablo 9. <i>E. coli</i> izolatlarının hücre duvarı sentezini inhibe eden antimikrobiyotiklere karşı duyarlılık sonuçlar.....	43
Tablo 10. <i>K. pneumoniae</i> izolatlarının hücre duvarı sentezini inhibe eden antimikrobiyotiklere karşı duyarlılık sonuçlar.....	44
Tablo 11. <i>K. pneumoniae</i> izolatlarının hücre duvarı sentezini inhibe eden antimikrobiyotiklere karşı duyarlılık sonuçlar.....	45
Tablo 12. <i>E. coli</i> ve <i>K. pneumoniae</i> izolatların antibiyotik dirençlilik ve duyarlılık profilleri	46
Tablo 13. <i>bla</i> _{CTX-M1} , <i>bla</i> _{TEM} ve <i>bla</i> _{OXA} pozitif direnç genlerinin dirençli oldukları antibiyotikler.....	53
Tablo 14. <i>E. coli</i> ve <i>K. pneumoniae</i> suşlarının çoklu antibiyotik direnç profilleri ..	54

ŞEKİLLER LİSTESİ

Şekil 1. Beta-laktam antibiyotiklerin kimyasal yapıları	11
Şekil 2. Penisilinin kimyasal yapısı	12
Şekil 3. Sefalosporinin kimyasal yapısı	13
Şekil 4. Karbapenemlerin kimyasal yapısı	14
Şekil 5. Monobaktamların kimyasal yapısı	14
Şekil 6. <i>E. coli</i> 'nin mikrobik görüntüsü	26
Şekil 7. <i>Klebsiella pneumoniae</i> 'nin mikrobik görüntüsü	31
Şekil 8. <i>E.coli</i> ve <i>K. pneumoniae</i> 'da çoklu ilaç direnci	47
Şekil 9. <i>bla</i> _{OXA-48} ve <i>bla</i> _{OXA-51} genlerinin agaroz jel elektroforez görüntüsü	48
Şekil 10. <i>bla</i> _{CTX-M1} geninin agaroz jel elektroforez görüntüsü.	49
Şekil 11. <i>bla</i> _{CTX-M1} geninin agaroz jel elektroforez görüntüsü.	49
Şekil 12. <i>bla</i> _{TEM} geninin agaroz jel elektroforez görüntüsü.	50
Şekil 13. <i>EcoRI</i> ile kesilen K108 izolatına ait pGEM-T Easy+ <i>bla</i> _{OXA-48} klonunun agaroz jel elektroforez görüntüsü.	51
Şekil 14. <i>EcoRI</i> ile kesilen E265 izolatına ait pGEM-T Easy+ <i>bla</i> _{OXA-51} klonunun agaroz jel elektroforez görüntüsü.	51
Şekil 15. <i>EcoRI</i> ile kesilen E254 izolatına ait pGEM-T Easy+ <i>bla</i> _{TEM} klonunun ve K84 izolatına ait pGEM-T Easy+ <i>bla</i> _{CTX-M1} klonunun agaroz jel elektroforez görüntüsü.	52

GİRİŞ

Mikroorganizmalar yeryüzünün en eski canlılarıdır. Bunun en önemli nedeni değişen koşullara hızla uyum sağlayabilme yetenekleridir. Bu yetenekleri sayesinde geliştirilen her yeni antibiyotiğe direnç geliştirecek bir yol bulmaktadırlar. Sonuç olarak enfeksiyonlar ile savaşta çok önemli yer tutan antibiyotiklere karşı direnç sorunu ortaya çıkmaktadır (Vahaboğlu, 2004).

1939'da penisilinler saf olarak elde edildiklerinde büyük umutlar doğurmuş fakat kısa zaman sonra 1940'da Abraham ve Chain'in penisilinazı bulması umutların kırılmasına sebep olmuştur. Bu buluşun ardından birçok yeni antibiyotik geliştirilmiş fakat mikroorganizmalar bulunan her antibiyotiğe karşı yeni bir direnç yolu geliştirmeyi başarmıştır. Günümüzde birçok Gram negatif (çoklu antibiyotik direncine sahip *Escherichia coli*, *Klebsiella spp.*, *Enterobacter spp.*, *Acinetobacter baumannii*, *Stenotrophomonas maltophilia*, *Serratia spp.* gibi penisilin dirençli *Meningokoklar*, kinolon dirençli *Gonokoklar*), Gram pozitif (Metisilin dirençli *Staphylococcus aureus* ve koagülaz negatif *Stafilokoklar*, vankomisin dirençli *Enterokoklar*, penisilin dirençli *Pnömonokoklar*, makrolid dirençli *Streptokoklar*) ve aside dirençli (çoklu ilaca dirençli *Mycobacterium tuberculosis* ve *M. avium complex*) mikroorganizmalarda antibiyotik direnci enfeksiyonların tedavisinde ciddi sorunlar oluşturmaktadır (Vahaboğlu, 2004; Usluer, 2002).

Antibiyotik direnci, herhangi bir mikroorganizma türünün bazı suşlarının antibiyotiğe karşı çeşitli direnç mekanizmaları geliştirmesi ve antibiyotikten etkilenmemesi olarak tanımlanabilir. Kazanılmış antibiyotik direnci ise ya dirençli bir mikroorganizmanın direnç genini duyarlı mikroorganizmalara aktarmasıyla ya da mikroorganizmaların kromozomunda oluşan mutasyonlarla açığa çıkar (Töreci, 2003; Gold ve Moellering, 1996).

Günümüzde antibiyotik çeşitlerinin kullanımının artması, yoğun bakım ünitelerinin sayısının artması, bağışıklık sistemi bozulmuş hastaların sayısının artması, gıda endüstrisinde antibiyotik kullanımı gibi sebeplerle mikroorganizmalardaki antibiyotik direnci istikrarlı şekilde artış göstermektedir. Toplum kaynaklı enfeksiyon etkenlerinden *Streptococcus pneumoniae*, *Moraxella catarrhalis*, *Haemophilus influenzae*, *Shigella catarrhalis*, *Neisseria gonorrhoeae*, *Escherichia coli* en çok

direnç sorunu yaşanan mikroorganizmalardır. Fakat antibiyotik kullanımının daha yoğun olması sebebi ile direnç sorununun daha ciddi yaşandığı yerler ise hastanelerdir (Töreci, 2004; Archibad vd., 1997).

Antibiyotikler, enfeksiyon tedavisinde önemli yere sahip olmaları bakımından uygun kullanıldıkları takdirde önemli yararlar sağlamalarına karşın uygun olmayan kullanımlarında ise dirençli suşların hızla ortaya çıkmasına neden olmaktadır. Buna ilave olarak bu dirençli suşlarla oluşan süperenfeksiyonlar, morbiditeyi ve mortaliteyi olumsuz yönde etkilemektedirler (Uluğ vd., 2012). Mikroorganizmalar, antimikrobiyal ajanlara karşı sürekli olarak direnç geliştirmekte ve sonuç olarak bu ajanları etkisiz hale getirmektedirler. Bakterilerin genişlemiş spektrumlu beta-laktamaz (GSBL) enzimleri üretmesi, bu direnç mekanizmaları arasında önemli yere sahiptir. Genel olarak GSBL üreten bakteriler hastane enfeksiyonları ile ilişkilidirler fakat artık günümüzde toplum içinde de görülmesi mümkündür (O’Kelly vd., 2016).

Antibiyotiklere karşı direnç, son yıllarda artık ciddi boyutlara varan bir klinik problem haline gelmiştir. Direnç geliştiren bakteriler arasında, beta laktamaz enzimlerini üreterek beta laktam antibiyotiklerini hidrolize edip onları inaktif hale getiren birçok bakteri türü bulunmaktadır. Günümüze kadar toplamda 350’ye varan beta laktamaz enzimi tanımlanmış olup bunların büyük oranını ise genişlemiş spektrumlu beta laktamaz enzimleri oluşturmaktadır (Ambler, 1980; Falagas ve Karageorgopoulos, 2009).

GSBL’ler genellikle ekstrasözomal yapılar tarafından sentezlendiklerinden bakteriler arası kolaylıkla aktarılabilirler mümkündür. Genişlemiş spektrumlu beta laktamazlar daha yaygın olarak *E. coli* ve *K. pneumoniae* tarafından sentezlenmektedirler (Calbo ve Garau, 2015; Coque vd., 2008).

Genişletilmiş spektrumlu beta laktamazın dünya çapında önemli ölçüde yayılmasına sebep olan özellikle *E. coli* ve *K. pneumoniae* gibi çoklu ilaca dirençli bakterilerdir (Chong vd., 2011). *Escherichia coli* ve *K. pneumoniae* plazmit aracılı, ampisilin hidrolize eden beta laktamazlar içeren suşlardır (Paterson and Bonomo, 2005).

Escherichia coli genellikle mide bağırsak, kan dolaşımı ve idrar yolu enfeksiyonları ile ilişkilidir. Buna ilave olarak, *E. coli* aktarılabılır antimikrobiyal direnç deposu görevi görmektedir (Frye ve Jackson, 2013; Poole vd., 2017).

Bu yüksek lisans tez çalışmasının amacı, Trabzon Fatih Devlet hastanesinden izole edilen 50 *E. coli* ve 47 *Klebsiella pneumoniae* izolatında *bla*_{CTX-M1}, *bla*_{TEM}, *bla*_{KPC}, *bla*_{GES}, *bla*_{SHV}, *bla*_{VIM}, *bla*_{PER-2}, *bla*_{VEB}, *bla*_{IMP}, *bla*_{CMY-2}, *bla*_{CTX-M2}, *bla*_{MOX}, *bla*_{FOX}, *bla*_{DHA}, *bla*_{MIR}, *bla*_{MCR -1} *qnrS*, *qnrA*, *qnrB*, *fosA*, *fosC*₂, *fosA*₃, *murA*, *uhpT*, *glpT* genlerinin varlığının moleküler yöntemlerle araştırılmasıdır.



1. GENEL BİLGİLER

1.1. Antibiyotik Direnci

Mikroorganizmaların etkilere direnme yeteneği nedeniyle bir zamanlar onları etkisiz hale getirmek için kullandığımız ilaçlar gün geçtikçe daha az etkili olmaktadır. Mikroorganizmaların bu yeteneği antimikrobiyal direnç olarak bilinir (CDC, 2018). Bu nedenle ilaçlar etkisiz hale gelmekte ve mikroorganizmalar bir süreliğine varlığını sürdürmektedir. Mikroorganizmaların vücutta daha uzun süre kalması, enfeksiyonların yayılma riskini arttırmakta ve hastalıkları tedavi etme yeteneğimizi tehdit etmektedir (WHO, 2018). Dünya Sağlık Örgütü tarafından büyük bir küresel sağlık tehdidi olarak tanımlanan antibiyotik direnci nedeniyle her yıl yüz binlerce insan ölmektedir (Allen, 2014).

1.1.1. Doğal (İntrinsik) Direnç

Doğal direnç mekanizması, bakterilerde kalıtsal değildir fakat bakterilere ait bir çeşit direnç özelliğidir. Bakteriler, tür özelliklerine bağlı olarak antibiyotiklerin hedefi olan yapıyı taşımamalarından dolayı direnç oluşturabilmektedir. Bu nedenle de antibiyotiklerin herhangi bir yapısal özelliklerinden dolayı hedefe ulaşmaları engellenmiş olmaktadır (Jawetz vd., 1995; Eliopoulos, 1992).

1.1.2. Kazanılmış Direnç

Bakterilerdeki birçok genetik özelliğin değişmesi transpozonlar veya plazmit DNA'sında meydana gelen mutasyonlar aracılığıyla oluşmaktadır. Dirençli bakteriler aracılığı ile transdüksiyon, konjugasyon veya transformasyon gibi aktarım yöntemleri vasıtasıyla meydana gelen direnç kazanılmış dirençtir (Kayış, 2019).

Genetik kaynaklı direnç kromozomal veya kromozom dışı elemanlara bağlı olabilir. Kromozomal direnç, bakterilerin kromozomlarında kendiliğinden meydana gelen mutasyonlar neticesinde ortaya çıkar. Ekstrakromozomal direnç, farklı şekillerde aktarılan plazmit, integron ve transpozon adı verilen genetik elemanlara bağlıdır (Yüce, 2001).

Plazmidler, kromozomdan bağımsız olarak replikasyona uğrayabilen ekstrakromozomal DNA parçalarıdır. İlaçların parçalanmasına yol açan enzimlerin üretilmesinden sorumludur (McClintock, 1950).

Transpozonlar (sıçrayan genler), hücrenin genomunda farklı yerlere geçebilen DNA dizileridir. Bu şekilde, genomdaki DNA'ların değişmesine ve mutasyonlara sebep olurlar (McClintock, 1950). Direnç genlerinin özellikle transpozonlar tarafından taşındıkları bilinmektedir (Yüce, 2001). Bakteri kromozomu içinde yer değiştirebilen veya plazmitten plazmite, plazmitten bakteriyofaja ya da DNA'ya, kromozomdan plazmide geçiş yapabilen DNA dizileridir. Direnç genlerini taşıyan plazmit ve genetik materyaller bakteriler arası konjugasyon, transformasyon, transpozisyon ve transdüksiyon gibi mekanizmalar aracılığı ile aktarılırlar (McClintock, 1950).

Transdüksiyon, genetik materyallerin fajlar vasıtasıyla bakteriden bakteriye aktarılması olayıdır. Böylece ilaç direnci içeren herhangi bir bakteriden diğer bir bakteriye direnç aktarımı yapılmış olur (Arda, 1978). Genetik transferdir ve bir vektör (taşıyıcı) yoluyla gerçekleşir. Çoğunluğu, genel olarak bakterileri enfekte edebilen virüsler olarak da bilinir. Bakteriyofajlar ya da basit anlamı ile fajlar da denilebilir. Antibiyotik direncini kodlayan bakteri geni (dirençli DNA) içeren virüs, yeni bakteri hücrelerini enfekte eder ve bu genetik materyali alıcı bakteriye aktarır (Alanis, 2005).

Konjugasyon, iki bakterinin teması neticesinde genetik bilgi aktarımıdır. Gram negatif ve Gram pozitif bakteri türleri içinde de genetik bilgi aktarımı olmaktadır (Jawetz vd., 1995; Eliopoulos vd., 1992). Direnç aktarımının en yaygın olduğu mekanizmasıdır. Bu mekanizmaya normalde plazmitler aracılık eder. Plazmitlerin bakteriden bakteriye geçişi piluslar aracılığıyla gerçekleşir, piluslar bakterileri geçici olarak birbirine bağlar ve bu DNA parçalarının geçişine izin verir (Alanis, 2005).

Transformasyon, ortamdaki serbest DNA'nın bakteri hücresi içerisine alınarak direnç genlerinin aktarılması olayıdır (Jawetz vd., 1995; Eliopoulos, 1992). Serbest DNA, genellikle alıcı bakterinin yakınındaki ölen ve parçalanan diğer bakteriden hücreye alınır (Alanis, 2005).

1.1.3. Çapraz Direnç

Farklı antimikrobiyal ajanlar aynı hedefe etki ettiğinde, hücre ölümüne ortak bir yol başlattığında veya ilgili hedeflere ortak bir erişim yoluna sahip olduklarında, bakterilerin bu ajanlara karşı oluşturdıkları dirençtir (Chapman, 2003). Genellikle benzer yapıda özellik gösteren ilaçlar arasında gözlemlenen bir durumdur (Jawetz vd., 1995).

1.2. Antibiyotiklere Karşı Oluşan Direnç Mekanizmaları

Bakterilerin çeşitli yapılarında bir çok farklı direnç mekanizmaları gelişmiştir. Bir bakteriye ait antibiyotik direnç mekanizması tek bir yapıda oluşabileceği gibi birden fazla mekanizma ile de meydana gelmektedir (Davies vd., 2010).

1.2.1. İlacın Bağlandığı Reseptör ya da Bağlanma Bölgesinde Oluşan Değişiklikler

Herhangi bir antibiyotiğin, bakteriler üzerinde etkili olabilmesi için bakterilerdeki belirli bazı moleküller ile birleşip onların çalışma mekanizmalarını engellemesi gerekmektedir. Buradan da anlaşılabileceği gibi bakterilerde antibiyotiğe karşı afinite gösteren ve antibiyotiklerin hedefi olan moleküller bulunmaktadır. Bakterilerin bu yapılarında oluşan değişiklikler sonucunda ise antibiyotiğe karşı afinite azalır ve bu şekilde bakteri, antibiyotik varlığında da üremesine devam edebilir (Houang vd., 2003). Genellikle hedef bölge değişiklikleri, bakteri geninin kromozom üzerindeki mutasyonundan ve antimikrobiyal ilaç varlığındaki seçimden kaynaklanır (Lambert, 2005).

İlaçların bağlandığı hedef bölgeler farklıdır ve bunlar çeşitli enzimler ya da ribozomal alt birimler olabilir. Bu bağlanma hedeflerinde meydana gelen tek bir mutasyon sonucunda dahi ilacın hedefe bağlanma özelliği kaybolabilir. Örneğin, 30S ribozomal alt birimin S12 proteinindeki mutasyonlar streptomisin direncine sebep olur (Mayer vd., 1995). Yabancı bir DNA'nın ya da bir mutasyon dizisinin kromozoma eklenmesi neticesinde hedef değişimi olabilmektedir. Örneğin penisilin bağlayan protein (PBP)'lerdeki mutasyonlar ile *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus pneumoniae*, *Neisseria meningitidis* ve *Enterococcus faecium* suşlarında penisilin direnci görülebilir (Yüce, 2001).

Bakterilerdeki hücre duvarına ait peptidoglikan yapı antibiyotiklerin etkileşime girmesi için uygun hedefler içermektedir. Genellikle de bu hedefler bakterilerin hayati fonksiyonlarını yürütebilmeleri için önemlidir. Bu hedeflerden en önemlilerinden birisi de bakterilerin hücre duvarı yapısında var olan penisilin bağlayıcı protein (PBP)'lerdir. PBP'ler yapısal olarak beta-laktamazlara benzeyen D,D-karboksipeptidazlar ve D,D-transpeptidazlardır (Ghuysen, 1994). Aktif bölgelerinde serin amino asidi bulunduğundan dolayı serin proteazlar arasında yer alırlar. Farklı

penisilin bağlayan proteinlerin (PBP) farklı beta-laktam antibiyotiklere bağlanma afiniteleri birbirinden farklıdır (Çiftçi ve Aksoy, 2015).

Bakterilerin beta-laktam afinitesi zayıf yeni bir PBP geni üretmesi, yakın türlerden gen transferi ile mozaik PBP genlerinin oluşması, düşük afiniteli PBP'nin gereğinden fazla üretilmesi, PBP'lerin aktif bölgelerindeki korunmuş yapılarda meydana gelen aminoasit değişimleri gibi beta-laktam afinitesinin zayıflamasına sebep olan direnç mekanizmaları mevcuttur (Çiftçi ve Aksoy, 2015).

1.2.2. Antibiyotik İnaktivasyonu Sonucu Gelişen Direnç

Bakteriler tarafından antibiyotik yapısını bozan ya da yapısında değişiklik oluşturan enzimlerin üretilmesine bağlı olarak gelişen dirençtir. Antibiyotiklerin inaktif hale getirilmesinde, hidrolitik enzimler, grup transferi ve redoks mekanizmaları rol almaktadır. Kloramfenikol ve beta-laktam antibiyotikler, enzimatik yoldan antibiyotik inaktivasyonu veya yıkımı ile direnç kazanılan çok önemli antibiyotik grubudur (Çiftçi ve Aksoy, 2015).

Ester ve amidler gibi hidrolize duyarlı kimyasal bağlar içeren bazı antibiyotiklerin bu bağlarını hedef alan birçok enzim vardır. Bu enzimler, bakteriler tarafından üretilir ve bakteri hücrelerine bağlanmaya çalışan antibiyotikleri inaktive ederler. Bu hidrolitik amidazlar “beta laktamaz” enzimleridir. Beta laktamazlar, sefalosporin ve penisilin türü antibiyotiklerin beta laktam halkalarını bozarak bakteriye bağlanma mekanizmalarını inaktive ederler. Her iki gruptaki yani sefalosporin ve penisilin antibiyotiklerini inaktive eden enzimler ise “genişlemiş spektrumlu beta laktamaz” olarak adlandırılırlar (Bonnet, 2004).

1.2.3. İlacın Enzimatik İnaktivasyonu

Antimikrobiyal ilacı modifiye eden ya da parçalayan enzimlerin meydana gelmesi neticesinde oluşan dirençtir. Bu tür antimikrobiyal ilaçları parçalayan enzimleri Gram negatif ve Gram pozitif bakteriler sentezlemektedir. Antimikrobiyal beta-laktam ilaçlarını inhibe eden beta laktamaz enzimi, eritromisini inaktive eden esteraz enzimi ve kloramfenikolu inaktive eden fosforilaz enzimi direnç gelişiminde önemli yere sahip enzimlerdir (Işık, 2008; Oğuz, 2013).

1.2.4. Aktif Pompalama ile İlacın Dışarı Atılması

Antibiyotiklerin hücre içindeki varlığını en aza indirmek için aktif pompa

sistemleri adını verdiğimiz membran proteinleri, antibiyotiklerin hücre dışına atılmasını sağlamaktadır. Hücre membran geçirgenliğinin azalması ile antibiyotiğin hücreye giriş oranı da azalmaktadır (Nikaido, 1994).

Bakteri membranları hidrofilik moleküllerden korunabilecek bariyer yapıya sahip iken, hem lipofilik ve hem de hidrofilik özellikteki amfifilik bileşikler ise bu membrandan rahatlıkla geçebilmektedir. Bu geçişi engelleyebilmek için bakteriler, çeşitli mekanizmalar geliştirmiştir. Aktif pompa sistemleri de geliştirilen bu mekanizmalar arasındaki en önemlisidir. Aktif pompa sistemleri yoluyla oluşan direnç, antibiyotiğin yapısını bozmaksızın hücre içi yoğunluğunun azaltılmasıdır. Antibiyotiklerin hücre dışına atılmalarına sebep olan aktif pompa sistemlerinin varlığı yıllar önce ilk olarak tetrasiklinler için saptanmıştır. Günümüzde ise aktif pompa sisteminin beta-laktamlara ve birçok antibiyotik grubuna karşı oluşturulan direnç mekanizmalarında önemli yere sahip olduğu belirlenmiştir. Ayrıca Gram negatif bakterilerdeki doğal dirence de aktif pompa sisteminin sebep olduğu saptanmıştır (Van vd., 2000).

1.2.5. Metabolik Yoldaki Değişimler

Alternatif metabolik yolların kullanılması olarak da adlandırılabilir. Bakterilerde oluşturulan hedef değişiminden farklı olarak, bakterilerin ilaca duyarlı hedefe gereksinimini ortadan kaldıracak başka metabolik yollar geliştirirler (Işık, 2008).

1.3. Antibiyotiklerin Tarihsel Gelişimi

Yaklaşık yüz yıldır mikroplar ile mücadele etmedeki en önemli silahımız olan antibiyotikler, ilk olarak 1877 yılında toprak bakterilerini hayvanlara enjekte eden Pasteur'un çalışması sayesinde şarbon hastalığının etkisiz hale getirilmesiyle bakterilere karşı savaş başlamış oldu. Antibiyotiklerin ilginç tarafı, mikropları öldürdükleri halde birçoğunun mikroorganizmalar tarafından üretilmesidir (Kuyucu, 2007).

Küçük dozlarda dahi bakteriyal infeksiyonların tedavisi için kullanılan antibiyotikler, farklı özellikteki mikroorganizmalardan elde edilir. Antibiyotikler arasında öldürücü (bakterisidal) etkiye sahip gruplar olduğu gibi, bakteri üremesini engelleyici (bakteriyostatik) etki gösteren gruplar da mevcuttur (URL-1).

1927 yılında Alexander Fleming sıradışı bir gözlem yoluyla penisilini keşfetti. Üzerlerinde bakteri üretilen petri kaplarının birinde mavi bir küf gözlemleyen Fleming, küfün etrafında mikroorganizmaların üremediğini farketti. Küfün içerisindeki özel molekül salgılayarak bakterileri öldüren mantar yapılı bu mikroorganizmalar *Penicillium notatum* adını alırken, küfün içindeki mikroorganizmaların ürettiği moleküle ise penisilin adı verilmiştir. 1940 yılında penisilin yapay olarak üretilmeye başlanmıştır (Davies, 2010).

1.4. Antibiyotiklerin Sınıflandırılması

Antibiyotikler en genel şekilde etki güçlerine, etki mekanizmalarına ve kimyasal yapılarına göre sınıflandırılır (Topal vd., 2015). Tablo 1’de antibiyotiklerin hedefleri ve etkiledikleri hücresel mekanizmalar verilmektedir (Kohanski vd., 2010).

Tablo 1. Antibiyotikler ve etki mekanizmaları

Antibiyotik tipi	Antibiyotik	Öncül hedef	Etkilenen mekanizmalar
Florokinolonlar (DNA sentezi İnhibitörü)	Nalidiksik asit, siprofloksasin, levofloksasin ve gemifloksasin	Topoizomeraz II Topoizomeraz IV	DNA replikasyonu, SOS cevabı, Hücre bölünmesi, ATP üretimi, Fe-S küme sentezi, ROS oluşumu
Trimetoprim sulfametoksazol (DNA sentezi İnhibitörü)	Trimetoprim sulfametoksazol	Tetrahidrofolik asit sentezi inhibitörleri	Nükleotid biyosentezi ve DNA replikasyonu
Rifamisinler (RNA sentezi inhibitörü)	Rifamisin, rifampin ve rifapentin	DNA bağımlı RNA polimeraz	RNA transkripsiyonu, DNA replikasyonu ve SOS cevabı
β-laktamlar (Hücre duvarı sentezi inhibitörü)	Penisilinler, sefalosporinler, monobaktamlar ve karbapenemler	Penisilin bağlayan proteinler	Hücre duvarı sentezi, hücre bölünmesi, otolizin aktivitesi, SOS cevabı, Fe-S küme sentezi, TCA döngüsü, ROS oluşumu
Glikopeptidler ve Glikolipopeptidler (Hücre duvarı sentezi inhibitörü)	Vankomisin ve teikoplanin	Peptidoglikan yapıları	Hücre duvarı sentezi, transglikozillenme, transpeptidasyon ve otolizin aktivasyonu
Lipopeptidler (Hücre duvarı sentezi inhibitörü)	Daptomisin ve polimiksin B	Hücre zarı	Hücre duvarı sentezi ve iki bileşenli zar sistemi
Aminoglikozitler (Protein sentezi inhibitörü)	Gentamisin, tobramisin, streptomisin ve kanamisin	30S ribozomal alt birim	Protein translasyonu (tRNA’ nın yanlış eşleşmesi) SOS cevabı, Fe-S küme sentezi, TCA döngüsü, ROS oluşumu
Tetrasiklinler (Protein sentezi inhibitörü)	Tetrasiklin ve Doksisiklin	30S ribozomal alt birim	Protein translasyonu (aminoasil tRNA’ nın ribozoma bağlanmasının engellenmesi)
Makrolidler (Protein sentezi inhibitörü)	Eritromisin ve Azitromisin	50S ribozomal alt birim	Protein translasyonu (uzama ve translokasyon basamaklarının engellenmesi)

Tablo 1 (Devam). Antibiyotikler ve etki mekanizmaları

Streptograminler (Protein sentezi inhibitörü)	Pristinamisin, dalfopristin ve kuinupristin	50S ribozomal alt birim	Protein translasyonu (başlama, uzama ve translokasyon basamaklarının engellenmesi)
Fenikoller (Protein sentezi inhibitörü)	Kloramfenikol	50S ribozomal alt birim	Protein translasyonu

1.4.1. Antibiyotiklerin Etki Güçlerine Göre Sınıflandırılması

Antibiyotikler, bakteriyostatikler ve bakterisidler olarak iki farklı etki mekanizmasına sahiptir. Bakteriyostatikler, mikroorganizmaların üremesini veya gelişmesini önlemede etkili rol oynar. Böylece mikroorganizmalar, vücudun savunma mekanizmaları tarafından rahatlıkla inhibe edilirler. Bakteriyostatik özellikteki antibiyotikler, sülfonamidler, makrolidler, tetrasiklinler, amfenikoller gibi çeşitli gruplara ayrılırlar. Bakterisidler, direkt bakteri hücresinin ölmesine sebep olan antibiyotik grubudur. Bu antibiyotiklere ise beta laktamlar en iyi örnektir. Beta laktam antibiyotik grubunda, penisilinler, monobaktamlar, karbapenemler, sefalosparinler ve beta laktamaz inhibitörleri yer alır. Ayrıca polipeptidler, vankomisin, rifamisin, teikoplanin ve florokinolonlar da bakterisid etkiye sahip antibiyotiklerdir (Aktuğlu, 1997).

1.4.2. Antibiyotiklerin Etki Mekanizmalarına Göre Sınıflandırılması

Etki mekanizmalarına göre antibiyotikler birkaç gruba ayrılır. Bu gruplar; litik enzimleri aktive edip bakteri hücre duvarını bozan antibiyotikler, ribozomlarda protein sentezini engelleyen antibiyotikler, sitoplazma membran permeabilitesini bozan antibiyotikler, bakteriyel antimetabolitler ve bakterilerin genetik materyalleri üzerine etki yapan antibiyotiklerdir.

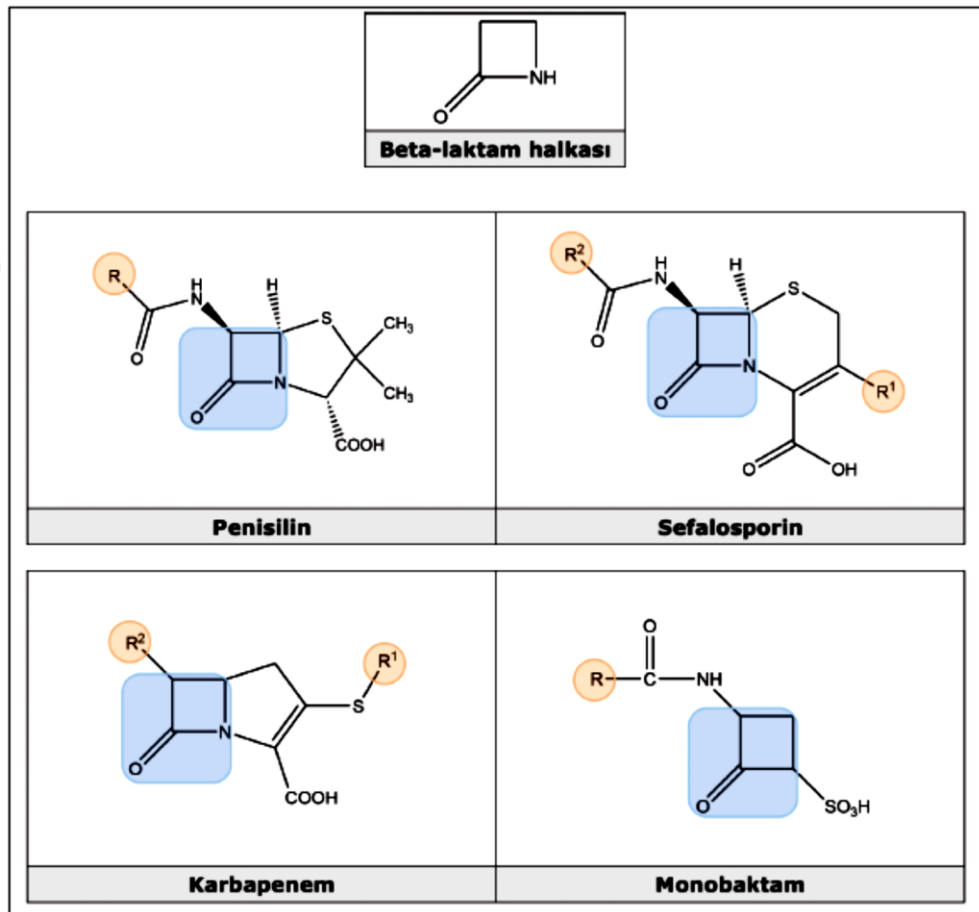
Bakterilerde litik enzimleri aktive edip hücre duvarı sentezini bozan antibiyotikler, beta laktam antibiyotikleridir. Bunlar; sefalosporinler, monobaktamlar, karbapenemler, penisilinlerdir. Bunların haricinde sikloserin, teikoplanin, basitrasin ve vankomisin antibiyotikleri de hücre duvarı sentezini engelleyen antibiyotik gruplarıdır (Aktuğlu, 1997).

1.4.3. Antibiyotiklerin Kimyasal Yapılarına Göre Sınıflandırılması

Kimyasal yapılarına göre antibiyotikler; beta laktamlar, polipeptidler, kinolonlar, makrolidler, fenikoller, sülfonamidler, tetrasiklinler, rifamisinler, nitrofuranlar, aminoglikozidler ve imidazoller gibi antibiyotik çeşitleridir (Aktuğlu, 1997).

1.5. Beta (β) Laktam Antibiyotikler

Antibiyotik gruplarında akla ilk gelen en önemli antibiyotik beta laktamlardır. Moleküler yapısında beta laktam halkası bulunan antibiyotiklerdir (Şekil 1) (Özdemir ve Atahan, 2013). Beta laktam halkası, üç karbon atomu ve bir azot atomundan oluşmaktadır. Azot atomu karbonil grubundan beta karbonuna bağlı olduğu için beta laktamlar olarak tanımlanırlar (Nicola vd., 2010).



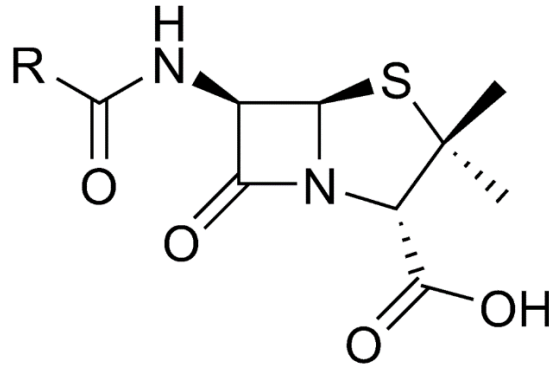
Şekil 1. Beta-laktam antibiyotiklerin kimyasal yapıları (Göncüoğlu vd., 2021)

Hücre duvarındaki ilgili proteinlere bağlanarak hücre duvarı sentezini inhibe ederler. Bu sebeple de hücre duvarı olmayan bakteriler, beta laktamlara karşı

dirençlidir (Özdemir ve Atahan, 2013). Beta laktamlar, etki spektrumlarına ve antimikrobiyal aktivitelerine göre monobaktamlar, sefalosporinler, penisilinler, karbapenemler olarak sınıflandırılır.

1.5.1. Penisilinler

β -laktam antibiyotiğinin ilk prototipi 1928’de Alexander Fleming tarafından keşfedilen Penisilin G dir. *Penicillium notatum* küfünün salgıladığı enzimler, stafilokok bakterilerinin inhibisyonuna neden oldu. Daha sonra saflaştırıldı ve 1940’larda klinik olarak kullanıldı. Penisilinler, konakta düşük toksik etkide bulunan bunun yanı sıra en geniş etkiye sahip antibiyotiklerdir (Tablo 2). Bir β -laktam halkası, bir yan zincir ve bir tiazolidin halkasından oluşmaktadırlar (Şekil 2). Beta laktam ve tiazolidin halkasının meydana getirdiği yapı 6-aminopenisilanik asit (6-APA) olarak adlandırılır (Wanger vd., 2017).



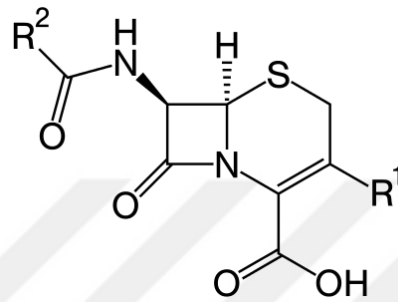
Şekil 2. Penisilin kimyasal yapısı (URL-2)

Tablo 2. Penisilin grubu antibiyotikler (Yoneyama ve Katsumata, 2006; Winn vd., 2006)

Penisilinler				
Dar Spektrumlu	Geniş Spektrumlu			
Benzilpenisilin, Fenoksimetilpenisilin, Kloksasilin (Dikloksasilin, Flukloksasilin), Oksasilin, Metisilin, Nafsilin	Aminopenisilinler Amoksisilin, Ampisilin, Episilin	Karboksipenisilinler Karbenisilin, Tikarsilin, Temosilin	Ureidopenisilinler Azlosilin, Piperasilin, Mezlosilin	Diğer Mesilinam, Sulbenisilin

1.5.2. Sefalosporinler

Sefalosporinler 6 üyeli dihidrotiazin halkasına sahiptirler (Şekil 3). Sahip oldukları bu yapıyla birlikte penisilinlerin 5 üyeli tiazolidin halkasından ayrılırlar. Penisilin bağlayan proteinlere (PBP) bağlanarak hücre duvarının sentezini engellerler ve bakterisidal etki gösterirler. Antimikrobiyal aktiviteleri ve yapılarına göre 1., 2., 3., 4., kuşak olarak dört grupta incelenirler (Tablo 3) (Leblebicioğlu vd., 2003).



Şekil 3. Sefalosporinin kimyasal yapısı (URL-2)

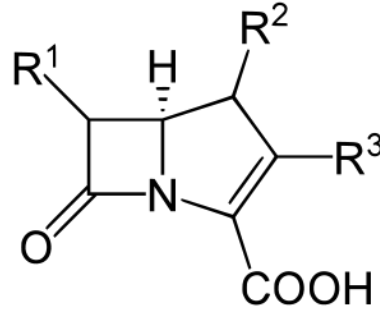
Tablo 3. Sefalosporin grubu antibiyotikler (Morse vd., 2004)

Sefalosporinler	
1.Kuşak	Sefazolin, Sefadroksin, Sefaleksim, Sefaloridin, Sefalotin, Sefapirin, Sefatrizin, Sefazedon, Sefazaflur, Sefradin, Sefroksadin, Seftezol
2.Kuşak	Sefaklor, Sefamandol, Sefminoks, Sefonisid, Seforanid, Sefotiyam, Sefprozil, Sefbuperazon, Sefuroksim, Sefuzonam
3.Kuşak	Sefiksim, Seftriakson, Sefaperazon, Sefotaksim, Sefpodoksim, Sefdinir, Sefsulodin, Sefsapen, Sefdaloksim, Sefditoren, Sefetamet, Sefmenoksim, Sefodizim, Sefpimizol, Sefpiramis, Sefteram, Seftibuten, Seftiolen, Seftzoksim
4.Kuşak	Sefepim, Sefpirom, Sefkuinom, Sefozopran
5.Kuşak	Seftobiprol, Seftarolin fosamil

1.5.3. Karbapenemler

Mevcut olan antibiyotikler arasında en geniş etkiye sahip β -laktam grubu ajanlardır (Wanger vd., 2017). Karbapenemler, penisiline ve sefalosporine benzer yapıda olmasına rağmen yapısındaki sülfür atomu bir karbon atomu ile yer değiştirdiğinden ve de hidroksietil grubunun bir trans konfigürasyonu varlığı sebebiyle

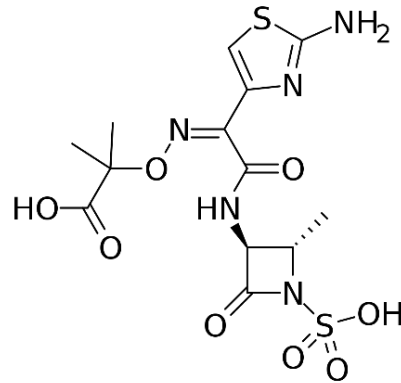
farklılık gösterirler (Şekil 4). Karbapenemlerin bu trans konfigürasyonu sayesinde etki güçleri fazladır (Moellering vd., 1989).



Şekil 4. Karbapenemlerin kimyasal yapısı (URL-2)

1.5.4. Monobaktamlar

İlk monosiklik β -laktamın bulunmasıyla birlikte, β -laktamlardaki antibakteriyel aktivite ve β -laktamazlara karşı olan dayanıklılıkta, penisilin ve sefalosporinlerdeki çift halkalı çekirdeğin şart olmadığı anlaşılmıştır (Baykal vd., 1989). Etki mekanizması, hücre duvar sentezini bozarak inhibe etmektir. Bu etkisini ise PBP3'e bağlanarak oluşturur. Aztreonam bu grubun tek kullanılan üyesidir (Mycek vd., 2001).



Şekil 5. Monobaktamların kimyasal yapısı (URL-2)

1.6. β -Laktamların Etki Mekanizmaları

β -laktam antibiyotikler, bakteri hücre duvarında duvar sentezinin üçüncü aşamasında yer alan enzimleri inaktive ederek duyarlı bakterilerin büyümesini

engeller. Gram pozitif bakterilerde, karmaşık bileşimli bir heteropolimer olarak görünen hücre duvarında sitoplazmik zarın bağlı olduğu duvara dayanıklılık sağlayan yan yana oluşmuş peptidoglikan tabakası bulunur. Bu peptidoglikan tabakasının üzerindeki dış zara beta laktam antibiyotiklerinin hedefi olan penisilin bağlayan proteinler (PBP) eklidir (Schneider vd., 2009; Murray vd., 2005). Buna kıyasla, Gram negatif hücre duvarı Gram pozitif organizmalarinkinden daha karmaşık bir yapıya sahiptir. Kompleks yapıya sahip olan peptidoglikan tabakasının glikan kısmı, N-asetilmuramik asit (NAM) ve N-asetil glukozamin (NAG) moleküllerinin beta-1,4 glikozid bağları ile birbirine bağlanması ile oluşan zincir yapılardan oluşur. NAM molekülüne bağlı peptid zincirleri vardır ve bitişik glikan zincirlerinin NAM moleküllerindeki bu kısa peptidler arasında çapraz bağlar bulunur (Ersoy, 2019).

Peptidoglikan, hücre şeklinin oluşmasından ve hücre duvarının sağlamlığından sorumludur. Ayrıca hücrenin osmotik stabilitesini korumak için N-asetilmuramik asit (NAM), N-asetilglukozamin (NAG) ve oligopeptitten meydana gelir (Savage, 2001). Beta laktam antibiyotikler, transpeptidazlara (penisilin bağlayan proteinler) geri dönüşümsüz bağlanır ve onların aktivitelerini bozar. Penisillin bağlayan proteinlerin görevi peptid köprüleri oluşturmak için komşu oligopeptidleri çapraz bağlayarak sağlam hücre duvarının oluşmasını sağlamaktır (Nicola vd., 2010).

1.7. Beta (β) Laktamaz İnhibitörleri

Beta laktamlar ile bir arada kullanılan beta laktamaz inhibitörlerinin (klavulanik asit, sulbaktam ve tazobaktam) amacı, beta laktamaz üreten bakterilerin etkinliğini sınırlamaktır. Bu beta laktamaz inhibitörleri benzer etki mekanizmasına sahiptirler ve görevleri beta laktamızı bağlayarak enzimatik fonksiyonlarını devre dışı bırakmaktır (Sulton vd., 2005).

Klavulanik asit: *Streptomyces clavuligerus* kültüründen izole edilmiştir ve antibakteriyel etkisi zayıf bir bileşendir. Klavulanik asit, beta laktamaz ile birleşir ve dönüşümsüz olarak açıl enzim kompleksi oluşturarak beta laktamaz enziminin beta laktam antibiyotiğini parçalamasını engeller. Stafilokoklar ve Gram negatif bakterilerin ürettikleri beta laktamazları inhibe ederler ve beta laktam antibiyotikle birlikte kullanıldığında sinerjistik etki gösterirler.

Sulbaktam: Penisilin ve sefalosporinlerle sinerjistik etkiye sahiptir. Semisentetik bir 6 dezaminopenisilin sulfon'dur ve antibakteriyel etkisi zayıftır. Beta laktamazları inhibe etme özelliğine sahiptir.

Tazobaktam: Yapısal olarak sulbaktama benzerdir. Diğer beta laktamaz inhibitörleri gibi tek başlarına antibakteriyel etkisi zayıf olduğu için farklı beta laktam çeşitleri ile kombine olarak kullanılır (Yao vd., 2009).

1.8. Beta (β) Laktamazlar

β -laktamazlar, antibiyotiğin hedefi olan penisilin bağlayan proteinlere bağlanmadan önce antibiyotiğe ait olan beta laktam halkasını hidroliz ederek antibiyotik etkinliğini inaktive ederler. Amino asit dizi benzerliklerinden dolayı beta laktamazlar, penisilin bağlayan proteinler ile yapısal benzerlik gösterirler. Antibiyotiğin beta laktamazlar tarafından inaktif hale getirilmesi işlemi sırasında asilasyon ve deasilasyon aşamaları gerçekleşir (Babic vd., 2006; Massova vd., 1998).

1.8.1. Beta Laktamazların Sınıflandırılması

Beta laktamazlar, gen dizilimlerine, keşfedilme yerlerine, bakteri cinsine, genlerin kromozomlar üzerindeki yerlerine, biyokimyasal özelliklerine, kullandıkları substratlara göre isimlendirilip sınıflandırılabilirler. Beta laktamazların sınıflandırılmasında Ambler veya Bush-Jacoby-Medeiros sınıflandırması önemli yere sahiptir (Tablo 4) (Topçu vd., 2008; Rice vd., 2009).

Ambler moleküler sınıflandırmasında, beta laktamazların amino asit sekansındaki benzerlikleri dikkate alınmıştır. Ambler sınıflandırma sisteminde beta laktamazlar 4 gruba ayrılır. Bu dört grup A, B, C ve D olarak kodlanır. A, C ve D enzimlerinin aktif kısımlarında serin bulunur ve bu grup serin beta laktamazlar olarak isimlendirilir. Metallo beta laktamazlar ise B sınıfına dahildirler ve aktif kısımlarında ise çinko bulunur. İlave olarak B sınıfı beta laktamazlar arasında enzim hidrolitik mekanizmaları yönünden de farklılıklar vardır. Penisilin bağlayan proteinler ile benzerlik gösteren serin beta laktamazlar ser-Xaa-Xaa-Lys motifi taşır. Hem penisilin bağlayan proteinler hem de serin beta laktamazlar, beta laktam antibiyotiklerini hidrolize eder. Metal merkezi oluşturan His-Xaa-His-Xaa-Asp motifine sahip olan metallo beta laktamazlar ise hidrolizde metal ile aktive olmuş su nükleofilini kullanır (Tooke vd., 2019).

Bush-Jacoby-Medeiros ise 1995 yılında beta laktamazların hem penisilin, karbenisilin, sefaloridin, aksalisin, genişlemiş spektrumlu sefalosporinler ve imipeneme karşı hidrolitik spektrumları ve klavulanik aside karşı olan duyarlılıklarını dikkate alarak hem de biyokimyasal özellikleri ve de substrat profiline göre 4 grupta sınıflandırmıştır (Murray vd., 2009; Bush, 2010).

Beta laktamazlar, AmpC tipi beta laktamazlar, genişlemiş spektrumlu beta laktamazlar ve metallo beta laktamazlar olarak farklı yapılarıdadır.

Tablo 4. Beta-laktamazların Bush-Jacoby ve Medeiros sınıflandırılması (Bush ve Jacoby, 2010)

Bush-Jacoby grup	Moleküler sınıf (alt sınıf)	Tercih edilen substratlar	CA veya TZB İnhibisyon	EDTA İnhibisyon	Karakteristik tanımları	Temsil eden enzimler
1	C	Sefalosporinler Sefamisisnler Sefalosporinler Aztreonam	H	H	Sefalosporinleri benzilpenisilinden daha iyi hidrolize eder, Sefamisinleri hidrolize eder.	AmpC, P99, ACT-1, CMY-2, FOX-1, MIR-1
1e	C	Sefalosporinler Sefamisisnler Sefalosporinler Aztreonam G-S	H	H	Seftadizim ve sıklıkla diğer oksimino beta laktamları artmış seviyede hidrolize eder.	GCI, CMY-37
2a	A	Penisilinler	E	H	Benzilpenisilinleri sefalosporinlerden daha iyi hidrolize eder	PC1
2b	A	Penisilinler ilk sefalosporinler	E	H	Benzilpenisilin ve sefalosporinleri benzer seviyede hidrolize eder.	TEM-1, TEM-2, SHV1
2be	A	sefalosporinler monobaktamlar G-S	E	H	Oksiimino beta laktamları (sefotaksim, seftazidim, seftriakson, ve aztreonam) artmış seviyede hidrolize eder.	TEM-3, SHV-2, CTXM-15, PER-1, VEB-1
2br	A	Penisilinler İlk Sefalosporinler	H	H	Klavulanik asit, sulbaktam ve tazobaktama direnç görülür.	TEM-30, SHV-10
2ber	A	Sefalosporinler, Monobaktamlar Penisilinler G-S	H	H	Klavunaik asit, sulbaktam ve tazobaktam dirençliliği ile kombine oksimino beta laktamaları artmış seviyede hidrolize eder.	TEM-50
2c	A	Karbenisilin	E	H	Karbenisilinin artmış seviyede hidrolizi görülür.	PSE-1, CARB-3
2ce	A	Karbenisilin, cefepim	E	H	Karbenisilin, sefepim ve sefpiromu artmış seviyede hidrolize eder.	RTG-4

Tablo 4 (Devam). Beta-laktamazların Bush-Jacoby ve Medeiros sınıflandırılması

2d	D	Kloksasilin Oksasilin	D	H	Kloksasilin veya oksasilini artmış seviyede hidrolize eder.	OXA-1, OXA-10
2de	D	sefalosporinler	D	H	Kloksasilin veya oksasilini ve oksimino beta laktamları hidrolize eder.	OXA-11, OXA-15
2df	D	Karbapenemler Cloxasilin	D	H	Kloksasilin veya oksasilin ve karbapenemleri hidrolize eder. Sefalosporinleri hidrolize eder.	OXA-23, OXA-48
2e	A	Sefalosporinler G-S	E	H	Klavulanik asit tarafından inhibe olur fakat aztreonamdan inhibe olmaz	CepA
2f	A	Karbapenemler Penisilinler Sefamisinler Sefalosporinler	D	H	Karbapenemler, oksimino beta laktamlar ve sefamisinleri artmış seviyede hidrolize eder.	KPC-2, IMI-1, SME-1
3a	B	Karbapenemler Penisilinler Sefamisinler Sefalosporinler	H	E	Karbapenemleri içeren fakat monobaktamları içermeyen şekilde geniş spektrum hidroliz oluşturur.	IMP-1, VIM-1, CcrA, IND-1
3b	B	Karbapenemler	H	E	Karbapenemlerin tercihli hidrolizi görülür.	CphA, Sfh-1

H: Hayır; D: Değişken; E: Evet; CA: Klavulanik asit; TZB: Tazobaktam; EDTA: Etilen diamin tetra asetik asit

1.8.2. Beta Laktamaz Türleri

1.8.2.1. AmpC tipi Beta Laktamazlar

Ambler moleküler sınıflandırmasına göre moleküler sınıf C olarak tanımlanan AmpC tipi beta laktamazlar, Bush-Jacoby-Medeiros fonksiyonel gruplandırmasına göre ise grup 1 de yer alır. AmpC tipi beta laktamazların sentezlendiği bazı bakteri türleri ise; *Enterobacter* cinsi, *Serratia marcescens*, *Pseudomonas* cinsi, *Acinetobacter* cinsi, *E. coli* türleri gibi bazı Gram negatif bakteriler olup karakteristik olarak kromozom üzerinde kodlanırlar (Song vd., 2006). *E. coli*'nin ürettiği AmpC beta laktamazlar, penislini parçalayan ilk bakteriyel enzim olarak rapor edilmiştir (Abraham ve Chain, 1940).

İndüklenebilir veya indüklenemeyen nitelikte olabilen AmpC beta laktamazlar sefalosporinleri penisiline göre daha etkin parçalamaktadır. Ayrıca beta laktamaz inhibitörleri olan klavulanat, sulbaktam, tazobaktam ile inhibe olmazlar (Winn vd., 2006).

Beta laktamaz üreten *E. coli* ve *Klebsiella pneumonia* suşlarında dış membran porin Omp-K53 kaybı sebebiyle sefamisine de dirençli olabileceği rapor edilmiştir (Ananthan ve Subha, 2005). AmpC tipi beta laktamazlar moksalaktam (MOX), sefamisin (CMY) ve sefoksitin'e (FOX) oluşturulan dirence göre adlandırılmıştır (Philippon vd., 2002).

1.8.2.2. Genişlemiş Spektrumlu Beta Laktamazlar (GSBL)

Aktif bölgelerinde serin bulunan genişlemiş spektrumlu beta laktamazlar genel olarak aminoasit değişiklikleri ve substrat profilleri değişip genişlemiş olan Ambler grubu A beta laktamazları olup ayrıca Bush-Jacoby-Mederios sınıflandırmasına göre de genellikle 2be grubu altında toplanır (Rice ve Bonomo, 2009). Hastanede yatan hastalarda enfeksiyona sebep olan *K. pneumoniae* ve *E. coli* suşlarında sık saptanan GSBL'ler artık toplum kaynaklı enfeksiyonlardan da sıklıkla izole edilmektedir. Ayrıca *Enterobacter*, *Salmonella*, *Proteus*, *Citrobacter*, *Morganella*, *Serratia marcescens*, *Shigella dysenteriae* gibi suşlardan da salınabilirler (Dağlar vd., 2010). GSBL'ler monobaktamları ve oksimin sefalosporinleri (seftazidim, sefotaksim, sefpodoksim) hidroliz ederler fakat 7- α -metoksi-sefalosporinlere (sefamisinler; sefotetan, sefoksitin) etki etmezler (Kiratisin vd., 2008). Genişlemiş spektrumlu sefalosporinleri hidroliz ettikleri için, genişlemiş spektrumlu beta laktamaz adını almışlardır. Penisilinler, 1., 2., 3., kuşak sefalosporinler ve aztreonam antibiyotikleri genişlemiş spektrumlu beta laktamazlar tarafından hidroliz edilirler fakat beta laktamaz inhibitörü olan klavulanik asit, tazobaktam, sulbaktam gibi inhibitörler ise beta laktamızı inhibe ederler (Paterson ve Bonomo, 2005).

Günümüzde sayıları 200'ü aşkın olan GSBL'ler içinde en sık rastlanani Ambler sınıf A'da bulunan plazmit kökenli SHV, CTX-M, TEM grubu enzimler ve Ambler sınıfı D'de yer alan OXA grubu enzimlerdir. Bunlara ilave olarak TOHO-1, VEB-1, PER-2 gibi yeni tanımlanan enzimler de mevcuttur (Naas vd., 2008). Bu enzimlerin bakteriler arası genetik aktarımı mümkündür. Sefamisinler ve de karbapenemler üzerinde etkileri yoktur (Paterson ve Bonomo, 2005).

1.8.2.2.1. SHV

Klinik örneklerden izole edilen bakterilerde saptanan GSBL'ler içinde en önemli enzim gruplarından birisidir. SHV grubu enzimlerin köken aldığı SHV-1'ler genellikle *Klebsiella pneumoniae* suşunda bulunmaktadır. Bu enzim ilk olarak kromozomal kodlanarak sonrasında ise plazmidler yoluyla diğer *Enterobacteriaceae* ailesine yayılım göstermiştir (Shaikh vd., 2015). SHV grubu enzimler *Citrobacter diversus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *E. coli* ve *Acinetobacter spp.*'de de varlığı saptanmıştır. Ayrıca SHV-12 en yaygın SHV enzimlerindendir (Hamaçça, 2009). SHV-1'ler plazmit aracılı ampisilin direncinin %20'sinden sorumludur. Ampisilin, tikarsilin ve piperasiline direnç oluşturmakta olup oksiminio sefalosporinlere karşı ise aktivitesi yoktur (Livermore ve Woodford, 2006).

1.8.2.2.2. TEM

1989'da saptanan ve GSBL fenotipi gösteren ilk TEM türeği TEM-3'tür. TEM-3 genişlemiş spektrumlu sefalosporinlere karşı aktivite gösterir. Ayrıca TEM enzimi TEM-1 ve TEM-2'den köken almıştır (Bradford, 2001). TEM ise 1961 yılında kan kültüründen izole edilen *E. coli* suşunda saptanmıştır (Stürenburg ve Mack, 2003). TEM-1 ampisilin antibiyotiğini oksasilin, sefalotin ya da karbenisiline göre daha iyi hidroliz eder ve klavulanik asitle inhibe edilir. Beta laktamaz inhibitörlerinin ise TEM'lerin çoğunun etkisini azalttığı belirlenmiştir. TEM grubu beta laktamazlar *K. pneumoniae* ve *E. coli* suşlarında daha çok görülmekle birlikte *Enterobacter aerogenes*, *Proteus mirabilis*, *Proteus rettgeri*, *Morganella morganii* ve *Salmonella spp.* gibi suşlarda da sıklıkla saptanmaktadır (Hamaçça, 2009).

1.8.2.2.3. CTX-M

CTX-M enzimleri 1980'lerin sonlarında *E. coli* suşunda ortaya çıkmıştır. Penisilinleri ve sefalosporinleri hidrolize eder ve isimlerini sefotaksim hidrolize etme yeteneğinden almıştır. Bununla birlikte CTX-M enzimleri, seftazidimi verimli şekilde hidrolize edemez. Seftazidimi hidroliz eden CTX-M enzimlerinin varyantları ortaya çıkmıştır. CTX-M enzimlerinin spektrumunu genişleten mutasyonlar aktif bölgenin seftazidime uyum sağlaması için esnekliğini ve konformasyonunu da etkiler. Bu

mutasyonlardan dolayı CTX-M'ler seftazidimi yüksek oranda hidroliz edebilme yeteneği kazanmıştır (Palzkill, 2018).

TEM ve SHV enzimlerinden farklılık gösteren CTX-M enzimi, konjugatif plazmit veya transpozon aracılığıyla başka bakterilerden horizontal gen transferiyle oluşmuşlardır. SHV ve TEM enzimleri ise aminoasit değişiklikleriyle oluşurlar (Dağlar ve Öngüt, 2012). Günümüzde 5 farklı grup ve 40 çeşit CTX-M enzimi mevcuttur. Bunlar ise CTX-M-1, CTXM-2, CTX-M-8, CTX-M-9 ve CTX-M-25 olarak isimlendirilmekle birlikte bu gruplar aminoasit dizileri dikkate alınarak tanımlanmıştır (Deniz vd., 2016).

1.8.2.2.4. OXA

En önemli karbapenem direnç mekanizmalarından biri D sınıfı beta laktamazların (oksasilinaz; OXA) üretilmesidir. Bu enzim grubu, oksasilin ve üçüncü kuşak sefalosporinleri hidrolize edebilir ancak karbapenemlere karşı zayıf aktiviteye sahiptir (Lin ve Lan, 2014). Daha çok *P. aeruginosa* suşunda tespit edilen OXA grubu enzimler 1991 yılında Türkiye'de keşfedilmiştir (Bush vd., 1995). OXA enzimleri moleküler sınıf D ve fonksiyonel grup 2d'de yer almalarından dolayı TEM ve SHV enzimlerinden ayrılırlar. Ayrıca OXA tipi beta laktamazların çoğu genişlemiş spektrumlu sefalosporinleri büyük ölçüde hidroliz edemezler (Dağlar ve Öngüt, 2012). 2010 yıllarında OXA-23, OXA-40/24, OXA-48, OXA-51, OXA-58 ve OXA143 gibi OXA tipi enzimin birkaç alt grubu rapor edilmiştir (Evans vd., 2014). Bu enzimi kodlayan genler, kromozomlar veya plazmitler üzerinde tespit edilebilir. OXA-23'ün varlığı birçok ülkede klinik izolatlarda yaygın olarak rapor edilmiştir. OXA-23 benzeri beta laktamaz enzimleri Birleşik Krallık, Doğu Asya ve Güney Amerika'da toplanan salgın izolatlarında bulunurken, OXA-40/24 benzeri beta laktamazlar Amerika Birleşik Devletleri ve Avrupa'da bulunmuştur (Al-Bayssari vd., 2015; Kuo vd., 2018).

OXA-48 benzeri enzim varyantları plazmit kodludur ve dolayısıyla toplumda hızlı yayılma gösterirler. İlk olarak 2001 yılında Türkiye'de karbapenem dirençli *Klebsiella pneumoniae*'den izole edildiler (Evans ve Amyes, 2014; Poirel vd., 2012). Daha sonra 11 enzim varyantı (OXA-48, OXA-48b, OXA-54, OXA-162, OXA-163, OXA-181, OXA-199, OXA-204, OXA-232, OXA-242 ve OXA-247) daha onaylandı ve dünya çapında rapor edildi (Bakthavatchalam vd., 2016). OXA-48 benzeri enzimler üreten Gram negatif bakteriler *E. coli*, *K. pneumoniae*, *Enterobacter cloacae*, *Serratia*

marcescens, *Shewanella xiamenensis*, *Citrobacter freundii*, *Providencia rettgeri*, *Klebsiella oxytoca*, *Enterobacter sakazakii* ve *Acinetobacter baumannii*'dir (Evans ve Amyes, 2014). D sınıfı oksasilinazlardan biri olan OXA-51, *A. baumannii* tarafından üretilen doğal beta laktamazdır. Çeşitli coğrafik bölgelerde 18 farklı varyantı saptanmış olan OXA-51'in varyantları 1-15 amino asit modifikasyonu ile birbirinden ayrılır. Zayıf karbapenemaz aktivite gösteren bu enzimler sefaloridin hariç sefalosporinlerin hiçbirini hidrolize edemez (Turton vd., 2006).

1.8.2.2.5. PER

Genişlemiş spektrumlu beta laktamaz grubundan olan PER enzimleri, SHV ve TEM enzimleriyle % 25-27 oranında benzerlik göstermektedir. PER-1 enzimi penisilin ve sefalosporinleri hidroliz edebilir fakat bunun yanında PER-1 enzimi klavulanik asit tarafından inhibe edilir. *Salmonella enterica* serovar *typhmurium*, *Pseudomonas aeruginosa* ve *Acinetobacter* izolatlarında belirlenmiştir. PER-1 ve PER-2 ise %86 oranında benzerdir ve PER-2, *K. pneumoniae*, *E. coli*, *S. enterica* serovar *typhimurium* ve *Proteus mirabilis* suşlarında belirlenmiştir (Shaikh vd., 2015).

1.8.2.2.6. GES

1998 yılında Fransa'da bir hastadan izole edilen *K. pneumoniae* suşunda saptanmıştır. GES enzimi Ambler moleküler A sınıfındadır. Çeşitli genişlemiş spektrumlu beta laktamazları içeren birçok beta laktamı hidroliz ederler. Beta laktamaz inhibitörleri tarafından inhibe edilirler (Weldhagen, 2006). GES-1 enzimler dar ve geniş spektrumlu sefalosporinleri, penisilinleri ve seftazidimi hidrolize edebilirler (Bektaş vd., 2018).

1.8.2.3. Metallo Beta Laktamazlar (MBL)

Metallo beta laktamazlar, aktif bölgelerinde tipik olarak çinko olmak üzere bir veya iki değerlikli katyonun kolaylaştırdığı hidrolitik reaksiyon yoluyla beta laktam halkaları ile kovalent olmayan reaktif bir kompleksin oluşumunu katalizleyen bakteriyel enzimlerdir (Alby vd., 2018).

Metallo beta laktamazlar, farklı kimyasal yapıları sebebiyle tazobaktam, klavulanat, sulbaktam gibi beta laktam inhibitörleri ile inhibe edilmezler. En önemli özellikleri, monobaktamlar haricinde tüm beta laktam antibiyotiklerini hidrolize etmek

olan metallo beta laktamazların inaktivasyonu, bir metal şelatörü olan EDTA ile mümkündür (Nordmann ve Poirel, 2002).

En sık karşılaşılan metallo beta laktamazlar, Verona integron kodlu metallo beta laktamaz (VIM), İmipenemaz (IMP) ve Yeni Delhi metallo beta laktamaz (NDM)'dir (Bonomo vd., 2018). Sonrasında çok sayıda SIM, NDM, KHM, GIM, SPM, AIM, DIM, SMB, TMB, FIM, MBL'ler saptanmıştır ve *P. aeruginosa*'da SPM, GIM, NDM, VIM, IMP, FIM varyantları bildirilmiştir (Wachino vd., 2011).

Kromozomal metallo beta laktamazlardan farklı olarak transfer edilebilen ya da kazanılmış MBL'ların yayılımının çok daha hızlı olduğu tespit edilmiştir. Bahsi geçen bu enzimleri kodlayan genler, çeşitli integron gen kasetleri bulundurmaktadır. Bakteriler arasındaki transferin kolaylaşmasını sağlayan neden, bu integronların plazmid ya da transpozonla birleşmesidir. Bu enzimler IMP, GIM, SIM, VIM ve SPM gibi en yaygın bulunanlarıdır.

1990 yılında Japonya'da bir *P. aeruginosa* suşunda konjugatif plazmid üzerinde bulunan ve transfer edilebilir ilk metallo beta laktamaz olan IMP-1, imipenemi parçalayan bir enzimdir. Ayrıca IMP-1 enzimi *S. marcescens* ve *Enterobacteriaceae* ailesinin başka üyelerinde bir integrone yerleşmiş olarak bulunur. Aztreonama karşı etkisiz olan IMP-1, penisilinler, geniş spektrumlu sefalosporinler ve imipenemleri hidroliz edebilmektedir. IMP-2 enzimi ise *A. baumannii* suşunda saptanmış ilk sınıf 1 integrondur. 1907'de İtalya'nın Verona şehrinde izole edilmiş olan VIM-1, MBL ailesinden olan VIM'nin ilk üyesidir. Sonrasında Fransa'da VIM-2 de *P. aeruginosa* suşlarında saptanmıştır (Queen ve Bush, 2007).

1.9. Enterobacteriaceae

Enterobacteriaceae ailesi, karma gram negatif basiller arasında çok önemli yere sahiptir. Önemli bağırsak patojenleri bulunduran bu ailenin bazı üyeleri insan gastrointestinal yolunda kolonize olurlar (*Escherichia*, *Enterobacter*, *Klebsiella*).

Enterobacteriaceae ailesindeki çoğu bakteriler gram negatif, sporsuz, hareketli veya hareketsizdir. Pepton veya etözlü besiyerinde üreyebilir, aerob veya anaerob ortamlarda üreyebilirler. Hücre duvarı, lipoprotein, fosfolipit, peptidoglikan, lipopolisakkaritler ve proteinden oluşan çok tabakalı bir yapı gösterir. *Enterobakteriler* fakültatif anaerob olup 35-37°C'de ve CO₂ 'siz ortamda ürerler.

Dışkı örneklerinden *enterobakterilerin* izolasyonu için Eosin Metilen Blue (EMB) veya Mac Conkey agar ve Xylose lysine deoxycholate (XLD) veya Hektoen enterik agara (HE) ekim yapılabilir.

1.9.1. *Escherichia coli*

Escherichia grubu arasındaki en önemli tür *E. coli*'dir ve insan için hayati fırsatçı bir patojendir. *E. coli* suşları genellikle ince bağırsağın ve de kalın bağırsağın distal bölgesindeki yüzeyde bulunan mukusa tutunarak varlıklarını devam ettirebilirler. Kalın bağırsakta fazlaca yayılım gösteren seçmeli anaerob türdür. *E. coli*, bağırsakların patojen mikroorganizmalar tarafından kolonizasyonunu engellemeye çalışmasının yanında çoğu bakteriyel enfeksiyonların da sorumlusudur. Bağırsak, bağırsak dışı ve üriner yol enfeksiyonlarında rol oynar (Ustaçelebi, 1999). Üriner sistem enfeksiyonları, yaygın antibiyotik kullanımına ihtiyaç duyulan enfeksiyon hastalıklarından biridir (Bayram vd., 2011).

Enterobacteriaceae ailesinden olan Gram negatif *Escherichia coli*, ülke sınırları içinde hastane ve toplum kaynaklı üriner sistem enfeksiyonlarında sıklıkla izole edilen bakteri türüdür (Aykan ve Çiftci, 2013).

1.9.1.1. *E. coli*'nin Genel Özellikleri

Enterobacteriaceae ailesinden olan *E. coli* 1885 yılında Escherich tarafından *Bacterium coli commune* ismi ile tanımlanmıştır. Bağırsak dışı enfeksiyonlarındaki patojenliğinin tanınması sonrasında Castellani ve Chalmer tarafından 1919 yılında *Escherichia* cins adını almıştır (Töreci, 2002).

Klinik örneklerden en yoğun izole edilen *Escherichia* cinsinin en önemli üyesi olan *E. coli*, insan ve hayvanların gastrointestinal sisteminde yoğunlukla bulunmaktadır. Normal şartlarda konak ve *E. coli* arasındaki uyumlu ilişki sayesinde hastalığa sebep olmazken, farklı organa ya da dokuya veya başka bir konak organizmanın bağırsağına geçmesi sebebiyle enfeksiyona yol açabilir. *E. coli*'nin sebep olduğu başlıca enfeksiyonlar sindirim sisteminin enfeksiyon veya iltihaplanması, idrar yolu enfeksiyonu, peritonit, sepsis, pnömoni ve menenjit gibi enfeksiyonlardır (Vila vd., 2016).

E. coli optimum üreme sıcaklığı 37 °C'dir fakat 7-46 °C aralığında da üreyebilmektedirler. Canlılığını sürdürebilme pH aralığı ise 4,4 – 9 aralığındadır. Glukoz ve laktoz gibi bir çok şekeri fermentasyon yeteneğine sahiptir (Bell ve Kyriakides, 2002).

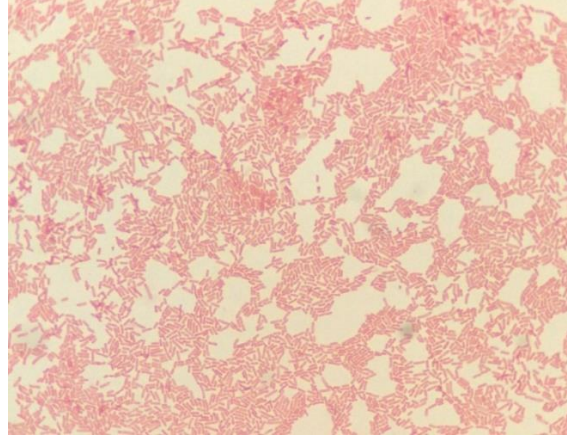
E. coli'de O (somatik) antijenleri, ısıya dayanıklı olup lipopolisakkarit tabakanın polisakkarit kısmında bulunur ve çoğunlukla Gram negatif basilin serolojik tiplerinin tespitinde kullanılır. H (kirpik) antijeni, *Enterobacteriaceae* üyelerinde hareketten sorumlu flagella yapısında bulunur. Daha çok kapsülle ilişkili olan K (kapsül) antijeni, daha az sıklıkla fimbriyalar ile de ilişkilidir (Baron vd., 1994).

Bağırsak enfeksiyonuna sebep olan ve bağırsakta patojen olarak bulunan farklı serotip ve patojenik mekanizmalara sahip *E. coli* suşları beş gruba ayrılırlar.

1.9.1.2 Morfoloji ve Boyama Özellikleri

E. coli, Gram negatif bir bakteri olup kapsülsüz, çomak şeklindedir (Şekil 6) ve spor oluşturmaz. Yaklaşık olarak 1,0-1,5 µm eninde, 2-6 µm boyunda, düz ve uçları yuvarlak şekildedir. Peritriş kamçıları sayesinde hareketli olmalarına rağmen yavaştırlar. Bazı suşları kapsüllü olmakla birlikte hareketsiz suşları da vardır (Ustaçelebi, 1999). Polisakkarit yapıda K antijenleri içeren ince tabaka ve M antijeni içeren mikrokapsül bulundurabilirler. İdrarda ya da eski kültürlerde kokobasiller şeklinde veya daha uzun filaman yapılı görülebilmektedirler (Bilgehan, 2002; Erdem, 1999). *E. coli* suşlarının genelinde protein yapıda fimbriya adında hareket organları vardır. Bir suшта birden fazla fimbriya bulunabilir ve fimbriyalar, bakterilerin yüzeylere ve hücrelere tutunmasını sağlar (Bozkaya, 2005).

Granül içermezler ve homojen olarak boyanırlar. Bakteriyolojik boyalarla iyi boyanırlar (Töreci, 2002).



Şekil 6. *E. coli*'nin mikroskobik görüntüsü

1.9.1.3. Kültür (Üreme) Özellikleri

Asit sıvısı, serum, glikoz, kan gibi içerikler ilave edilmemiş buyyon ya da jeloz besiyerlerinde fakültatif olarak kolayca ürerler. Üreyebileceği en iyi ısı 37 °C'dır ve pH aralığı 7-7,2 dir. 20-44 °C'de ve pH 5-8 aralığında da üreyebilirler (Töreci, 2002). Sıvı besiyerinde homojen bulanıklık yaparak bol miktarda ürer. Dipte oluşan hafif çökelti ise tüp çalkanlandığında kolaylıkla dağılır. Adi agarda ise yuvarlak, hafif kabarık, 2-3 mm çapında, düzgün kenarlı, gri beyaz koloniler meydana gelir. Kanlı agarda 1-2 mm çapında gri koloniler oluşur ve bazı suşlar beta hemoliktir. Eozin metilen mavisi (EMB) besiyerinde laktozu fermente ettiğinden metalik parlaklık veren yeşil-siyah koloniler oluşturur (Ustaçelebi, 1999).

1.9.1.4. Antijen Yapıları

E. coli karmaşık antijenik yapıya sahip olup Kauffmann tarafından 1944 yılında antijenik özelliklerine göre sınıflandırılmıştır (Bilgehan, 2000). *E. coli*'de somatik (O), kirpik (H) ve kapsül (K) antijenleri bulunur (Ustaçelebi, 1999). Özellikle epidemiyolojik çalışmalarda, *E. coli* suşlarının antijen yapılarının belirlenmesi yararlı olur. Özel antijen tipleri ile *E. coli*'nin oluşturduğu çeşitli hastalık tabloları birbiriyle ilişkilidir. Örneğin serotip O57:H7, verotoksin oluşturur, hemorajik diyareye ve hemolitik üremik sendroma yol açar.

1.9.1.5. Sınıflandırması

E. coli'nin bilimsel sınıflandırılması aşağıdaki gibidir (Cruickshank vd., 1975).

Phylum (Şube): Proteobacteria

Class (Sınıf) : Gamma Proteobacteria
Order (Takım) : Enterobacterales
Family (Aile) : *Enterobacteriaceae*
Genus (Cins) : *Escherichia*
Species (Tür) : *Escherichia coli*

1.9.1.6. Dirençlilik

E. coli suşlarının direnci diğer enterobakterilere benzerdir. Fakat bunun yanında malaşit yeşili, fuksin, sodyum sülfat, bizmut sitrat, sodyum tetratiyonat, sodium deosikolat ve safra tuzları gibi kimyasal maddelere ve boyalara *Salmonella* ve *Shigella*'lardan daha duyarlıdır. Bu sebepten dolayı *E. coli*'nin dışkıda bulunan diğer bakterilerin izolasyonunda üremesine engel olmak için içerisinde bu maddelerden ve boyalardan bulunan seçici besiyerleri hazırlanmaktadır (Ustaçelebi, 1999).

1.9.1.7. Plazmit ve Bakteriyosin İçeriği

Kromozomlar haricinde yine bakterilerin içinde bulunan DNA yapısında ve içinde bulundukları bakterilere bir takım özellikler kazandıran ve bu özellikleri genetik olarak kontrolüne alan 4-400 kilobazlık elementlere plazmit denir. Kromozomdan bağımsız olarak çoğalan plazmitler çift iplikli olup kromozomdan farklı genetik elementlerdir. Plazmitler, çeşitli antibiyotiklere karşı direnç kazanmada ve metabolizma ile ilgili bazı olaylarda görev alırlar. Birkaç farklı yolla antibiyotik direncinin hızla yayılmasına sebep olabilirler (Kuyucu, 2007). *E. coli* suşlarında antibiyotiklere karşı direnç oluşumuna neden olan R plazmidler ve virülans faktörleri kodlayan çeşitli plazmidler bulunur. Plazmid analizleri ise epidemiyolojik araştırmalarda yapılmaktadır (Ustaçelebi, 1999).

E. coli suşları bakteriyosin salgılamaktadırlar ve bunlara kolisin denmektedir. Bakteriyosin tiplendirmesi ve kolisin incelemeleri, epidemiyolojik araştırmalar ile yapılmaktadır (Ustaçelebi, 1999). Kolisinler, *E. coli*'nin aynı türünün diğer suşlarını öldürücü etkiye sahiptirler. Kolisinler, plazmit DNA tarafından kodlanmaktadır ve yüksek moleküler ağırlığa sahip proteinler olup A. Grait tarafından 1925 yılında keşfedilmiştir (Trautner vd., 2005).

1.9.1.8. Yaptığı Hastalıklar

Normal bağırsak florasında bulunan *E. coli*, bağırsakta diyare oluşturan suşları haricinde zararsız olarak yaşarlar. Fakat vücutta başka bir dokuya ya da organa bulaştıklarında enfeksiyona sebep olabilirler. *E. coli*'nin oluşturduğu hastalık türleri, bağırsak dışında ve bağırsak içinde olmak üzere ikiye ayrılmaktadır (Erdem, 1999).

1.9.1.8.1. Bağırsaklarda Oluşturdukları Hastalıklar

Bağırsaklarda hafif seyreden diyareden, ağır sıvı kayıplarıyla seyreden diyareye ve hatta hemolitik üremik sendrom gibi yaşamı tehdit eden komplikasyonlara sahip kanlı diyareye kadar ağırlığı değişkenlik gösteren gastrointestinal hastalıklara beş farklı *E. coli* grubu neden olmaktadır (Ustaçelebi, 1999).

Enterotoksijenik *E. coli* (ETEC)

1960'lı yıllarda keşfedilen ETEC, özellikle küçük yaşta çocuklarda dehidrasyona ve malnütrisyonu sebep olur. Birkaç gün süre ile bol sulu diyareye neden olur (Cabral, 2010). ETEC ile kansız sulu diyarekatın krampları, mide bulantıları ve düşük ateş ile de etkisini gösterebilir. Hijyensiz ortamlar ve kontamine su kaynaklarının ağız yoluyla tüketilmesi neticesine ETEC ortaya çıkar (Ustaçelebi, 1999).

Enteropatojenik *E. coli* (EPEC)

Erişkinlerde nadir görülen EPEC, bebeklerde ve 2 yaş altı çocuklarda ise ateş, kusma, mukuslu kansız diyare ile sulu olarak seyreder. Bebek servisleri, hastaneler ve kreşlerde salgına yol açan EPEC enfeksiyonunun kronik diyare ile ilişkili olduğu gözlenmiştir. Bu sebepten dolayı kilo kaybı, büyüme geriliği, malnütrisyon ve malabsorbsiyon gibi olumsuz etkilere sebep olabilmektedir (Erdem, 1999; Sonnenberg, 2005).

Enteropatojenik *E. coli* tutunma ve yapışma (Attaching-Effacing A/E) özelliği ile bağırsak epiteline sıkıca tutunarak diyareye sebep olur. Bu şekilde iltihaplanma reaksiyonu meydana getiren EPEC, plasmid kontrolündeki pililer yardımıyla ince bağırsaktaki mukoza hücrelerine tutunarak mikroviluslara zarar verir (Berkiten, 2005; Eklund, 2005).

Enteroinvaziv *E. coli* (EIEC)

1971 yılında gelişmemiş ülkelerde görülen EIEC 1944 yılında *Paracolon bacillus* olarak tanımlanmış ve sonrasında ise *E. coli* 0124 olarak isimlendirilmiştir. Diğer *E. coli* diyarelerine göre daha az oranda görülen kanlı diyare EIEC enfeksiyonunun tipik özelliklerinden birisidir. Bütün dünya üzerinde daha seyrek olarak rastlanan bu suşlar ile enfeksiyon daha çok kontamine besinlerden bulaşır fakat insanlar arasında bulaşıcı değildir (Brooks vd., 2004; Berkiten, 2005).

EIEC, doğrudan kolon mukozasına girerek epitel hücreleri içinde çoğalır ve epitel hücrelerini tahrip eder. Ayrıca *Shigella*'ların yaptığı dizanteri gibi ince bağırsak iltihabı oluşturur (Ustaçelebi, 1999).

Enterohemorejik (Verotoksijenik) *E. coli* (EHEC-VTEC)

Su ve gıda kaynaklı enfeksiyonlar olup hemolitik üremik sendroma ve kanlı diyareye sebep olurlar. Özellikle kreşlerde ve yaşlı bakım evlerinde salgınlara yol açarlar. EHEC suşları Shigatoksin benzeri vero hücrelerine toksik etki gösteren, protein sentezini inibe eden, lizojen bir bakteriyofaj tarafından üretilen verotoksin salgılayıcıdır (Ustaçelebi, 1999).

Enteroagregatif *E. coli* (EAggEC)

EAggEC, gelişmekte olan ülkelere 1-5 yaş arasındaki çocuklarda bulaşıcı kronik ve iyileşmesi zor inatçı diyare etkenidir. Ayrıca HIV enfeksiyonuna bağlı immune yetmezlik geliştiren kişilerde görülen kronik diyareden de sorumludur. Çocuklarda ise kusma, sulu diyare, su kaybı, seyrek de olsa karın ağrıları, kanlı dışkı ve ateş belirtilerine sebep olur (Kayser, 2002; Murray vd., 1998).

Bazı EAEC suşları, toksine enteroagregatif sitotoksin (EAST) adında, plazmit tarafından kodlanan sitotoksin salgılamaktadır. Bu toksinin hücrelerde yuvarlaklaşmaya ve hücre harabiyetine sebep olduğu gözlenmiştir (Forbes vd., 2007; Murray vd., 2010).

1.9.1.8.2. Bağırsak Dışı Oluşturduğu Hastalıklar

Üriner Yol Enfeksiyonları: *E. coli*'de komplike olmayan sistit, üretrit, pyelonefrit'e neden olan enfeksiyonlar kadınlarda sık görülür. Üriner yol enfeksiyonlarının en başlıca etkeni *E. coli*'dir. Normal üriner akımın tıkanması veya sonda gibi yabancı cisim varlığı, komplike üriner sistem enfeksiyonlarına sebep olan

önemli konak faktörleridir. Komplike olmayan enfeksiyon için B kan grubu antijenlerine bağlanan fimbria'lar gibi özgün virülans faktörlerine ihtiyaç vardır.

Bakteriyemi: Bakteriyemi, genellikle idrar yolu enfeksiyonu ile ilişkili olup idrar akışına engel olan bir durum oluşması halinde etki riski artmaktadır. Özellikle de serumun ve komplemanın bakterisidal etkisine direnç gösteren suşlar bakteriyemi suşlarıdır. *E. coli* bakteriyemisi solunum yolu enfeksiyonlarına bağlı olarak oluşmasının yanında kanser, lösemi veya kemoterapiye bağlı hastalarda da gelişme riski fazladır (Erdem, 1999; Öngen, 2008).

Yenidoğan Menenjit: Küçük çocuklarda ve yenidoğanlarda daha çok görülmektedir. En sık rastlanan menenjit etkenlerinden biridir. K1 kapsül antijeninin patogeneze rolü vardır (Eisenstein ve Zaleznik, 2000).

E. coli K1 suşlarının kolonizasyonu gebelik döneminde artar ve doğum sırasında ya da amniyotik membran yırtılması sebebiyle bebeğe bulaşır. Ayrıca menenjit etkeni *E. coli* suşlarının beyindeki damar endotel hücrelerine tutunmasını sağlayan fimbriyaları bulunmaktadır (Öngen ve Nazik, 2008).

Solunum Yolu Enfeksiyonu: Üst solunum yollarında kolonize olmuş bakterilerin aspirasyonu nedeniyle *E. coli*, akciğere ulaşır. Ayrıca kan yolu ile de bulaşabilir. Genellikle hastane enfeksiyonlarının neden olduğu *E. coli* pnömoniler fırsatçı suşlardır. Pnömoni hastaları çoğunlukla 50 yaş üzeri kronik akciğer hastalıkları veya diyabet gibi altta yatan sebeplere sahip hastalardır (Öngen, 2008).

Aynı zamanda *E. coli*, beyin apsesi, endokartit, prostatit, peritonit, septik artit, süpüratif tiroidit gibi çeşitli sağlık sorunlarına neden olabilir (Erdem, 1999).

1.9.1.9. Tedavi

Bağırsak enfeksiyonlarının tedavisinde öncelikle kaybedilen sıvı ve elektrolitin, kaybedilen sıvı miktarına göre intravenöz veya oral tedavi uygulaması ile geri kazandırılması amaçlanır. Bağırsak enfeksiyonlarında EIEC suşlarının sebep olduğu sağlık sorunlarına faydalı olacağı düşünülmektedirken diğer virotiplerin sebep olduğu diyarelerde ise oflaksasin, TMP/SMX, doksisisiklin gibi antibiyotikler de diyare süresini kısaltacağı için kullanılabilecektir.

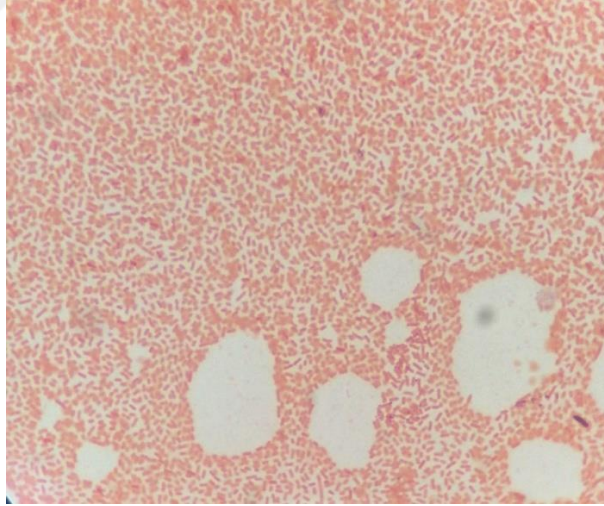
E. coli'nin bağırsak dışında sebep olduğu enfeksiyonlarda ise antibiyotik tedavisi gerekmektedir. Bu enfeksiyonların direnç geliştirme olasılığı dikkate alınarak

hastanın kliniğe uygun yeterli süre ve dozda antibiyotik dozu alabilmesi için antibiyotik testi uygulanmaktadır (Ustaçelebi, 1999).

1.9.2. *Klebsiella* Türlerinin Morfolojileri ve Kültür Özellikleri

Adını 19. yüzyıl sonlarında yaşamış Alman mikrobiyoloğu Edwin Klebs'den alan *Klebsiella* türü bakterilerin özellikleri, *Enterobacteriaceae* üyelerinin özellikleri ile benzedir. *Enterobacteriaceae* üyelerinden farklı olarak bazen iğşer, bazen kısa zincirler oluşturan 2,0-5,0 x 0,7-1,5 µm boyutlarında ve hareketsiz özellik gösteren Gram negatif, genellikle kapsüllü ve sporsuz basillerdir (Şekil 7). Carl Friedlander'ın yaptığı araştırmalar neticesinde ağır öldürücü pnömoniye yol açan *Klebsiella pneumoniae* uzun bir zaman "Friedlander basili" olarak isimlendirilmiştir (Kıraç vd., 2011).

Klebsiella cinsi tüm türlerin kolonilerinde mukusa benzer yapı gösteren bileşik olan mukoid yapılı kapsül bulunur. Bu cinsler içerisinde bulunan *Klebsiella pneumoniae* ve *Klebsiella oxytoca* türleri hastane kaynaklı akciğer iltihabına sebep olan ve en sık izole edilen türlerdir (Leblebicioğlu vd., 2003).



Şekil 7. *Klebsiella pneumoniae*'nin mikrosobik görüntüsü

1.9.2.1. Virülans Faktörleri

Oldukça dirençli bir bakteri olan *Klebsiella pneumoniae*, hücre bütünlüğünün bozulmasına karşı savunma olarak etkili bir koruma sistemi geliştirmekte olduğu bilinmektedir (Paczosa ve Mecsas, 2016). *K. pneumoniae*'nin virülans fakörleri; lipopolisakkarit, fimbria, kapsül ve sideroforlar gibi yapılar olup, bakterinin hem

konakçıyı enfekte etmesine hem de konak immün direncine karşı koyarak önemli hastalıkların ortaya çıkmasına yol açmaktadır. *K. pneumoniae* tarafından üretilen, suşa özgü polisakkaritlerden oluşan, kalın lifli yapıdaki hücre dışını saran kapsüller polisakkaritler K antijenidirler ve üretilen polisakkarit *K. pneumoniae* suşuna özgüdür ve bu sayede serolojik teknikler kullanılarak suşu tanımlamak mümkün olmuştur (Herridge vd., 2020).

1.9.2.2. Neden Olduğu Hastalıklar

Gram negatif yapıdaki *Klebsiella* cinsi bakteriler polisakkarit yapıda geniş kapsül içerir ve bu patojenite faktörüdür. *K. pneumoniae*, çeşitli ciddi enfeksiyonlara sebep olmada *E. coli*'den sonra ikinci sıklıkta görülen Gram negatif bakteridir. Neden olduğu enfeksiyonlardan başlıcaları, akciğer enfeksiyonu, dolaşım yolu enfeksiyonu, solunum yolu enfeksiyonu, yoğunlukla üriner sistem enfeksiyonu, menenjit, intraabdominal enfeksiyon gibi fırsatçı hastane enfeksiyonlarına sebep olmaktadır (Vading vd., 2018; Chung 2016).

Klebsiella pneumoniae, hastanede yatan hastalarda antimikrobiyal dirençli fırsatçı enfeksiyonların yagın bir nedenidir. Bu tür, penisiline karşı doğal olarak dirençlidir ve popülasyonun üyeleri genellikle çoklu antimikrobiyallere karşı kazanılmış direnç taşır. Son on yılda *Klebsiella pneumoniae*, geniş spektrumlu beta laktamazlar ve karbapenemazlar üreten çoklu ilaca dirençli suşların neden olduğu enfeksiyonların artan prevalansı nedeniyle önemli bir klinik tehdit olarak ortaya çıkmıştır (Wyres vd., 2020).

2. YAPILAN ÇALIŞMALAR

2.1. Materyal

2.1.1. Kullanılan Alet ve Ekipmanlar

Recep Tayyip Erdoğan Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi Biyoloji Bölümü Moleküler Biyoloji Laboratuvarında mevcut olup çalışmada kullanılan cihazlar şunlardır:

Termal döngü cihazı (Bio-Rad, ABD), Etüv (Mettler, Almanya), Steril kabin (Heal Force, Çin), Soğutmalı santrifüj (Hettich UNIVERSAL 320, ABD), Santrifüj (SSigma, ABD), Mini santrifüj (Hangzhov Allsheng, Çin), Çalkalayıcı etüv (Jeio Tech, Kore), pH metre (Mettler Toledo, Çin), Buz makinesi (Fiocchi, İtalya), Vorteks (Cleaver Scientific, İngiltere), Manyetik karıştırıcı (Heidolph, Almanya), Hassas terazi (Denver Instrument, Türkiye), Elektroforez tankı (Thermo Scientific Owl, ABD), UV illüminatör (Vilber Lourmat, Fransa), Buzdolabı (Arçelik, Türkiye), Derin dondurucu (-20°C) (Arçelik, Türkiye), Distile su cihazı (Gesellschaft für Labortechnik, Almanya), Derin dondurucu (-80°C) (New Brunswick Scientific, ABD), Diktip otoklav (Alp Tekinler, Türkiye), Pastör fırını (Nüve, Türkiye), Thermo-Shaker inkübatör (ABD), Spektrofotometre (Cole Parmer, ABD), Otomatik pipetler (Nichipet EX, ABD). Anabilim dalında mevcut olan erlen mayer, petri, mezür, jel dökme tepsisi ve taraklar kullanıldı.

2.1.2. Kullanılan Kimyasallar, Enzimler, Vektörler, Kitler

Kullanılan kimyasallar: Agaroz, Agar, NaOH, NaCl, Tris-HCl, etanol, ampicilin KCO_2CH_3 , $CaCl_2 \cdot 2H_2O$, IPTG, X-gal (Sigma, ABD), Gliserol, RNaz A (BioShop, Kanada), Tripton, Tris-Base, EDTA, SDS, KCl, Glasiyal asetik asit, sodyum asetat (Merck, Almanya), etidyum bromür (Bio-Rad, ABD), DNA markırı, dNTP (Thermo Fisher Scientific, ABD).

Kullanılan Kitler, Vektörler ve Enzimler: pGEM-T Easy klonlama kiti (Promega, ABD), Plazmit DNA izolasyon kiti (Thermo Fisher Scientific, ABD), Taq DNA polimeraz (Thermo Scientific), *EcoRI*, T4 DNA ligaz (Thermo Fisher Scientific, ABD).

Kullanılan Besiyerleri: Luria-Bertani Broth, Ampisilinli Luria-Bertani, Luria-Bertani Agar.

2.1.3. Besiyerlerinin Hazırlanması

LB (Luria-Bertani): 5 g yeast, 10 g tripton, 5 g NaCl tartılarak 1000 ml saf suda çözüldü. 121°C’de 20 dk süreyle otoklavlanarak steril edildi.

LB (Luria-Bertani) Agar: 5 g yeast, 10 g tripton, 5 g NaCl, 15 g agar tartılarak 1000 ml saf suda çözüldü. 121°C’de 20 dk otoklav cihazında steril edildi. Sıcaklık 55°C’ye düştükten sonra petri plaklarına 4 mm kalınlığında dökülerek donduruldu.

2.1.4. Çözeltiler ve Tampon Solüsyonlarının Hazırlanışı

Primer Hazırlama: Stok çözeltiler için liyofilize halde bulunan primerler steril saf su ile hazırlandı. Ependorf tüplere stok çözeltiden 10 µl eklendi ve üzerine 90 µl steril saf su ilave edilerek total konsantrasyonu 10 pmol/µl olacak şekilde primerler hazırlandı. Karışım -20°C’de saklanarak muhafaza edildi.

%1’lik Agaroze Jel Hazırlama: 0,7 gram agaroz üzerine 70 ml 1X TAE eklendi ve mikrodalga fırında 3 dk bekletildi. 3 µl etidyum bromür eklenerek jel tepsisine aktarıldı.

50X TAE (Tris-Asetik Asit-EDTA) Tamponu: Beher içerisine 242 g Tris-Base, 100 ml 0,5 M EDTA, 57,1 ml glasiyal asetik asit kondu ve yaklaşık 700 ml distile su ile çözüldü ve pH 8,5 olarak ayarlandıktan sonra hacmi 1000 ml’ye tamamlandı.

1X TAE’nin Hazırlanışı: 980 ml steril deiyonize su üzerine 20 ml 50X TAE’den eklenerek hazırlandı.

Etidyum Bromür: Son konsantrasyonu 10 mg/ml olacak şekilde 100 mg etidyum bromür 10 ml distile suda çözüldü. Koyu renkli cam şişede oda ısısında muhafaza edildi.

Ampisilin: Son konsantrasyonu 50 mg/ml olacak şekilde hazırlanan ampisilin 0,5 g tartılıp suda çözüldü. Son hacmi 10 ml’ye tamamlanan çözelti 0,22 µm’lik filtreyle süzülerek steril edildi. 1,5 ml’lik santrifüj tüplerine bölünerek -20°C’de saklandı.

Frozen Storage Buffer (FSB): 100 mM KCl, 50 mM CaCl₂.2H₂O, % 10 gliserol, 1 M KCO₂CH₃ bileşenlerin hepsi 50 ml dH₂O’da çözülerek pH’sı HCl ile 6,2

olarak ayarlandı. Son hacim 100 ml'ye tamamlandıktan sonra otoklavlanıp +4°C'de saklandı.

Sodyum Asetat (3M, pH 5,2): Molekül ağırlığı 82,03 g/mol olan sodyum asetattan konsantrasyonu 3 M ve son hacmi 100 ml olacak şekilde 246,09 g tartılıp dH₂O'da çözüldü. Glasiyel asetik asit ile pH 5,2'ye ayarlandı.

Tris-HCl (1 M, pH 7,5): Tris-HCl'den (MA: 121,1 g/mol) konsantrasyonu 1 M, son hacmi 200 ml olacak şekilde 24,22 g tartılıp 150 ml dH₂O'da çözüldü. pH 7,5'e ayarlandı ve son hacim mezür yardımıyla 200 ml'ye tamamlandı, otoklav edilerek oda ısısında muhafaza edildi.

Etilendiamin tetra asetik asit (EDTA, 0,5 M, pH 8,0): EDTA'dan (MA: 372,24 g/mol) konsantrasyonu 0,5 M, son hacmi 200 ml olacak şekilde 37,22 g tartılıp 100 ml dH₂O'da çözüldü. pH 8,0'e ayarlandı ve son hacim mezür yardımıyla 200 ml'ye tamamlandı. 121°C'de 20 dk süreyle otoklav yapılarak oda ısısında saklandı.

Tris-EDTA Tamponu (TE): Son konsantrasyonları 10 mM Tris-HCl (pH 8,0), 1 mM EDTA (pH 8,0) olacak şekilde TE tamponu hazırlandı. Bunun için Tris-HCl (1 M, pH 8,0) stok solüsyonundan 1 ml ve EDTA (0,5 M, pH 8,0) stok solüsyonundan 200 µl hacminde 98,8 ml steril distile su üzerine eklenerek tampon hazırlandı.

TENS (Tris-EDTA-NaOH-SDS) Solüsyonu: Son hacim 100 ml'de 10 mM Tris (pH 8,0), 1 mM EDTA (pH 8,0), 0,1 N NaOH ve % 0,5 SDS olacak şekilde hesapları yapılarak stoktan alındı ve kalanı dH₂O'yla 100 ml'ye tamamlandı. Oda ısısında saklandı.

Sodyum Hidroksit (NaOH, 0,1 N): Molekül ağırlığı 40g/mol olan NaOH' ten konsantrasyonu 0,1 N olacak şekilde 0,8 g tartılıp 200 ml'de çözüldü. Renkli cam şişede oda ısısında muhafaza edildi.

2.2. Metod

2.2.1. *E. coli* ve *K. pneumoniae* İzolatlarının Temini

Bu çalışmada, Trabzon Fatih Devlet Hastanesi'nden izole edilen toplamda 50 klinik *E. coli* izolatı ve 47 klinik *K. pneumoniae* izolatı incelemeye dahil edilmiştir. İzolatların tanımlanması ve antibiyotik duyarlılığının belirlenmesi için VİTEK 2 (bioMer-ieux, craponne, trance) sistemi kullanılmıştır. Antibiyotik duyarlılık testi için, ampisilin, amoksisilin-klavulanik asit, piperasilin-tazobaktam, seftazidim, sefiksim, sefuroksim, sefuroksim aksetil, sefoksitin, seftriakson, sefepim, ertapenem, imipenem, meropenem, siprofloksasin, levofloksasin, amikasin, gentamisin, netilmisin, tobramisin, tetrasiklin, tigesiklin, kolistin, fosfomisin, trimetoprim/sülfametaksazol, nitrofurantoin olmak üzere farklı antibiyotikler kullanılmıştır. Antibiyotik duyarlılıklarının ölçülmesi EUCAST'a (Eucast Version 11.0) göre yapılmıştır (Tablo 5).

Tablo 5. Enterobacterales takımı üyelerinin antibiyotik duyarlılık ve dirençlilik sınır değeri profilleri (EUCAST, 2023)

Antibiyotikler	MIC değeri (mg/L)		Disk içeriği (µg)	Zon çapı (mm)	
	S ≤	R >		S ≥	R <
Penislinler					
Ampisilin	8	8	10	14	14
Amoksisilin-klavulanik asit	8	8	20-10	19	19
Piperasilin-tazobaktam	8	8	30-6	20	20
Sefalosporinler					
Seftazidim	1	4	10	22	19
Sefiksim	1	1	5	17	17
Sefuroksim	8	8	30	19	19
Sefuroksim Aksetil	8	8	30	20	20
Sefoksitin	8	8	30	19	19
Seftriakson	1	2	30	25	22
Sefepim	1	4	30	27	24
Karbapenemler					
Ertapenem	0,5	0,5	10	25	25
İmipenem	2	4	10	22	19
Meropenem	2	8	10	22	16
Florokinolonlar					
Siprofloksasin	0,25	0,5	5	25	22
Levofloksasin	0,5	1	5	23	19

Tablo 5 (Devam). Enterobacterales takımı üyelerinin antibiyotik duyarlılık ve dirençlilik sınır değeri profiller

Aminoglikozidler					
Amikasin	8	8	30	18	18
Gentamisin	2	2	10	17	17
Netilmisin	4	4	10	13	14
Tobramisin	2	2	10	16	16
Tetrasiklinler					
Tetrasiklin	4	4	30	19	19
Tigesiklin	0,5	0,5	15	18	18
Diğer antibiyotikler					
Kolistin	2	2	-	-	-
Fosfomisin	32	32	200	21	21
Trimetoprim/ Sülfametaksazol	2	2	1,25-23,75	14	11
Nitrofurantoin	64	64	100	11	11

2.2.2. *E. coli* ve *K. pneumoniae* İzolatlarının Canlandırılması ve DNA İzolasyonu

Kültürden birer koloni seçilerek 4 ml'lik antibiyotiksiz LB besiyerine ekim yapıldı. Gece boyu 37°C'de etüvde bekletildi. Bakteriyel süspansiyonların 800 µl'si alınarak içerisinde 200 µl gliserol olan ependorf tüpe aktarıldı ve stoklar -20°C'de saklandı.

DNA izolasyonu için tek koloniden hazırlanan 3 ml gece kültürü 10.000 rpm'de 2 dk santrifüj edildi. Santrifüjden sonra üstte kalan süpernatant kısmı döküldü. Pellete 1000 µl saf su eklendi ve vortekslendi. Daha sonra 10.000 rpm'de 2 dk daha santrifüj işlemine tabi tutuldu. Pelletin üzerine 1000 µl saf su eklenerek vortekslendi. Vortekslendikten sonra 10 dk kaynatıldı. 10.000 rpm'de 2 dk santrifüj edildi ve tüpün üst kısmından 500 µl DNA alınıp yeni tüplere aktarılarak stoklar -20°C'de saklandı.

2.2.3. Direnç Genlerinin Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PZR) İle Belirlenmesi

Çalışılan 47 *K. pneumoniae* ve 50 *E. coli* izolatında direnç genlerinin varlığını tespiti için polimeraz zincir reaksiyonu yapıldı. *bla_{oxa}* genlerinin tespiti için Multipleks PZR (Polimeraz Zincir Reaksiyonu) yöntemi kullanıldı. Bir örnek için, hacim 50 µl olacak şekilde, 0.5 µl Taq DNA polimeraz (Thermo Scientific), 5µl 10X Taq tampon (Thermo Scientific), 10mM 1 µl dNTP, 5 µl genomik DNA, 25Mm 3 µl MgCl₂ (Thermo Scientific), 2 µl her bir primer stoku (10 pmol/ µl), son hacim 31,5 µl steril deiyonize su ile tamamlandı. Amplifikasyon için döngü şartları, 94°C'de 3 dk, 25 sn 94°C'de, 40 sn 52°C'de ve 50 sn 72°C'de (29 döngü) ve son sentez 72°C'de 5 dk olacak şekilde belirlendi.

Genişlemiş spektrumlu beta-laktamazları kodlayan genleri (*bla*_{TEM}, *bla*_{SHV}, *bla*_{CTX-M1}, *bla*_{CTX-M2}, *bla*_{GES}, *bla*_{VEB}, *bla*_{PER-2}, *bla*_{KPC}, *bla*_{MIR}, *bla*_{Mcr-1}, *bla*_{DHA}, *bla*_{FOX}, *bla*_{MOX}, *bla*_{CMY-2}), metallo beta-laktamazları kodlayan genleri (*bla*_{IMP}, *bla*_{VIM}), fosfomisin modifiye edici enzimleri kodlayan genleri (*fosA*, *fosC2*, *fosA3*), kinolon direnç proteinlerini kodlayan genleri (*qnrS*, *qnrA*, *qnrB*), *murA*, *uhpT*, *glpT* genlerini tespit etmek için kullanılan primerler Tablo 6’da verildi.

Tablo 6. PZR’de kullanılan primerler ve ürün büyüklükleri

Primerler	Nükleotid sekans (5’- 3’)	Ürün (bp)	Tm (°C)	Kaynaklar
<i>bla</i> _{TEM}	F AGTATTCAACATTTYCGTGT R TAATCAGTGAGGCACCTATCTC	847	55	Cicek et al., 2013
<i>bla</i> _{SHV}	F ATGCGTTATATTCGCCTGTG R TTAGCGTTGCCAGTGCTC	843	55	Hanson vd., 2002
<i>bla</i> _{CTX-M1}	F GCGTGATAACCACTTCACCTC R TGAAGTAAGTGACCAGAATC	260	55	Xu, vd., 2005
<i>bla</i> _{CTX-M2}	F TGATACCACCACGCCGCTC R TATTGCATCAGAAACCGTGGG	341	55	Xu, vd., 2005
<i>bla</i> _{GES}	F ATGCGCTTCATTACGCAC R CTATTTGTCCGTGCTCAGGA	863	55	Moubareck vd., 2009
<i>bla</i> _{VEB}	F ATTTCCCGATGCAAAGCGT R TTATTCCGGAAGTCCCTGT	542	48	Bu çalışma için dizayn edildi.
<i>bla</i> _{PER-2}	F ATGAATGTCATCACAAAATG R ATAATAGCTTCATTGGTTC	860	46	Bu çalışma için dizayn edildi.
<i>bla</i> _{KPC}	F ATGTCACTGTATCGCCGTCT R TTTTCAGAGCCTTACTGCCC	893	57	Schechner vd., 2009
<i>bla</i> _{IMP}	F CATGGTTTGGTGGTTCTTGT R ATAATTTGGCGGACTTTGGC	488	54	Jeon vd., 2005
<i>bla</i> _{VIM}	F ATTGGTCTATTTGACCGCGTC R TGCTACTCAACGACTGAGCG	780	57	Jeon vd., 2005
<i>bla</i> _{OXA-51}	F TAATGCTTTGATCGGCCTTG R TGGATTGCACTTCATCTTGG	353	52	Woodford vd., 2006
<i>bla</i> _{OXA-23}	F GATCGGATTGGAGAACCAGA R ATTTCTGACCGCATTTCAT	501	52	Woodford vd., 2006
<i>bla</i> _{OXA-24}	F GGTTAGTTGGCCCCCTTAAA R AGTTGAGCGAAAAGGGGATT	246	50	Woofdord vd., 2006
<i>bla</i> _{OXA-48}	F GCGTGGTTAAGGATGAACAC R CATCAAGTTCAACCCAACCG	442	57	Bu çalışma için dizayn edildi.
<i>bla</i> _{CMY}	F GACAGCCTCTTTCTCCACA R TGGAACGAAGGCTACGTA	1000	52	Zhao vd., 2003
<i>qnrS</i>	F ACGACATTTCGTCAACTGCAA R TCTAAACCGTCGAGTTCGGCG	428	54	Vasilaki vd., 2008
<i>qnrA</i>	F AGAGGATTTCTCACGCCAGG R CCAGGCACAGATCTTGAC	580	54	Vasilaki vd., 2008
<i>qnrB</i>	F GGMATHGAAATTCGCCACTG R TTTGCGYGYCGCCAGTCGAA	64	54	Vasilaki vd., 2008
<i>fosA</i>	F ATCTGTGGGTCTGCCTGTCTG R ATGCCCGCATAGGGCTTCT	271	50	Benzerara vd., 2017

Tablo 6 (Devam). PZR’de kullanılan primerler ve ürün büyüklükleri

<i>fosC2</i>	F	TGGAGGCTACTTGGATTTG	209	50	Benzerara vd., 2017
	R	AGGCTACCGCTATGGATTT			
<i>fosA3</i>	F	GCGTCAAGCCTGGCATT	221	55	Benzerara vd., 2017
	R	GCCGTCAGGGTCGAGAAA			
<i>bla_{CMY-2}</i>	F	ATGCAACAACGACAATCCATCCT	1149	60	Bu çalışma için dizayn edildi.
	R	TCAACCGGCCAACTGCGCCAG			
<i>bla_{FOX}</i>	F	AACATGGGGTATCAGGGAGATG	190	56	Pérez-Pérez ve Hanson 2002
	R	CAAAGCGCGTAACCGGATTGG			
<i>bla_{MOX}</i>	F	GCTGCTCAAGGAGCACAGGAT	520	60	Pérez-Pérez ve Hanson 2002
	R	CACATTGACATAGGTGTGGTGC			
<i>bla_{Mcr-1}</i>	F	CGGTCAGTCCGTTTGTTC		53	Liu vd., 2016
	R	CTTGGTCGGTCTGTAGGG			
<i>bla_{MIR}</i>	F	ATGATGACAAAATCCCTAAGCTGTG	1098	54	Bu çalışma için dizayn edildi.
	R	GGTTCGGATAGCTTTTATTTCGC			
<i>bla_{DHA}</i>	F	TATCTGCAACACTGRTTTC	1092	52	Bu çalışma için dizayn edildi.
	R	TGACTCTTTCGGTATTCGGGTAG			
<i>murA</i>	F	AAACAGCAGACGGTCTATGG	1260	53	Li vd., 2015
	R	CCATGAGTTTATCGACAGAACG			
<i>uhpT</i>	F	TTTTTGAACGCCAGACACC	1392	52	Li vd., 2015
	R	AGTCAGGGGCTATTTGATGG			
<i>glpT</i>	F	GCGAGTCGCGAGTTTTCATTG	1359	54	Li vd., 2015
	R	GGCAAATATCCACTGGCACC			

Amplifikasyon için döngü şartları Tablo 7’de verildi. PZR ürünleri 0,5 mg/L EtBr içeren %1’ lik agaroz jel elektroforezinde görüntülendi.

Tablo 7. Termal döngü şartları

İlk denatürasyon	35 Döngü	Son sentez
	45 s 95 °C	
	46 °C (<i>bla_{PER}</i>)	
	49 °C (<i>bla_{mcr-1}</i> , <i>bla_{SHV}</i>)	
	50 °C (<i>fos</i>)	
96 °C 5 dk	45 sn 54 °C (<i>bla_{VIM}</i> , <i>bla_{IMP}</i> , <i>qnrA</i> , <i>qnrB</i> , <i>qnrS</i> , <i>murA</i> , <i>uhpT</i> , <i>glpT</i>)	5dk 72 °C
	55 °C (<i>bla_{GES}</i> , <i>bla_{TEM}</i> , <i>bla_{CTX-M1}</i> , <i>bla_{CTXM-2}</i> , <i>bla_{VEB}</i>)	
	57 °C (<i>bla_{KPC}</i>)	
	58 °C (<i>bla_{VIM}</i>)	
	64 °C (<i>bla_{FOX}</i> , <i>bla_{MOX}</i> , <i>bla_{CMY-2}</i> , <i>bla_{MIR}</i> , <i>bla_{DHA}</i>)	
	3 dk 72 °C	

2.2.4. Agaroz Jel Elektroforezi Analizi

Polimeraz zincir reaksiyonu sonucu oluşan ürünlerin görüntülenmesi agaroz jel elektroforezi yardımıyla gerçekleştirildi. Bu işlemin hazırlık aşamasında, % 1'lik jel hazırlamak için 70 mL 1X TAE tamponuna 0,7 g agaroz eklenerek çözünmesi için ısıtıcıda 3-5 dakika aralığındaki zaman dilimi boyunca ısıya tabi tutuldu. Çözelti oda sıcaklığına geldiğinde 7 mg/mL konsantrasyon da 1,5 µl etidyum bromür eklenerek agaroz jel aparatına döküldü. Jel donduktan sonra 5-10 µl arasında DNA örnekleri 3 µl yükleme boyası ile karıştırılarak kuyucuklara pipet yardımıyla aktarıldı. Jel aparatı, jel tankına yerleştirildi ve 1X TAE tamponu yardımıyla 30-40 dakika 120 V'da yürütme işlemi gerçekleştirildi. Yürütme işlemi bitince UV transillüminatör cihazında görüntüleme işlemi yapıldı.

2.2.5. Kompetent Hücrelerin Hazırlanması

Transformasyon (serbest DNA aracılığı ile genetik bilgi aktarımı) işleminde kullanılmak üzere kompetent hücre hazırlanmıştır. Çalışmada kullanılan *E. coli* DH5α suşlarına ait kompetent hücreler Frozen Competent Cells metodu kullanılarak hazırlandı. Bunun için öncelikle, *E. coli* DH5α suşundan alınan tek koloni (3mL) LB'ye ekildi ve 37°C'de büyümek üzere gecelik kültür başlatıldı. Ertesi gün bu kültürden 500µL alınarak 250mL'lik erlen içerisinde bulunan 50ml LB'ye ekildi ve çalkalayıcı inkübatörde 37°C'de 150 rpm'de OD600'de 0,2-0,4 oluncaya kadar büyütüldü. Beklenen OD değerine gelen kültür 2 adet santrifüj tüpüne bölünerek buz üzerinde 10-15 dk bekletildi. Süre sonunda 3000 rpm'de (+4°C) 10 dk santrifüj edilerek pellet toplandı ve süpernatant uzaklaştırıldı. Pellet 7,5 ml çok soğuk FSB'de dikkatli bir şekilde çözüldü ve 2 saat buz üzerinde bekletildi. Tekrar 3000 rpm'de (+4°C) 10 dk santrifüj edilerek süpernatant uzaklaştırıldı. Pellet 2ml soğuk FSB'de çözüldükten sonra 100µl hacimdeki ependorflara dağıtıldı ve muhafaza edilmek üzere -80°C'ye kullanılacağı süreye kadar bekletildi.

2.2.6. Ligasyon Hazırlama

Görüntüleme sonucu istediğimiz büyüklükteki PZR ürünleri kullanılarak ligasyon aşamasına geçilmiştir. 4µL'lik reaksiyon için bir 0,2 ml'lik tüpe pipetör vasıtasıyla 0,2 µL pGEM-T Easy, 2 µL 2xT4 ligaz tamponu ve 0,2 µL T4 DNA ligaz ilave edildi. Karışımındaki tamponlar vortekslendi ve karışıma 1,6 µL insert DNA

eklendi. Hazırlanan ligasyon örneği bir gece 16°C’de bekletilmek üzere Thermo Cyclers cihazına yerleştirildi.

2.2.7. PZR Ürünlerinin pGEM-T Easy Vektörüne Klonlanması

Bir gecelik ligasyon işlemi sonunda transformasyon aşamasına geçildi. 100 µl’lik *E. coli* DH5α hücrelerine 4 µl ligasyon ürününden eklendi. Ardından buzda 30 dakika bekletildi. Bekleme sonunda 42°C’de 2 dakika Thermo-Shaker cihazında bekletildi. Sonra tekrar buzda 3 dakika bekletildi. Daha sonra cam tüplerin içine 1000 µl ampisilinsiz LB eklendi. Cam tüplerdeki LB’lerin içine ligasyon ürünü ilave edildi ve 2 saat boyunca 37 °C’de inkübe edildi. İnkübasyonun ardından 6000xg de 3 dakika çöktürme işlemi gerçekleştirildi. Önceden hazırlanmış olan ampisilinli Luria-Bertani agar (LBA) petrisine ilk önce 40 µl X-gal (5-bromo-4-kloro-3-indolil-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 tabi tutuldu. Süre sonunda petride oluşan beyaz koloniler seçilerek 3 mL ampisilinli LB sıvı besiyerine ekim yapıldı. Ekimin ardından kültürler 16 saat boyunca 37 °C’de çalkalayıcı etüvde büyümeye bırakıldı.

2.2.8. Plazmid İzolasyonu ve Pozitif Klonların Seçilmesi

Beyaz kolonilerden hazırlanan gece kültürlerinden plazmit izolasyonu yapıldı. Gece kültürleri, 1,5mL’lik tüplere 2 dakika hızda 13.000 rpm’de santrifüj edildi. Süpernatant döküldü. Geride 50 µL kadar bırakılan süpernatant ile pellet vortekslenerek çözüldü. Çözülen pellete 300 µL TENS tamponu ve ardından 150µL sodyum asetat (pH 5,2) eklendi. Alt-üst edilip buzda 15 dakika bekletildi ve bekleme süresince her 5 dakikada bir alt-üst edildi. Sonrasında 3 dakika 13000 rpm’de santrifüj edildi. Kromozomal DNA ve hücre atıkları pellette birikti ve kalan sıvı kısım ise başka bir tüpe transfer edildi. Oda sıcaklığında 800 µL %95’lik etanol ilave edildi. 3 dakika 13000 rpm’de santrifüj edildikten sonra süpernatant döküldü. Pellet üzerine 500 µL %70’lik etanol eklenip 2 dakika 13000 rpm’de santrifüj yapıldıktan sonra süpernatant döküldü ve 37 °C’de 15 dakika pellet kurumaya bırakıldı. Son olarak 50 µL suda (RNaz+steril su) pellet çözüldü ve elektroforezde yürütüldü. İzole edilen plazmitler

EcoRI restriksiyon endonükleaz enzimi ile kesildi, kesilen ürünler DNA marker ile birlikte %1'lik agaroz jelde yürütülüp pozitif olanlar tespit edildi.

2.3. Bulgular

Çalışmaya dahil edilen toplam 97 suşta *bla*_{OXA-51}, *bla*_{OXA-23}, *bla*_{OXA-48} ve *bla*_{OXA-24}, *bla*_{CTX-M1}, *bla*_{TEM}, *bla*_{KPC}, *bla*_{GES}, *bla*_{SHV}, *bla*_{VIM}, *bla*_{PER-2}, *bla*_{VEB}, *bla*_{IMP}, *bla*_{CMY-2}, *bla*_{CTX-M2}, *bla*_{MOX}, *bla*_{FOX}, *bla*_{DHA}, *bla*_{MIR}, *bla*_{mcr-1} *qnrS*, *qnrA*, *qnrB*, *fosA*, *fosC*₂, *fosA*₃, *murA*, *uhpT*, *glpT* genlerinin varlığını araştırmak amacıyla PZR yapıldı. Yapılan PZR çalışmaları sonunda 9 *E. coli* suşunda (240, 241, 244, 247, 248, 274, 277, 278, 279) *bla*_{CTX-M1}, 5 *K. pneumoniae* suşunda (81, 84, 85, 90, 131) *bla*_{CTX-M1}, 9 *E. coli* suşunda *bla*_{TEM} (250, 254, 255, 259, 261, 262, 276, 282, 283), 1 *K. pneumoniae* (118) suşunda *bla*_{TEM}, 1 *E. coli* suşunda *bla*_{OXA-51}, 5 *K. pneumoniae* suşunda *bla*_{OXA-48} direnç geni saptanmıştır. Ayrıca çalışma izolatlarının antimikrobiyal duyarlılık sonuçları Tablo 9 ve Tablo 10'da gösterilmiştir.

2.3.1. Bakteri İzolatlarının Dağılımı

İdrar kültüründen elde edilen 97 bakteri suşlarından 50 *E. coli* (%51,5) ve 47 *K. pneumoniae* (%48,4) izolatlarının antimikrobiyal duyarlılık sonuçları tablosunda *E. coli* izolatlarını bulunduran 50 hastadan 28 (%56)'i kadın, 22 (%44)'si erkek hastalardan oluşmakta iken, *K. pneumoniae* izolatlarını bulunduran 47 hastadan 22 (%46,8)'si kadın, 25 (%53,1)'i erkek hastalardan oluşmaktadır (Tablo 8).

Tablo 8. Kadın-Erkek Hasta Yüzdesi

Dirençli suşlar	Kadın	Erkek	Toplam hasta sayısı
<i>E. coli</i>	28 (%56)	22 (%44)	50
<i>K. pneumoniae</i>	22 (%46,8)	25 (%53,1)	47

2.3.2. Bakteri İzolatlarının Antibiyotik Duyarlılıkları

İzolatların 24 farklı antibiyotiğe karşı (imipenem, meropenem, piperasilin/tazobaktam, seftazidim, sefepim, sefoperazon/sulbaktam, amikasin ve siprofloksasin) duyarlılık testleri tam otomatize VİTEK kullanılarak belirlendi (Tablo 9,10,11). Yenilikçi ve otomatik platformu geniş kapsamlı bir veri tabanı ile birleştiren

VITEK® 2 mikrobiyal tanımlama (ID) ve antibiyotik duyarlılık (ADT) test sistemi hızlı ve doğru sonuçlarla güven verir. VITEK®2 sisteminde oyun kağıdı büyüklüğünde ve şeklinde özgün ID ve ADT kartları kullanılır.

İnokülüm Smart Carrier Station™ sisteminde VITEK®2 kaset içine yerleştirilir ve burada VITEK® 2 kartı ile numune sanal olarak bağlanır. Kaset yüklendikten sonra her bir kartın inkübasyonu ve okunması herhangi bir müdahale gerektirmeden sistem tarafından yönetilir (URL-3)

Tablo 9. *E. coli* izolatlarının hücre duvarı sentezini inhibe eden antimikrobiyotiklere karşı duyarlılık sonuçlar

<i>E. coli</i>	Antibiyotikler														
Suş No	AMFOX	CXM	CFM	CAZ	CRO	CXA	PTZ	ETP	IPM	MEM	AK	CN	CIP	FF	
E240	R	S	R	R	R	R	R	R	S	S	S	S	R	R	
E241	R	I	R	R	I	R	R	R	S	S	S	I	I	R	
E242	R	S	R	R	I	R	R	S	S	S	S	S	R	S	
E243	R	S	R	S	S	S	R	R	S	S	S	S	R	R	
E244	R	S	R	R	R	R	R	S	S	S	S	I	R	R	
E245	R	R	R	R	R	R	R	I	S	S	S	S	R	R	
E246	R	I	R	R	R	R	R	S	S	S	S	S	I	S	
E247	R	S	R	R	R	R	R	I	S	S	S	S	S	S	
E248	R	S	R	R	I	R	R	S	S	S	S	S	S	S	
E249	R	S	R	R	I	R	R	S	S	S	S	S	R	S	
E250	R	S	R	R	R	R	R	R	S	S	S	S	S	R	
E251	R	S	R	R	I	R	R	R	S	S	S	S	S	R	
E252	R	S	R	R	I	R	R	R	S	S	S	S	S	S	
E253	R	S	R	R	R	R	R	S	S	S	S	R	R	R	
E254	R	S	R	R	R	R	R	R	S	S	S	I	S	R	
E255	R	S	R	R	R	R	R	I	S	S	S	S	R	R	
E256	R	I	R	R	I	R	R	S	S	S	S	S	R	R	
E257	R	R	R	R	R	R	R	I	S	S	S	S	I	I	
E258	R	S	R	R	I	R	R	S	S	S	S	S	R	S	
E259	R	R	R	S	R	R	R	S	R	S	S	S	S	S	
E260	R	R	R	R	R	R	R	S	R	S	S	S	S	R	
E261	R	R	R	R	R	R	R	I	R	S	S	I	R	R	
E262	R	R	R	R	R	R	R	S	R	S	S	S	I	S	
E263	R	R	R	S	R	R	R	S	R	S	S	I	R	R	
E264	R	R	R	S	R	R	R	S	R	S	S	S	R	R	
E265	R	R	R	R	R	R	R	R	R	I	I	S	S	S	
E266	R	R	R	S	R	R	R	S	R	S	S	S	R	R	
E267	R	R	R	S	R	R	R	S	R	S	S	I	R	R	
E268	R	R	R	S	R	R	R	S	R	S	S	S	R	R	
E269	R	S	R	R	R	R	R	S	S	S	S	I	I	R	
E270	R	S	R	R	R	R	R	S	S	S	S	S	S	S	
E271	R	S	R	R	R	R	R	S	S	S	S	I	R	R	

Tablo 9. *E. coli* izolatlarının hücre duvarı sentezini inhibe eden antimikrobiyotiklere karşı duyarlılık sonuçlar

E272	R	S	R	R	R	R	R	S	S	S	S	S	S	I	S
E273	R	S	R	R	R	R	R	S	S	S	S	S	R	R	S
E274	R	S	R	R	R	R	R	S	S	S	S	S	S	S	S
E275	R	R	R	S	R	R	R	S	R	S	S	S	S	R	S
E276	R	S	R	R	R	R	R	S	S	S	S	S	R	R	S
E277	R	I	R	R	R	R	R	S	S	S	S	S	R	R	S
E278	R	S	R	R	R	R	R	S	S	S	S	I	S	R	S
E279	R	R	R	S	R	R	R	S	R	S	S	S	S	S	S
E280	R	R	R	S	R	R	R	S	R	S	S	I	R	R	S
E281	R	R	R	R	R	R	R	R	S	S	S	S	S	R	S
E282	R	S	R	R	R	R	R	S	S	S	S	I	S	R	S
E283	R	S	R	R	R	R	R	R	S	S	S	I	S	R	S
E284	R	S	R	R	R	R	R	S	S	S	S	S	S	R	S
E285	R	S	R	R	R	R	R	S	S	S	S	S	R	R	S
E286	R	S	R	R	R	R	R	I	S	S	S	I	R	R	S
E287	R	S	R	R	R	R	R	S	S	S	S	S	S	R	S
E288	R	S	R	R	R	R	R	S	S	S	S	S	S	R	S
E289	R	S	R	R	R	R	R	S	S	S	S	I	S	R	S

AM: Ampisilin, FOX: Sefoksitin, CXM: Sefuroksim, CFM: Sefiksim, CAZ: Seftazidim, CRO: Seftriakson, CXA: Sefuroksim Aksetil, PTZ: Piperasilin/tazobaktam, ETP: Ertapenem, IPM: Imipenem, MEM: Meropenem, AK: Amikasin, CN: Gentamisin, CIP: Siprofloksasin, FF: Fosfomisin, S: Duyarlı (sensitive), R: Dirençli (resistant), I: Orta duyarlı (intermediate), EC: *Escherichia coli*

Tablo 10. *K. pneumoniae* izolatlarının hücre duvarı sentezini inhibe eden antimikrobiyotiklere karşı duyarlılık sonuçlar

<i>K. pneumoniae</i>	Antibiyotikler															
Suş no	AM	FOX	CXM	CFM	CRO	CXA	ETP	IPM	MEM	AK	CN	CIP	FF	F	SXT	TPZ
K81	R	S	R	R	R	R	S	S	S	S	S	R	R	R	R	R
K82	R	R	R	R	I	R	S	S	S	S	S	I	S	S	S	S
K83	R	I	R	R	R	R	S	S	S	S	S	R	S	S	S	I
K84	R	S	R	R	R	R	S	S	S	S	S	R	S	S	R	S
K85	R	S	R	R	R	R	S	S	S	S	S	I	R	S	R	S
K86	R	S	R	R	R	R	S	S	S	S	S	R	S	S	R	S
K87	R	S	R		R	R	R	S	S	S	S	R	S	S	S	R
K88	R	S	R	R	R	R	S	S	S	S	S	R	S	S	R	I
K90	R	S	R			R										R
K91	R	R	R	R	I	R	S	S	S	S	S	R	S	R	S	R
K92	R	R	R			R										I
K93	R	R	R			R										R
K94	R	R	R			R										R
K95	R	S	R	R	R	R	S	S	S	S	R	R	S	S	R	S
K96	R	S	R	R	R	R	S	S	S	S	S	S	S	S	R	S
K97	R	S	R	R	R	R	S	S	S	I	S	S	R	S	R	I
K98	R	S	R			R										R
K100	R	R	R	R	R	R	S	S	S	S	S	R	S	R	R	I
K101	R	S	R	R	R	R	S	S	S	S	S	R	R	S	R	R
K103	R	R	R			R										R
K104	R	R	R			R										R
K105	R	S	R	R	R	R	S	S	S	R	R	R	R	R	R	R
K106	R	S	R			R										I
K107	R	S	R	R	R	R	S	S	S	S	S	S	S	S	R	S

Tablo 10 (Devam). *K. pneumoniae* izolatlarının hücre duvarı sentezini inhibe eden antimikrobiyotiklere karşı duyarlılık sonuçlar

K108	R	R	R	R	R	R	R	I	R	S	S	R	S	R	S	R
K109	R	S	R	R	R	R	S	S	S	I	R	R	S	S	R	I
K110	R	R	R		R	R	R	R	I	S	S	R	I	S	R	R
K111	R	S	R	R	R	R	S	S	S	S	S	I	S	S	S	S
K112	R	R	R	R	R	R	S	S	S	S	S	S	R	R	R	R
K113	R	S	R			R										I
K116	R	R	R	R	R	R	R	I	I	S	S	R	R	S	S	R
K117	R	R	R			R										R
K118	R	R	R	R	R	R	S	S	S	S	S	R	R	R	R	R
K119	R	S	R	R	R	R	S	S	S	S	S	S	S	S	R	S
K120	R	S	R	R	R	R	S	S	S	I	R	R	S	S	R	I
K121	R	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	R	R	S	R	I
K122	R	S	R			R										S
K123	R	S	R	R	R	R	S	S	S	S	R	S	S	S	S	R
K124	R	R	R	R	R	R	S	S	S	S	S	R	R	R	R	R
K126	R	R	R			R										R
K128	R	R	R			R										R
K129	R	S	R			R										R
K130	R	R	R			R										S
K131	R	S	R			R										R
K132	R	S	R			R										S

AM: Ampisilin, FOX: Sefoksitin, CXM: Sefuroksim, CFM: Sefiksim, CRO: Seftriakson, CXA: Sefuroksim Aksetil, ETP: Ertapenem, IPM: Imipenem, MEM: Meropenem, AK: Amikasin, CN: Gentamisin, CIP: Siprofloksasin, FF: Fosfomisin, F: Nitrofurantoin, SXT: Trimetoprim/ Sülfametaksazon, TPZ: Piperasilin/Tazobaktam, KP: *Klebsiella pneumoniae*

Tablo 11. *K. pneumoniae* izolatlarının hücre duvarı sentezini inhibe eden antimikrobiyotiklere karşı duyarlılık sonuçlar

<i>K. pneumoniae</i>	Antibiyotikler									
Suş no	CRO	FEP	ETP	MEM	AK	CN	CIP	TGC	CT	SXT
K90	R	R	S	S	S	R	R	I	S	R
K92	S	S	S	S	S	S	S	R	S	S
K93	R	R	R	R	I	R	R	S	S	R
K94	R	R	R	I	S	S	R	I	S	R
K98	R	R	S	S	I	R	R	I	S	R
K103	R	R	R	I	S	S	R	I	S	R
K104	R	R	R	I	S	S	R	I	S	R
K106	R	R	S	S	I	R	R	I	S	R
K113	R	R	S	S	I	R	R	S	S	S
K117	R	R	I	I	S	S	R	S	S	R
K122	R	R	S	S	S	S	S	S	S	R
K126	R	R	R	I	S	S	R	I	S	R
K128	R	R	R	R	S	S	R	I	S	S
K129	R	R	S	S	I	R	I	S	S	R
K130	R	R	S	S	S	S	R	R	S	R
K131	R	R	S	S	S	R	I	I	S	R
K132	R	R	S	S	S	S	S	R	S	R
Suş no	NET	TOB	CIP	LEV	TE	TGC	CT	SXT		
K89	S	S	R	I	(-)	S	S	R		
K99	S	S	R	R	(-)	I	S	R		

Seftriakson, FEP: Sefepim, ETP: Ertapenem, MEM: Meropenem, AK: Amikasin, CN: Gentamisin, CIP: Siprofloksasin, TGC: Tigesiklin, CT: Kolistin, SXT: Trimetoprim sulfametaksazol, NET: Netimisin, TOB: Tobramisin, LEV: Levofloksasin, TE: Tekrasiklin, S: Duyarlı (sensitive), R: Dirençli (resistant), I: Orta duyarlı (intermediate), KP: *Klebsiella pneumoniae*

2.3.3. *E. coli* ve *K. pneumoniae* İzolatlarının Antimikrobiyal Profilleri

97 bakteri izolatının (50 *E. coli* ve 47 *K. pneumoniae*) antibiyotik duyarlılık testleri sonucunda 50 *E. coli* izolatının tamamının (%100) ampisilin, sefuroksim, sefuroksim aksetile dirençli olduğu, 49'unun (%98) imipenem, meropenem duyarlı olduğu ve 47 *K. pneumoniae* izolatı arasında, 45'inin (%100) ampisilin, 44'ünün (%97) sefuroksim, sefuroksim aksetil, sefiksim dirençli olduğu, 36'sının (%80) amikasin, 35'i (%77,7) meropenem, 34'ü (%75,5) ertapenem, 33'ü (%73,3) gentamisine duyarlı olduğu tespit edilmiştir (Tablo 12). Sonuçlardan da anlaşılabileceği üzere *E. coli* ve *K. pneumoniae* izolatlarının ampisilin, sefuroksim, sefuroksim aksetile yüksek oranda dirençli oldukları ve özellikle meropenem yüksek oranda duyarlı oldukları gözlemlenmiştir.

Tablo 12. *E. coli* ve *K. pneumoniae* izolatların antibiyotik dirençlilik ve duyarlılık profilleri

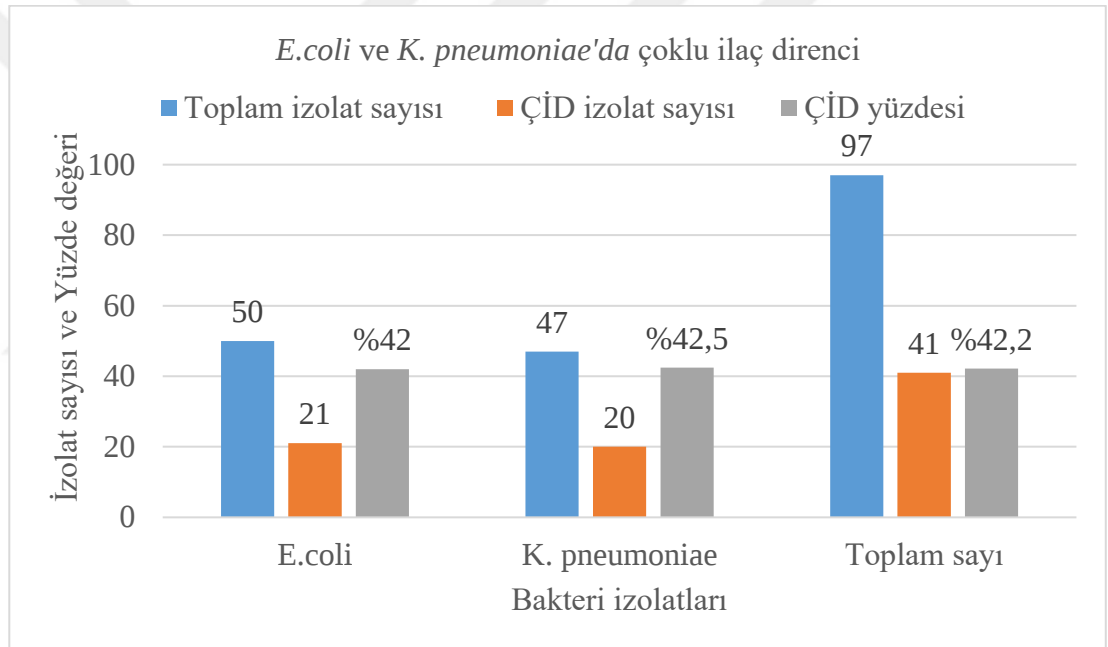
Antibiyotik	<i>Escherichia coli</i> (N=50)		<i>Klebsiella pneumoniae</i> (N=45)	
	Dirençli izolat sayısı (%)	Duyarlı izolat sayısı (%)	Dirençli izolat sayısı (%)	Duyarlı izolat sayısı (%)
Ampisilin	50 (%100)	0	45 (%100)	0
Piperasilin	10 (%20)	34 (%68)	22 (%48,8)	12 (%26,6)
Tazobaktam				
Sefuroksim	50 (%100)	0	44 (%97,7)	1 (%2,2)
Sefuroksim Aksetil	50 (%100)	0	44 (%97,7)	1 (%2,2)
Sefoksitin	16 (%32)	30 (%60)	18 (%40)	26 (%57,7)
Sefiksim	40 (%80)	10 (%20)	44 (%97,7)	1 (%2,2)
Seftazidim	40 (%80)	1 (%2)	43 (%95,5)	2 (%4,4)
Seftriakson	49 (%98)	1 (%2)	41 (%91,1)	2 (%4,4)
Ertapenem	13 (%26)	37 (%74)	10 (%22,2)	34 (%75,5)
Meropenem	0	49 (%98)	3 (%6,6)	35 (%77,7)
Amikasin	1 (%2)	35 (%70)	1 (%2,2)	36 (%80)
Gentamisin	19 (%38)	28 (%56)	12 (%26,6)	33 (%73,3)
Siprofloksasin	38 (%76)	8 (%16)	31 (%68,8)	9 (%20)
Fosfomisin	3 (%6)	47 (%94)	10 (%35,7)	15 (%53,5)
İmipenem	0	49 (%98)	1 (%3,5)	25 (%89,2)
Nitrofurantoin			8 (%28,5)	20 (%71,4)
Trimetoprim			36 (%76,5)	11 (%23,4)
Sülfametaksazol				
Sefepim			16 (%94,1)	1 (%5,8)
Tigesiklin			3 (%17,6)	5 (%29,4)
Kolistin			17 (%17)	0
Netilmisin			2 (%100)	0

Tablo 12 (Devam). *E. coli* ve *K. pneumoniae* izolatların antibiyotik dirençlilik ve duyarlılık profilleri

Tobramisin	2	(%100)	0
Siprofloksasin	2	(%100)	0
Evofloksasin	1	(%50)	1 (%50)
Kolistin	0		2 (%100)

2.3.4. Bakteri İzolatlarında Çoklu İlaç Direnç Profili

50 *E. coli* izolatının %42 si (21/50), 47 *K. pneumoniae* izolatının %42,5 i (20/47) olmak üzere toplam 97 bakteri izolatının %42,2 si (41/97) çoklu ilaca dirençli bakteriler olarak tespit edilmiştir (Şekil 8).



Şekil 8. *E. coli* ve *K. pneumoniae*'da çoklu ilaç direnci

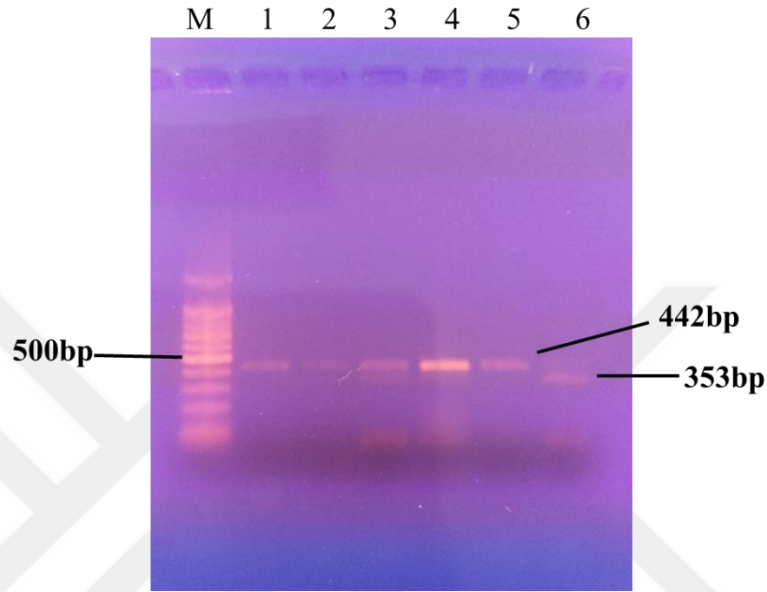
2.3.5. Antibiyotik Direnç Genlerinin Moleküler Yöntemler ile Araştırılması

Çalışmada araştırılan 50 *E. coli* ve 47 *K. pneumoniae* izolatı Trabzon Fatih Devlet hastanesinde klinik örneklerden geleneksel yöntemlerle izole edilmiş, antibiyotik duyarlılıkları otomatize sistemde belirlenmiştir.

2.3.5.1. *bla*_{OXA-48} ve *bla*_{OXA-51} Genlerinin PZR ile Araştırılması

50 *E. coli*, 47 *K. pneumoniae* izolatında *bla*_{OXA} genlerine uyumlu primer çiftleri kullanılarak yapılan multipleks PZR sonucunda *K. pneumoniae*'nın 99, 101, 103, 108,

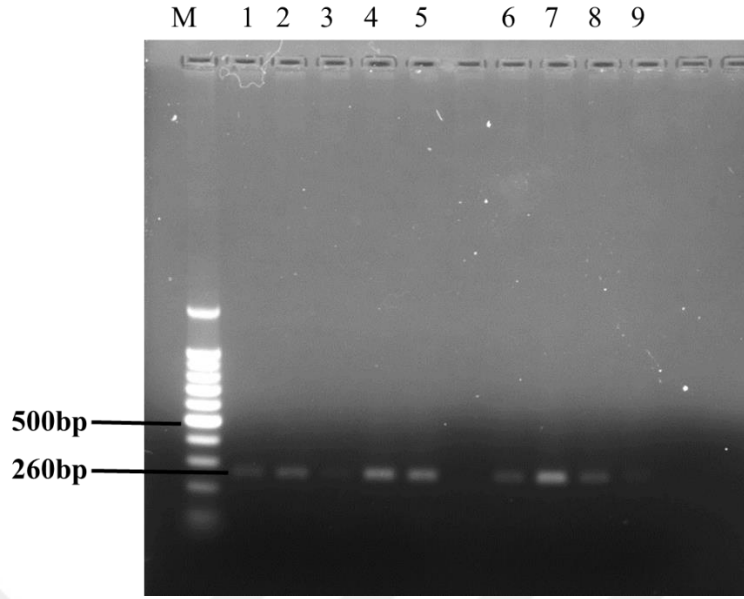
126 no'lu izolatlarında *bla*_{OXA-48} genine ait 442bp büyüklüğünde PCR ürünü, *E. coli*'nin E265 no'lu izolatında ise *bla*_{OXA-51} genine ait 353bp büyüklüğünde PZR ürünü elde edildi (Şekil 9).



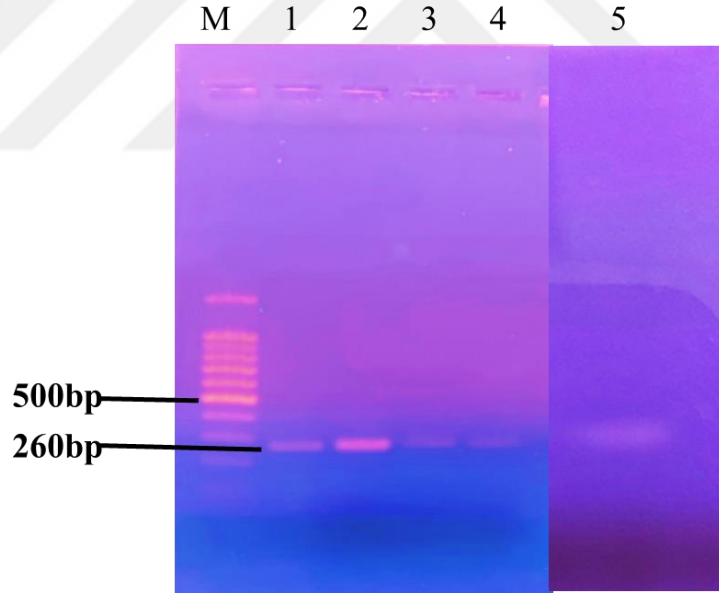
Şekil 9. *bla*_{OXA-48} ve *bla*_{OXA-51} genlerinin agaroz jel elektroforez görüntüsü. M: DNA marker, 1: K99, 2: K101, 3: K103, 4: K108, 5: K126 6: E265

2.3.5.2. *bla*_{CTX-M1} Geninin PZR ile Araştırılması

50 *E. coli*, 47 *K. pneumoniae* izolatında *bla*_{CTX-M1} genine uyumlu primer çifti kullanılarak yapılan PZR sonucunda *E. coli*'nin 240, 241, 244, 247, 248, 274, 277, 278, 279 no'lu izolatlarında, *K. pneumoniae*'nin 81, 84, 85, 90, 131 no'lu izolatlarında 260bp büyüklüğünde PZR ürünü elde edildi (Şekil 10, 11).



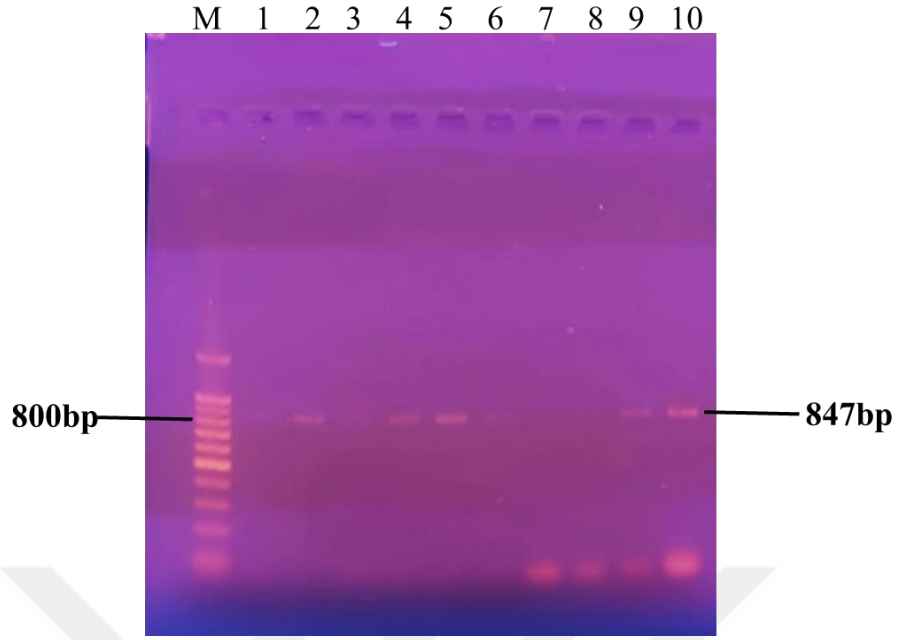
Şekil 10. *bla*_{CTX-M1} geninin agaroz jel elektroforez görüntüsü. M: DNA marker, 1: E240, 2: E241, 3: E244, 4: E247, 5: E248, 6: K81, 7: K84, 8: K85, 9: K90



Şekil 11. *bla*_{CTX-M1} geninin agaroz jel elektroforez görüntüsü. M: DNA marker, 1: E274, 2: E277, 3: E278, 4: E279, 5: K131

2.3.5.3. *bla*_{TEM} Geninin PZR ile Araştırılması

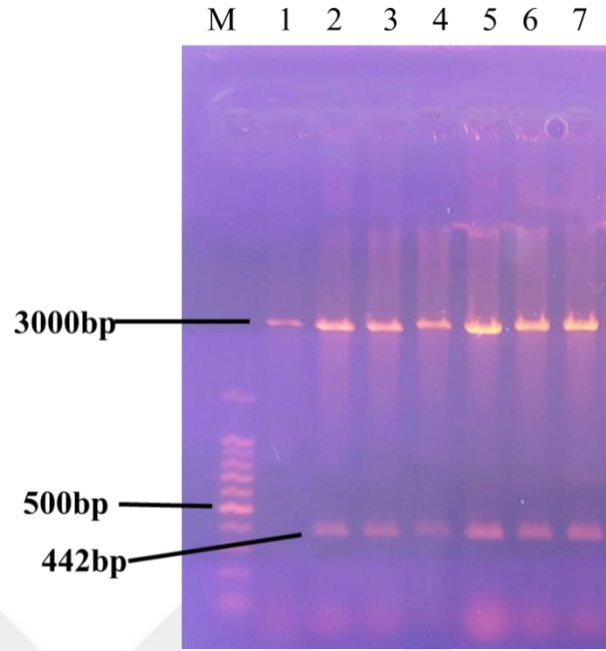
50 *E. coli*, 47 *K. pneumoniae* izolatında *bla*_{TEM} genlerine uyumlu primer çifti kullanılarak yapılan PZR sonucunda *E. coli*'nin 250, 254, 255, 259, 261, 262, 276, 282, 283 no'lu izolatlarında ve *K. pneumoniae*'nin 118 no'lu izolatında 847bp büyüklüğünde PZR ürünü elde edildi (Şekil 12).



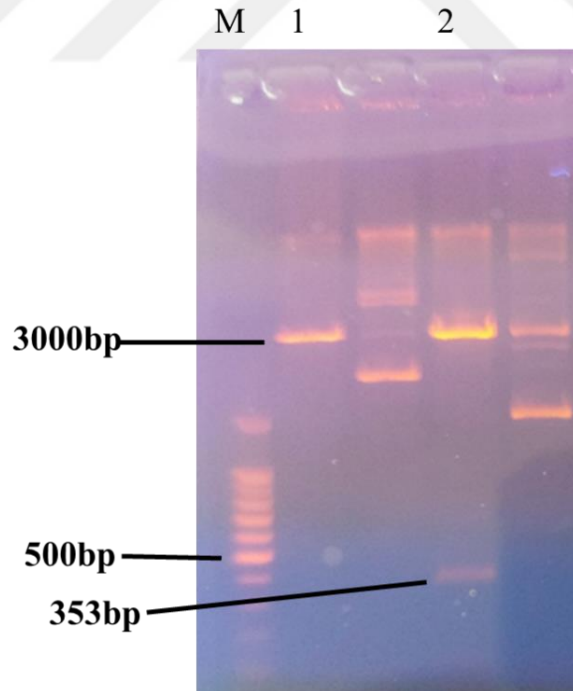
Şekil 12. *bla*_{TEM} geninin agaroz jel elektroforez görüntüsü. M: DNA marker, 1: E250, 2: E254, 3: E255, 4: E259, 5: E261, 6: E262, 7: E276, 8: E282, 9: E283, 10: K118

2.3.6. Direnç Genlerinin Klonlanması

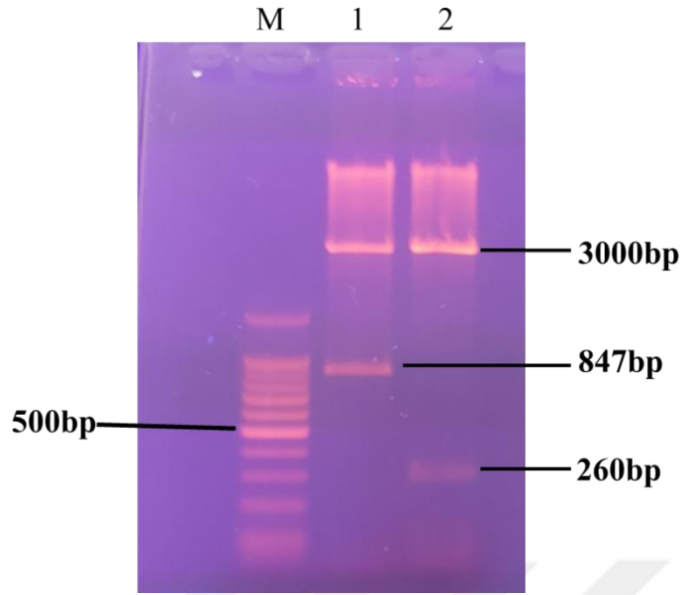
PZR’da spesifik primerler ile çoğaltılan genler pGEM-T/Easy vektörüne aktarılmış, PZR ürününü taşıyan pGEM-T/Easy vektörü, *E. coli* DH5- α kompetent hücrelerine transforme edilerek klonlama çalışmaları yapılmıştır. Transformasyonun ardından plazmid izolasyonu yapılmış ve EcoRI ile kesim sonucu pozitif çıkanlar kayda alınmıştır. Kesim sonucunda *K. pneumoniae* K108’e ait *bla*_{OXA-48} (Şekil 13), *E. coli* E265’e ait *bla*_{OXA-51} (Şekil 14), *E. coli* E254’e ait *bla*_{TEM} (Şekil 15), *K. pneumoniae* K84’e ait *bla*_{CTX-M1} (Şekil 15) direnç genleri pozitif çıkmıştır.



Şekil 13. *EcoRI* ile kesilen K108 izolatına ait pGEM-T Easy+*bla*_{OXA-48} klonunun agaroz jel elektroforez görüntüsü. M: DNA marker, 1: Lineer pGEM-T Easy, 2-7: pGEM-T Easy+ *bla*_{OXA-48}'in *EcoRI* ile kesimi



Şekil 14. *EcoRI* ile kesilen E265 izolatına ait pGEM-T Easy+*bla*_{OXA-51} klonunun agaroz jel elektroforez görüntüsü. M: DNA marker, 1: Lineer pGEM-T Easy, 2: pGEM-T Easy+ *bla*_{OXA-51} klonunun *EcoRI* ile kesimi



Şekil 15. *EcoRI* ile kesilen E254 izolatına ait pGEM-T Easy+*bla*_{TEM} klonunun ve K84 izolatına ait pGEM-T Easy+*bla*_{CTX-M1} klonunun agaroz jel elektroforez görüntüsü. M: DNA marker, 1: pGEM-T Easy+ *bla*_{TEM} klonunun *EcoRI* ile kesimi, 2: pGEM-T Easy+ *bla*_{CTX-M1} klonunun *EcoRI* ile kesimi

2.3.7. Direnç Geni Saptanan İzolatların Antibiyotik Direnç Profilleri

PZR çalışmaları sonucunda 97 izolat içinden 9 (%18) *E. coli* ve 5 (%10,6) *K. pneumoniae* olmak üzere toplam 14 (%14,4) *bla*_{CTX-M1}, 9 (%18) *E. coli* ve 1 (%2,1) *K. pneumoniae* toplamında 10 (%10,3) *bla*_{TEM}, son olarak 1 (%2) *E. coli* ve 5 (%10,6) *K. pneumoniae* olmak üzere toplamda 6 (%6,1) *bla*_{OXA} direnç geni varlığı tespit edilmiş ve tablo 13'te belirtildiği gibi bu izolatların antibiyotik duyarlılık testi sonucunda ampisilin, sefuroksim, sefuroksim aksetil, seftriakson, trimetoprim/ sülfametaksazol, seftazidin, siprofloksasin, piperasilin /tazobaktam antibiyotiklerine karşı yüksek oranda dirençli olduğu belirlenmiştir.

Sıvı dilüsyon testleri sonucunda tespit edilen çoklu direnç profillerini gösteren veriler tablo 14'te verilmiştir.

Tablo 13. *bla*_{CTX-M1}, *bla*_{TEM} ve *bla*_{OXA} pozitif direnç genlerinin dirençli oldukları antibiyotikler

Direnç genleri	Bakteriler	Tür bazında sayı-yüzdesi	Toplamda sayı-yüzdesi	Dirençli oldukları antibiyotikler
<i>bla</i> _{CTX-M1}	E240, E241, E244, E247, E248, E274, E277, E278, E279	9 (%18)	14 (%14,4)	Ampisilin, Sefuroksim, Seftriakson, Trimetoprim/Sülfametaksazol, Sefuroksim Aksetil,
	K81, K84, K85, K90, K131	5 (%10,6)		
<i>bla</i> _{TEM}	E250, E254, E255, E259, E261, E262, E276, E282, E283	9 (%18)	10 (%10,3)	Ampisilin, Sefuroksim, Sefuroksim Aksetil, Seftazidin, Seftriakson, Siprofloksasin
	K118	1 (%2,1)		
<i>bla</i> _{OXA51}	E265	1 (%2)	6 (%6,1)	Ampisilin, Piperasilin Tazobaktam, Sefuroksim, Sefuroksim Aksetil, Siprofloksasin,
	K99, K101, K103, K108, K126	5 (%10,6)		Trimetoprim/Sülfametaksazol
<i>bla</i> _{OXA48}				

E: *Escherichia coli*, K: *Klebsiella pneumoniae*

Tablo 14. *E. coli* ve *K. pneumoniae* suşlarının çoklu antibiyotik direnç profilleri

Antibiyotik Direnç Profili							
<i>E. coli</i> Suş No	Direnç Genleri	Sıvı Dilüsyon Metodunda Direnç	Direnç Sayısı	<i>K. pneumoniae</i> Suş No	Direnç Genleri	Sıvı Dilüsyon Metodunda Direnç	Direnç Sayısı
E240	<i>bla</i> _{CTX-M1}	AM, PTZ, CXM, CXA, CFM, CAZ, CRO, CIP, FF	9	K81	<i>bla</i> _{CTX-M1}	AM, TPZ, CXM, CXA, CFM, CRO, CIP, FF, F, SXT	10
E241	<i>bla</i> _{CTX-M1}	AM, PTZ, CXM, CXA, CFM, CRO, CIP	7	K84	<i>bla</i> _{CTX-M1}	AM, CXM, CXA, CFM, CRO, CIP, SXT	7
E244	<i>bla</i> _{CTX-M1}	AM, CXM, CXA, CFM, CAZ, CRO, CN, CIP	8	K85	<i>bla</i> _{CTX-M1}	AM, CXM, CXA, CFM, CRO, FF, SXT	7
E247	<i>bla</i> _{CTX-M1}	AM, CXM, CXA, CFM, CAZ, CRO	6	K90	<i>bla</i> _{CTX-M1}	AM, TPZ, CXM, CXA, CRO, FEP, CN, CIP, SXT	9
E248	<i>bla</i> _{CTX-M1}	AM, CXM, CXA, CFM, CRO	5	K99	<i>bla</i> _{OXA48}	CIP, LEV, SXT	3
E250	<i>bla</i> _{TEM}	AM, PTZ, CXM, CXA, CFM, CAZ, CRO, CIP	8	K101	<i>bla</i> _{OXA48}	AM, TPZ, CXM, CXA, CFM, CRO, CIP, FF, SXT	9
E254	<i>bla</i> _{TEM}	AM, PTZ, CXM, CXA, CFM, CAZ, CRO, CIP, FF	9	K103	<i>bla</i> _{OXA48}	AM, TPZ, CXM, CXA, FOX, CRO, FEP, ETP, CIP, SXT	10
E255	<i>bla</i> _{TEM}	AM, CXM, CXA, CFM, CAZ, CRO, CN, CIP	8	K108	<i>bla</i> _{OXA48}	AM, TPZ, CXM, CXA, FOX, CFM, CRO, ETP, MEM, CIP, F	11
E259	<i>bla</i> _{TEM}	AM, CXM, CXA, FOX, CAZ, CRO, ETP	7	K118	<i>bla</i> _{TEM}	AM, TPZ, CXM, CXA, FOX, CFM, CRO, CIP, FF, F, SXT	11
E261	<i>bla</i> _{TEM}	AM, CXM, CXA, FOX, CFM, CAZ, CRO, ETP, CN, CIP	10	K126	<i>bla</i> _{OXA48}	AM, TPZ, CXM, CXA, FOX, CRO, FEP, ETP, CIP, SXT	10
E262	<i>bla</i> _{TEM}	AM, CXM, CXA, FOX, CFM, CAZ, CRO, ETP	8	K131	<i>bla</i> _{CTX-M1}	AM, CXM, CXA, CRO, FEP, CN, SXT	7
E265	<i>bla</i> _{OXA51}	AM, PTZ, CXM, CXA, FOX, CFM, CAZ, CRO, ETP	9				

Tablo 15 (Devam). *E. coli* ve *K. pneumoniae* suşlarının çoklu antibiyotik direnç profilleri

E274	<i>bla</i>_{CTX-M1}	AM, CXM, CXA, CFM, CAZ, CRO	6
E276	<i>bla</i>_{TEM}	AM, CXM, CXA, CFM, CAZ, CRO, CN, CIP	8
E277	<i>bla</i>_{CTX-M1}	AM, CXM, CXA, CFM, CAZ, CRO, CN, CIP	8
E278	<i>bla</i>_{CTX-M1}	AM, CXM, CXA, CFM, CAZ, CRO, CIP	7
E279	<i>bla</i>_{CTX-M1}	AM, CXM, CXA, FOX, CAZ, CRO, ETP	7
E282	<i>bla</i>_{TEM}	AM, CXM, CXA, CFM, CAZ, CRO, CIP	7
E283	<i>bla</i>_{TEM}	AM, PTZ, CXM, CXA, CFM, CAZ, CRO, CIP	8

3. TARTIŞMA, SONUÇ VE ÖNERİLER

3.1. Tartışma ve Sonuç

Bu tez çalışmasında, Trabzon Fatih Devlet Hastanesi'nden izolasyonu yapılan 50 *E. coli* ve 47 *Klebsiella pneumoniae* izolatlarında beta-laktamaz kodlayan genlerinin, metallo beta-laktamaz kodlayan genlerinin, kinolon direnç genlerinin, fosfomisin direnç genlerinin ve karbapenemaz direnç genlerinin, *murA*, *uhpT* ve *glpT* direnç genlerinin varlığı moleküler yöntemlerle araştırılmıştır.

Türkiye'de yüksek oranda antibiyotik kullanılmaktadır. Antibiyotik kullanımı ve antibiyotik duyarlılıkları hakkında bilgi eksikliği, yüksek derecede antibiyotik direncine yol açmaktadır. Dünya Sağlık Örgütü (DSÖ) tarafından bildirilen raporda Avrupa bölgesinde Türkiye'nin kişi başına antibiyotik tüketiminin en yüksek olduğu ülke olarak bilinmektedir (Torumkuney vd., 2022). Reçetesiz antibiyotiklerle kendi kendine ilaç tedavisi, özellikle düşük ve orta gelirli ülkelerde endişe verici bir sorundur (Ocan vd., 2015; Adriaenssens vd., 2011; Mölsted vd., 2002).

Ülke genelinde hazırlanan "Akılcı İlaç Kullanımı Ulusal Eylem Planı" gibi hükümet müdahaleleri, antibiyotik reçeteleme uygulamalarının düzenlenmesinde ve izlenmesinde en önemli rolü oynarken, politik müdahaleler yoluyla insanların kendi kendine ilaç tedavisi yapma alışkanlığını önlemek oldukça zordur (Aksoy vd., 2021; Rational Drug Use National Action Plan, 2021). Antibiyotik kullanarak kendi kendine ilaç tedavisi, eczaneden reçetesiz alınan antibiyotikler ya da bir arkadaş veya aile üyesinden alınan antibiyotikler, çoğunlukla insanların bilgi eksikliğini, yanlış inançlarını ve "her şeyin tedavisi" için antibiyotiklere aşırı olumlu tutumlarını yansıtan gizli bir davranış problemidir (Ocan vd., 2015).

Gaygısız ve arkadaşları tarafından antibiyotikler ve antimikrobiyal direnç hakkındaki bilgi ve inançlar, antibiyotik kullanımına karşı olumlu ve olumsuz tutumlar, sağlık kaygısı ve antibiyotik kullanımını etkileyen olası faktörlerin istatistik analizleri incelenmiştir (Gaygısız vd., 2021). Çalışmaya katılanların %34,2'si geçerli bir reçete olmadan ya internetten ya da bir arkadaşından antibiyotikleri aldıklarını belirtmiştir. Mevcut çalışma, katılımcıların büyük çoğunluğunun (%80,4) antibiyotiklerin bakteriyel hastalıkların tedavisinde kullanıldığını bildiklerini göstermiştir. Katılımcıların yaklaşık yarısı (%51,4) antimikrobisallerin viral hastalıklara karşı kullanıldığını, %48,6'sı antibiyotiklerin her türlü mikrobiyal

enfeksiyonu tedavi ettiğini belirtmişlerdir. Sobek ve ark., Michigan, yaptığı bir istatistiki çalışmada ABD'de yaşayan katılımcıların % 35'inin antibiyotiklerin soğuk algınlığı ve gripi iyileştirdiğine, % 57'sinin ise antibiyotiklerin viral enfeksiyonları tedavi ettiğine inandığını bildirmiştir (Sobeck vd., 2021). Viral enfeksiyonlar için antibiyotik kullanımı, hastalıkların etiyolojisi hakkında bilgi eksikliğine ve antibiyotiklerin etkilerinin yanlış anlaşılmasına dayandığını düşündürmektedir. Antibiyotiklerin yanlış kullanım nedeni ne olursa olsun, bu bulgular gösteriyor ki; üst solunum yolu enfeksiyonları, soğuk algınlığı ve grip için antibiyotiklerle kendi kendine ilaç tedavisi antibiyotik kötüye kullanımının en yaygın şeklidir. Özellikle viral hastalıklar için antibiyotiklerin yanlış kullanımı ile ilgili eğitim çalışmalarına ve kampanyalara öncelik verilmelidir (Thong vd., 2021; Thorpe vd., 2021).

Bakteriyel beta-laktamaz genleri, özellikle genişlemiş spektrumlu beta-laktamaz (GSBL) genleri, beta-laktam antibiyotiklere direnci artıran etkili faktörler arasındadır. GSBL üreten bakteriler son yıllarda birçok sağlık sorunu yaratmıştır ve klinik mikrobiyoloji laboratuvarlarında bu bakterileri saptamak için yeni yöntemlere ihtiyaç duyulmaktadır (Cavallo vd., 2001; Rupp vd., 2003). GSBL fenotipik tespiti, GSBL üreten izolatlar ile diğer beta-laktam antibiyotik direnci mekanizmalarını kullanan izolatlar arasında ayırım yapmak için uygun bir yöntemdir (Pitout vd., 2004).

Son yıllarda *Enterobacteriaceae* türleri arasında giderek artan antimikrobiyal direnç nedeniyle tedavide sorunlar yaşanmaktadır. Özellikle *E. coli* ve *Klebsiella* suşlarında GSBL aktivitesinin arttığı gözlenmektedir (Tenover vd., 2009). Bu çalışmada analiz edilen örneklerin çoğunun idrar yolu enfeksiyonu olan hastalarda yüksek oranda GSBL üreten *E. coli* ve *Klebsiella pneumonia* izolatları olduğu belirlendi. Bu izolatların Piperasilin-Tazobaktam (geniş spektrumlu bir beta-laktamaz) duyarlı olduğu tespit edildi. *E. coli* ve *Klebsiella pneumonia* izolatlarında GSBL üretiminin yaygınlığı (prevalansı) çeşitli ülkelerde farklıdır; örneğin Kore'de bu organizmaların yaygınlığı *E. coli* için %4,8-7,5 ve *Klebsiella pneumonia* için %22,5-22,8'dir. Hindistan'da GSBL üretim sıklığı *E. coli* için %34,2, *Klebsiella pneumonia* için ise %27,3'dir (Akram vd., 2007). Bu çalışmada ise *E. coli* suşları için %36, *Klebsiella* suşları için %12,7 GSBL pozitifliği tespit edilmiştir. Ülkemizde yapılan çalışmalarda bu oranların daha yüksek olduğu bildirilmektedir. Güzel ve ark.

E. coli suşlarının %38'inde, *Klebsiella* suşlarının ise %32'sinde GSBL pozitifliği saptamışlardır (Güzel vd., 2008). Topkaya ve ark. (2018), kan kültürlerinde üreyen *Enterobacteriaceae* (*E. coli* ve *K. pneumoniae*) izolatlarında GSBL sıklığını %54 olarak saptamışlardır (Topkaya vd., 2018). Sah ve ark. (2021) yaptığı çalışmada *E. coli* suşlarının %27,4'ünün GSBL pozitif olduğunu belirlemişlerdir. Bu organizmada önceki çalışmalara göre daha yüksek GSBL oranının tespit edilmesi yıllar içinde artan enfeksiyonların ve antimikrobiyal direncin etkisinden kaynaklanabileceği belirtilmektedir. Ayrıca bu çalışmada artan nüfusun, kendi kendine ilaç tedavisi uygulamalarının, standart altı kalitede antibiyotik dağılımının, zayıf enfeksiyon kontrolünün, sanitasyon ve hijyen uygulamalarının dirençli patojenlerin hız kesmeden yayılmasını sağlayan mekanizmalar olduğu dile getirilmektedir (Sah vd., 2021).

Bu çalışmada, antibiyotik duyarlılık testi için 24 farklı antibiyotik kullanılmıştır. *E. coli* ve *Klebsiella pneumoniae* izolatları ampicilin (%100), sefuroksim (%100) ve sefuroksim aksetil (%100) antibiyotiklerine en yüksek direnci gösterirken amikasin (%100) bu bakterilere karşı en etkili antibiyotik olarak bulunmuştur. Sefuroksim ve sefuroksim aksetil antibiyotiklerine direncin yüksek olması genişlemiş spektrumlu beta-laktamaz üretiminden kaynaklanabilir (Rawat, 2010). Akyıldız ve ark. (2020) yaptıkları çalışmada *E. coli* izolatlarında en yüksek direncin sefuroksim aksetil (%75) antibiyotiğine karşı olduğu tespit etmiştir. Gurung ve ark. (2020) idrar örneklerinden izole edilen *E. coli* ve *Klebsiella pneumoniae* suşlarında en yüksek antibiyotik direncinin sırasıyla %67 ve %83,3 oranında ampiciline karşı olduğunu belirlemişlerdir.

Çoklu ilaç direncini (ÇİD) içeren antimikrobiyal direnç (AMD), küresel bir sorundur. Antimikrobiyal direncin etkisi farklı ülkeler arasında özellikle gelişmekte olan ülkelerde değişiklik gösterir (Pokharel vd, 2019). Üstelik çoklu ilaca dirençli patojenlerin genellikle tedavisi zordur ve nozokomiyal orijinlidirler (Mishra vd., 2014). AMD, üropatojenlerin kontrolünde büyük bir tehdit oluşturmaktadır (Tankhiwale vd., 2004; Akram vd., 2007; Hasan vd., 2007). Bu çalışmadaki izolatlardan *E. coli* %42 ve *Klebsiella pneumoniae* %42,5 olmak üzere %40'tan fazlasının çoklu ilaç direnci gösterdiği bulunmuştur. Carvalho ve ark. (2021) kan kültürlerinden elde edilen GSBL üreten toplam 22 *Klebsiella pneumoniae* izolatının çoklu ilaç direncine sahip olduğunu bildirmişlerdir.

Enterobacteriaceae ailesi hem toplum hem de nozokomiyal kaynaklı enfeksiyonların (solunum sistemi, üriner sistem ve primer kan dolaşımı enfeksiyonları gibi) en önemli etkenlerindendir. *Enterobacteriaceae* üyeleri, antibiyotiklerin seçici baskısından ve genetik madde aktarımından dolayı çoklu direnç özelliği kazanmışlardır (Gülay, 2005). Antibiyotiklere karşı dirençli olmaları enfeksiyonların tedavisinde yaşanan en önemli sorunlardan biridir.

Genişlemiş spektrumlu beta-laktamazlar (*bla_{SHV}*, *bla_{TEM}*, *bla_{CTX-M1}*), *Enterobacteriaceae*'de beta-laktam antibiyotik direncinden sorumlu olan birincil mekanizma olarak kabul edilir (Bradford, 2001; Peirano ve Pitout, 2019). GSBL'lar (*bla_{TEM}*, *bla_{CTX-M1}*) bu çalışmada da belirlenmiştir. Özellikle beta laktam grubu antibiyotiklere karşı direncin yanı sıra karbapenem grubu antibiyotiklere de direncin artmasıyla birlikte tedavide de sorunlar artmaktadır (Gür, 1997).

Karbapeneme dirençli bakterilerle gelişen enfeksiyonların tedavisinde tigesiklin, polimiksin, aminoglikozitler ve fosfomisin gibi antimikrobiyaller kullanılmaktadır; ancak bu moleküllerin farmakokinetik özellikleri, toksisiteleri ve gelişen direnç problemleri nedeniyle uygulanmasında kısıtlılıklar yaşanmaktadır. Bu nedenle Enterobacterales ailesi üyelerinde gözlenen artan karbapenem direnci tüm dünyada ciddi kaygılar uyandırmaktadır ve gelişen direncin nedenlerini belirlemek giderek önem kazanmaktadır (Liu vd., 2016; Rhouma vd., 2016; Poirel vd., 2016). Bu nedenle çalışmaya aldığımız bakterilerde karbapenem (ertapenem) direnci olan isolatlar bulunmuş ve yapılan incelemeler sonucunda *E. coli* isolatlarının 13 (%26)'ünde ve *Klebsiella pneumoniae* isolatlarının 10 (%22,2)'unda fenotipik olarak karbapenem (ertapenem) direnci belirlenmiştir. Direnç nedenlerini incelediğimizde 5 (%10,6) *Klebsiella pneumoniae* izolanda *bla_{OXA-48}* direnç geninin ve 1 (%2) *E. coli* izolanda ise *bla_{OXA-51}* direnç geninin varlığı tespit edilmiştir. OXA-48 enzimi karbapenemaz enzimlerinden en yaygın olanıdır ve tipik olarak *Klebsiella pneumoniae*'da bulunur (Smith ve Kendall, 2021). Ülkemizde yaygın olarak tespit edilen *bla_{OXA-48}* geni bizim çalışmamızda da en sık rastlanan gen olmuştur.

OXA-48 benzeri enzimler, hem karbapenem hem de geniş spektrumlu sefalosporinler için zayıf hidrolitik aktiviteye sahiptir. Bu durum tanı işlemlerinde onların tespitini zorlaştırarak tedavi seçenlerini daraltmaktadır (Poirel vd., 2021).

Ülkemizde karbapenemaz enzimlerinin birçoğu bildirilmiş olmakla birlikte; ilk kez 2001 yılında tanımlanan OXA-48 enzimi uzun yıllar ülkemize özgü bir enzim olarak belirtilmiş, ancak 2008 yılından itibaren birçok ülkede saptanmaya başlanmıştır (Poirel vd. 2004; Potron vd., 2013). *bla*_{OXA-51} benzeri genlerin, yalnızca kromozomal olarak kodlandığı kabul edilmektedir ve özellikle *Acinetobacter* türleri için birçok araştırmacı tarafından tür tanımlaması ve suş tiplendirmesi için kullanılmaktadır (Patel ve Bonomo, 2011; Heritier vd., 2005; Merkier ve Centron, 2006). Son yapılan çalışmalar *bla*_{OXA-51} benzeri genler konjugatif plazmidler aracılığıyla diğer *Acinetobacter* spp. türlerine aktarıldığı tespit edilmiştir (Chen vd., 2010; Lee vd., 2012).

Leski ve ark. (2013), *Klebsiella pneumoniae* ve *E. coli*'de *bla*_{OXA-51} benzeri gen tespit etmeleri bu genin artık *Acinetobacter* türlerini tanımlamak için kullanılabilecek genetik belirteç olamayacağını göstermiştir. Bizim çalışmamızda da 1 (%2) *E. coli* izolatında *bla*_{OXA-51} tespit edilmiştir. Çalışmamız gösteriyor ki 'konjugatif plazmitler', direnç genlerinin yayılmasına yol açan patojenlerdeki direnç aktarımına güçlü bir şekilde katkıda bulunabilir. Direnç sorunuyla mücadele etmek için, özellikle karbapenem dirençli bakterilerin neden olduğu enfeksiyonları tedavi etmek için alternatif terapötik seçeneklere başvurulmalıdır.

Karbapenemaz enzimlerinin üretimi, efluks pompalarının aşırı ekspresyonu, porin kaybı ve penisilin bağlanma proteinlerindeki değişimler Gram negatif bakterilerde karbapenem direncinden sorumlu önemli faktörlerdir (Papp-Wallac vd., 2011). Karbapenem direnci saptanmış ancak herhangi bir direnç gen varlığına rastlanamayan 12 *E. coli* suşunda ve 7 *Klebsiella pneumoniae* suşunda karbapenem direncinden sorumlu mekanizmadaki porin kaybının yanı sıra GSBL ya da yüksek düzeyde AmpC varlığından kaynaklandığı düşünülmektedir.

E. coli, idrar yolu enfeksiyonlarının en yaygın nedenidir. *E. coli*'de beta-laktam antibiyotiklere karşı en yaygın direnç mekanizması beta-laktamaz üretimidir (Bradford, 2001). TEM ve CTX-M sınıf A genişlemiş spektrumlu beta laktamazlardır. CTX-M enzimlerinin TEM'e sadece %40 benzerliği vardır (Eckert, 2004). TEM beta-laktamazlar 1980'lerden bu yana nozokomiyal patojenler arasında en yaygın olan GSBL türleridir (Pitout, 2005). Bugün çoğu GSBL olan 100'den fazla TEM türe

bilinmektedir. TEM beta-laktamazların aksine CTX-M beta-laktamazların önemi son yıllarda artmıştır (Eisner vd., 2006; Paterson and Bonomo, 2005).

CTX-M tipi beta laktamazlar, 1995'ten başlayarak Avrupa, Asya, Kuzey Amerika ve Güney Amerika gibi dünyanın birçok yerinde önemli ölçüde artmaya başlamıştır

(Pitout, 2005). Yaptığımız bu çalışmada CTX-M1 en yaygın (%14,4) GSBL olarak bulundu, bunu %10,3 ile TEM beta laktamaz takip etmektedir. İtalya'da yapılan bir çalışmada GSBL üreten *E. coli* suşlarında TEM enzimine kıyasla CTX-M1 enzimlerinin daha yaygın olduğu bildirilmiştir (Aschbacher, 2008). Benzer olarak İspanya'da yapılan çalışmada *E. coli*'den izole edilen en yaygın GSBL'lerin CTX-M enzimleri olduğu gösterilmiştir (Rodríguez-Bano, 2004). Başka bir çalışmada ise idrardan izole edilen CTX-M pozitif *E. coli* izolatlarının %41'inin daha önce hastaneye yatış öyküsü olmayan hastalardan elde edildiği belirtilmiştir (Bou, 2002). Türkiye'de 2004-2005 yılları arasında yapılan bir çalışmada CTX-M tipi GSBL'lerin oranı %71,4 olarak belirlendi. Cicek ve ark. (2013) Türkiye'nin 10 ilinden topladıkları GSBL pozitif *E. coli* izolatlarında CTX-M1'in %83.18 oranı ile en yaygın beta laktamaz olduğunu tespit etmişlerdir. Bu bölgelerde yaşayan insanların sosyoekonomik geçmişlerinin bu yaygınlığı etkileyen durumlar üzerinde etkili olabileceği belirtilmektedir (Cicek vd, 2013). Çalışmamızdaki yüksek CTX-M oranı, ülkemizde ve tüm dünyada CTX-M tipi beta laktamazların artış oranı ile tutarlılık göstermektedir.

Bu tez çalışması ile *E. coli* ve *K. pneumoniae* klinik izolatlarında antibiyotik direnç genlerinin moleküler karakterizasyonu gerçekleştirilmiştir. Sonuç olarak TEM, CTX-M ve OXA beta laktamazlarının varlığı GSBL üreten *E. coli* ve *K. pneumoniae*'da penisilin ve genişlemiş spektrumlu sefalosporinlerle bağlantılıdır. Üriner sistem enfeksiyonlarına neden olan GSBL üreten *E. coli* ve *K. pneumoniae* izolatlarının acilen enfeksiyon kontrol önlemlerine ihtiyacı vardır.

3.2. Öneriler

Bu çalışma, klinik *E. coli* ve *K. pneumoniae* izolatları arasında β -laktam antimikrobiyal direncinden sorumlu olan GSBL genleri hakkında önemli güncel bilgiler sunmaktadır. Çevresel seçici baskıya uyum sağlayarak antibiyotiklere dirençli *E. coli* ve *K. pneumoniae* suşları dünya çapında hızlı bir şekilde yayılmaktadır. *E. coli* ve *K. pneumoniae*'da β -laktam direncinin oluşmasında en yaygın mekanizma β -

laktamazlarla enzimatik yıkımdır. Genişlemiş spektrumlu beta laktamazlar (TEM, CTX-M) ve sınıf D beta laktamazlar (OXA-48, OXA-51) bu klinik izolatlarda tanımlanmıştır. Bu bulgular dirençten sorumlu genlerin belirlenmesi ve tanımlanması için hem genotipik hem de fenotipik yöntemlerin gerekli olduğunu göstermektedir.

Türkiye’de hastane kökenli antibiyotik direncinin moleküler epidemiyolojisi ile ilgili çalışmalar yapılmaktadır ancak yeterli düzeyde değildir. Farklı hastanelerden dirençli izolatlar temin edilerek moleküler yöntemler kullanılarak antibiyotik direnç mekanizmaları belirlenebilir.



KAYNAKÇA

- Abraham, E.P. and Chain, E., 1940. An enzyme from bacteria able to destroy penicillin. *Reviews Infectious Diseases*, 10, 677-678.
- Adriaenssens, N., Coenen, S., Versporten, A., Muller, A., Minalu, G., Faes, C. ve Goossens, H. (2011). European Surveillance of Antimicrobial Consumption (ESAC): outpatient quinolone use in Europe (1997–2009). *Journal Of Antimicrobial Chemotherapy*, 66(suppl_6), vi47-vi56.
- Akram, M., Shahid, M., ve Khan, A. U. (2007). Etiology and antibiotic resistance patterns of community-acquired urinary tract infections in JNMC Hospital Aligarh, India. *Annals of Clinical Microbiology and Antimicrobials*, 6(1), 1-7.
- Aktuğlu, Y., Giriş ve Genel Bilgiler Ed: Aktuğlu Y. Pratikte Antibiyotik Kullanımı. s;11–53. Sempozyum Dizisi Yayın No: 1. 1997.
- Aksoy, M., Isli, F., Kadi, E., Varimli, D., Gursoz, H., Tolunay, T., Kara, A., Unal, S., ve Alp Mese, E. (2021). Evaluation of more than one billion outpatient prescriptions and eight-year trend showing a remarkable reduction in antibiotic prescription in Turkey: A success model of governmental interventions at national level. *Pharmacoepidemiology and Drug Safety*, 30(9), 1242-1249.
- Akyıldız, E., Saral, A., Köse, T. ve Düzgün, A. Ö. (2020). Klinik *E. coli* İzolatlarında Virülans Faktör Genlerinin ve Genişlemiş Spektrumlu Beta Laktamazların Araştırılması. *Gümüşhane Üniversitesi Fen Bilimleri Dergisi*, 10(1), 122-127.
- Alanis, A.J. (2005). Resistance to antibiotics: are we in the post-antibiotic era?. *Archives of Medical Research*, 36(6), 697-705. Arcmed.2005.06.009
- Al-Bayssari, C., Dabboussi, F., Hamze, M. ve Rolain, J. M. (2015). Detection of expanded-spectrum β -lactamases in Gram-negative bacteria in the 21st century. *Expert Review Of Anti-infective Therapy*, 13(9), 1139–1158. <https://doi.org/10.1586/14787210.2015.1066247>
- Alby, K., Miller, M.B., 2018. Mechanisms and Detection of Antimicrobial Resistance. *Principles and Practice of Pediatric Infectious Diseases (Fifth Edition)* Elsevier Inc., pp. 1467-1478.e4.
- Allen H. K. (2014). Antibiotic resistance gene discovery in food-producing animals. *Current opinion in microbiology*, 19, 25–29.
- Ambler R. P. (1980). The structure of beta-lactamases. *Philosophical transactions of the Royal Society of London. Series B, Biological sciences*, 289(1036), 321–331. <https://doi.org/10.1098/rstb.1980.0049>
- Araki, Y., Shimada, A., ve Ito, E. (1966). Effect of penicillin on cell wall mucopeptide synthesis in a *Escherichia coli* particulate system. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 23(4), 518–525.

- Archibald, L., Phillips, L., Monnet, D., McGowan, J. E., Jr, Tenover, F., ve Gaynes, R. (1997). Antimicrobial resistance in isolates from inpatients and outpatients in the United States: increasing importance of the intensive care unit. *Clinical Infectious Diseases: An Official Publication Of The Infectious Diseases Society of America*, 24(2), 211–215. <https://doi.org/10.1093/clinids/24.2.211>
- Arda, M. (1978) : Genel Bakteriyoloji A.Ü. Vet. Fak. Yayın No: 342. Ders kitapları. 242, Ankara Üni. Basımevi, Ankara.
- Aschbacher, R., Doumith, M., Livermore, D. M., Larcher, C., ve Woodford, N. (2008). Linkage of acquired quinolone resistance (qnrS1) and metallo- β -lactamase (bla VIM-1) genes in multiple species of Enterobacteriaceae from Bolzano, Italy. *Journal Of Antimicrobial Chemotherapy*, 61(3), 515-523.
- Aykan, Ş.B. ve Çiftci, İ.H. (2013). Türkiye’de idrar kültürlerinden izole edilen *Escherichia coli* suşlarının antibiyotiklere direnç durumu: Bir meta-analiz. *Mikrobiyoloji Bülteni*, 47(4), 603-618.
- Babic, M., Hujer, A. M., ve Bonomo, R. A. (2006). What's new in antibiotic resistance? Focus on beta-lactamases. *Drug Resistance Updates: Reviews And Commentaries In Antimicrobial And Anticancer Chemotherapy*, 9(3), 142–156.
- Bakthavatchalam, Y. D., Anandan, S., & Veeraraghavan, B. (2016). Laboratory Detection and Clinical Implication of Oxacillinase-48 like Carbapenemase: The Hidden Threat. *Journal Of Global Infectious Diseases*, 8(1), 41–50.
- Baron Ej., Peterson Lr., Finegold Sm. (1994). Enterobacteriaceae. *Bailey & Scott's Diagnostic Microbiology. 9th edition*; 362-387.
- Baykal, M., Akalın, H.E. (1989) Aztreonam. Editör: Akalın HE. Antibiyotikler, 1. baskı, Ankara: Özyurt matbaası, s.73-78.
- Bayram, Y., Eren, H. ve Berktaş, M. (2011). İdrar Örneklerinden İzole Edilen Bakteriyel Patojenlerin Dağılımı ve GSBL Pozitif ve Negatif *Escherichia coli* Suşlarının Fosfomisin ve Diğer Antimikrobiyallere Duyarlılık Paterni. *Ankem Derg*, 25(4), 232-236. doi:10.5222/ankem.2011.232
- Bektaş, A., Güdücüoğlu, H., Gürsoy, N.C., Berktaş, M., Gültepe, B.S., Parlak, M., Otlı, B. ve Tekeroğlu, M.S., (2018). Genişlemiş Spektrumlu Beta-Laktamaz (GSBL) Üreten *Escherichia Coli* ve *Klebsiella Pneumoniae* Suşlarının GSBL Genlerinin Araştırılması, *Flora*, 23, 3, 116-123.
- Bell, C., Kyriakides, A. (2002). Pathogenic *Escherichia coli* In: Foodborne Pathogens, Hazard, Risk Analysis And Control, Crc Press, Washington, 279-306.
- Benzerara, Y., Gallah, S., Hommeril, B., Genel, N., Decré, D., Rottman, M. ve Arlet, G. (2017). Emergence of Plasmid-Mediated Fosfomycin-Resistance Genes among *Escherichia coli* Isolates, France. *Emerging Infectious Diseases*, 23(9), 1564–1567.

- Berkiten, R. (2005). *Escherichia*. Tıbbi Mikrobiyoloji. Editör: Bozkaya, 2. Baskı. Nobel Tıp Kitabevi. Ankara: s. 65-69.
- Bilgehan, H. (2000). “*Escherichia*” Özel Bakteriyoloji ve Bakteri Enfeksiyonları, Barış yayınları, 10. baskı: s. 3-17a.
- Bilgehan, H. (2002). Klinik Mikrobiyolojik Tanı, Barış Yayınları, 3. Baskı, İzmir, Türkiye: s. 427-54.
- Bonomo, R. A., Burd, E. M., Conly, J., Limbago, B. M., Poirel, L., Segre, J. A. ve Westblade, L. F. (2018). Carbapenemase-Producing Organisms: A Global Scourge. *Clinical Infectious Diseases: An Official Publication of The Infectious Diseases Society of America*, 66(8), 1290–1297. <https://doi.org/10.1093/cid/cix893>.
- Bou, G., Cartelle, M., Tomas, M., Canle, D., Molina, F., Moure, R., Eiros J. M. ve Guerrero, A. (2002). Identification and broad dissemination of the CTX-M-14 β -lactamase in different *Escherichia coli* strains in the northwest area of Spain. *Journal of Clinical Microbiology*, 40(11), 4030-4036..
- Bozkaya, E. 2005. Tıbbi Mikrobiyoloji 2, “İstanbul Üniversitesi Tıp Fakültesi Temel ve Klinik Bilimler Ders Kitapları”, Nobel Tıp Kitabevleri, İstanbul, Türkiye: s. 65-8
- Bradford, P. A. (2001). Extended-spectrum β -lactamases in the 21st century: characterization, epidemiology and detection of this important resistance threat. *Clinical Microbiology Reviews*, 14(4), 933-951.
- Geo. F. Brooks, Morse, S. A., Brooks, G. F. ve Butel, J. S. (2004). *Jawetz, Melnick, & Adelberg's Medical Microbiology*. Lange Medical Books/McGraw-Hill, Medical Pub. Division.
- Bush, K. (2010). Bench-to-bedside review: the role of β -lactamases in antibiotic-resistant Gram-negative infections. *Critical Care*, 14(3), 1-8.
- Bush, K. ve Jacoby, G. A. (2010). Updated functional classification of beta-lactamases. *Antimicrobial agents and chemotherapy*, 54(3), 969–976. <https://doi.org/10.1128/AAC.01009-09>
- Bush, K., Jacoby, G.A. ve Medeiros, A. A. (1995). A functional classification scheme for beta-lactamases and its correlation with molecular structure. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 39(6), 1211–1233.
- Cabral J.P. (2010). Water microbiology. Bacterial pathogens and water. *International Journal of Environmental Research And Public Health*, 7(10), 3657–3703.
- Calbo, E. ve Garau, J. (2015). The changing epidemiology of hospital outbreaks due to ESBL-producing *Klebsiella pneumoniae*: the CTX-M-15 type consolidation. *Future Microbiology*, 10(6), 1063–1075.

- Carvalho, I., Chenouf, N. S., Carvalho, J. A., Castro, A. P., Silva, V., Capita, R. ve Poeta, P. (2021). Multidrug-resistant *Klebsiella pneumoniae* harboring extended spectrum β -lactamase encoding genes isolated from human septicemias. *PLoS One*, 16(5), e0250525.
- Cavallo, J. D., Leblanc, F., Fabre, R. ve Fourticq-Esqueöute, A. (2001). Survey of the antibiotic sensitivity of *Pseudomonas Aeruginosa* in France and the distribution of beta-lactam resistance mechanisms: the GERPB 1999 study. *Pathologie-biologie*, 49(7), 534-539.
- CDC. About Antimicrobial Resistance. (2018). Available from: www.cdc.gov. Archived from the original on 1 October 2017. Available from: <https://www.cdc.gov/drugresistance/about.html>. [Retrieved 2015 Oct 30].
- Chapman, J. S. (2003). Disinfectant resistance mechanisms, cross-resistance, and co-resistance. *International Biodeterioration and Biodegradation*, 51(4), 271-276.
- Chen, T., Lee, Y., Kuo, S., Hsueh, P., Chang, F., Siu, L., Ko, W. C. ve Fung, C. (2010). Emergence and distribution of plasmids bearing the blaOXA-51-like gene with an upstream ISAbal in carbapenem-resistant *Acinetobacter Baumannii* isolates in Taiwan. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 54(11), 4575-4581.
- Chong, Y., Ito, Y. ve Kamimura, T. (2011). Genetic evolution and clinical impact in extended-spectrum β -lactamase-producing *Escherichia coli* and *Klebsiella Pneumoniae*. *Infection, Genetics and Evolution: Journal of Molecular Epidemiology and Evolutionary Genetics In Infectious Diseases*, 11(7), 1499–1504. <https://doi.org/10.1016/j.meegid.2011.06.001>
- Chung, P. Y. (2016). The emerging problems of *Klebsiella pneumoniae* infections: carbapenem resistance and biofilm formation. *FEMS Microbiology Letters*, 363(20), fnw219.
- Cicek Copur, A., Saral, A., Ozad Duzgun, A., Yasar, E., Cizmeci, Z., Ozlem Balci, P. ve Sandalli, C. (2013). Nationwide study of *Escherichia coli* producing extended-spectrum β -lactamases TEM, SHV and CTX-M in Turkey. *The Journal of antibiotics*, 66(11), 647-650.
- Cicek, A.C., Saral, A., Duzgun, A.O., Cizmeci, Z., Kayman, T., Balci, P.Ö., Dal, T., Firat, M., Yazici, Y., Sancaktar, M., Ozgumus, O.B. ve Sandalli, C. (2013b). Screening of class 1 and class 2 integrons in clinical isolates of *Pseudomonas aeruginosa* collected from seven hospitals in Turkey: A Multicenter Study. *Open Journal of Medical Microbiology*, 3, 227-233.
- Coque, T. M., Baquero, F., & Canton, R. (2008). Increasing prevalence of ESBL-producing *Enterobacteriaceae* in Europe. *Euro surveillance: bulletin Europeen sur les maladies transmissibles = European communicable disease bulletin*, 13(47), 19044.

- Cruickshank, R., Duguid, J.P., Marmion, B.P., Swain, R.H.A., (1975). Medical Microbiology. 12th. (eds.) volume two. Logman Group Limited. U.K: p. 403-419.
- Çiftçi, A. ve Aksoy, A. (2015). Antibiyotiklere karşı oluşan direnç mekanizmaları. Türkiye Klinikleri Journal of Veterinary Sciences- Pharmacology and Toxicology - Special Topics, 1(2), 1-10.
- Dağlar, D., Ongüt, G., Oğünç, D., Ozhak Baysan, B., Demirbakan, H., Sepin Özen, N. ve Gültekin, M. (2010). Toplum kaynaklı üriner sistem enfeksiyonu etkeni *Escherichia coli* suşlarında GSBL enzim tiplerinin izoelektrik odaklama ve polimeraz zincir reaksiyonu yöntemleri ile araştırılması [Investigation of ESBL types in community acquired urinary *Escherichia coli* isolates by isoelectric focusing and polymerase chain reaction]. *Mikrobiyoloji Bulteni*, 44(3), 367–374.
- Dağlar, D. ve Öngüt, G. (2012). Genişlemiş Spektrumlu Beta-Laktamazlar GSBL ve Tanı Yöntemleri. *Annals of Health Sciences Research*, 1(1), 1-9.
- Davies, J., & Davies, D. (2010). Origins and evolution of antibiotic resistance. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*, 74(3), 417-433.
- Deniz Ögeday, E., Cömert, F., Köktürk, F., Külah, C. ve Aktaş, E. (2016). Genişlemiş Spektrumlu Beta-Laktamaz (GSBL) Üreten *Escherichia coli* ve *Klebsiella* spp. İzolatlarında CTX-M Enzimlerinin Belirlenmesi, *Türk Mikrobiyoloji Cemiyeti Dergisi*, 46(2), 88-96.
- Doğanay M. (Eds). Enfeksiyon Hastalıkları ve Mikrobiyolojisi. Nobel Tıp Kitapevi, İstanbul, 2008; 243-255.
- Donnenberg, M.S. (2005). “Enterobacteriaceae”. In: Principles and Practise of Infectious Diseases. Ed: Mandel GL, et al. 6 th ed. NewYork: Churchill Livingstone: s. 2567-86.
- Eckert, C., Gautier, V., Saladin-Allard, M., Hidri, N., Verdet, C., Ould-Hocine, Z. ve Arlet, G. (2004). Dissemination of CTX-M-type β -lactamases among clinical isolates of *Enterobacteriaceae* in Paris, France. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 48(4), 1249-1255.
- Eisenstein, I.B., Zaleznik, F.D. (2000). “Enterobacteriaceae”. In: Principles and Practice of Infectious Diseases. Ed: Mandell GL, Benett JE, Dolin R, Churchill Livingstone, fifth edition, volume 2: p. 2294- 310.
- Eisner, A., Fagan, E. J., Feierl, G., Kessler, H. H., Marth, E., Livermore, D. M. ve Woodford, N. (2006). Emergence of Enterobacteriaceae isolates producing CTX-M extended-spectrum β -lactamase in Austria. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 50(2), 785-787.

- Eklund, M. (2005). Enterohemorrhagic *Escherichia coli* (EHEC) Findings from Humans in Finland. Publications of the National Public Health Institute KTLA: p. 97
- Eliopoulos, G.M. (1992) Mechanisms of bacterial resistance to antimicrobial drugs. In: Gorbach SL, Bartlett JG, Blacklow N, eds. Infectious Diseases. Philadelphia: WB Saunders Co, s.280-6
- Erdem, B (1999). “*Enterobacteriaceae*”. Temel ve Klinik mikrobiyoloji. Ed: Prof. Dr. Şemsettin Ustacelebi, Güneş Kitabevi. 1.baskı: sayfa 471-515a
- Erdem, B. (1999). “*Enterobacteriaceae*”. Temel ve Klinik Mikrobiyoloji. Ed: Ustaçelebi, Mutlu G, izmir T. Öncü Basımevi, Ankara, Türkiye: 535-9c
- Eren Topkaya, A., Aydın Kurç, M., Tombak, Ö., ve Gülen, D. (2018). Kan Kültürlerinde Üreyen *Enterobacteriaceae* İzolatlarında Genişlemiş Spektrumlu Beta-Laktamaz Sıklığı ve Karbapenemaz Varlığının Araştırılması. Namık Kemal Tıp Dergisi (International Journal of Basic and Clinical Medicine).
- Evans, B. A. ve Amyes, S. G. (2014). OXA β -lactamases. *Clinical microbiology reviews*, 27(2), 241–263. <https://doi.org/10.1128/CMR.00117-13>
- Falagas, M. E. ve Karageorgopoulos, D. E. (2009). Extended-spectrum beta-lactamase-producing organisms. *The Journal of Hospital Infection*, 73(4), 345–354.
- Forbes, B.A., Sahm, D.F., Weissfeld, A.S. (2007). Bailey&Scott’s Diagnostic Microbiology. 12th ed. Philadelphia: Mosby Elsevier: p. 873-90.
- Frye, J. G., ve Jackson, C. R. (2013). Genetic mechanisms of antimicrobial resistance identified in *Salmonella enterica*, *Escherichia coli*, and *Enterococcus* spp. isolated from U.S. food animals. *Frontiers in microbiology*, 4, 135.
- Gaygısız, Ü., Lajunen, T. ve Gaygısız, E. (2021). Community use of antibiotics in Turkey: The role of knowledge, beliefs, attitudes, and health anxiety. *Antibiotics*, 10(10), 1171.
- Ghuysen, J. M. (1994). Molecular structures of penicillin-binding proteins and beta-lactamases. *Trends in microbiology*, 2(10), 372–380.
- Gold, H. S., ve Moellering, R. C., Jr (1996). Antimicrobial-drug resistance. *The New England Journal of Medicine*, 335(19), 1445–1453.
- Göncüoğlu, C., Kara, E., Demirkan, K., Kalyoncu, A. F. ve Ünal, S. (2021). Beta-laktam Antibiyotiklere Karşı Gelişen Aşırı Duyarlılık Reaksiyonları. *Flora Enfeksiyon Hastalıkları ve Klinik Mikrobiyoloji Dergisi*, 26(1), 23-33.
- Gurung, S., Kafle, S., Dhungel, B., Adhikari, N., Thapa Shrestha, U., Adhikari, B., Banjara, M. R., Rijal, K. R. ve Ghimire, P. (2020). Detection of OXA-48 gene

- in carbapenem-resistant *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae* from urine samples. *Infection and Drug Resistance*, 2311-2321.
- Gülay, Z. (2005). Gram negatif çomaklarda antibiyotik direnci: 2003-2004 Türkiye haritası. *Ankem Dergisi*, 19(Ek-2), 66-77.
- Gür, D. (1997). Hastane Enfeksiyonlarında önem kazanan Gram olumsuz bakterilerde antibiyotiklere direnç mekanizmaları. *Hastane Enfeksiyonları Dergisi*, (1): 38-45.
- Güzel Tunçcan, Ö., Keten, D. T., Dizbay, M. ve Hızıl, K. (2008). Hastane Kaynaklı *Escherichia coli* ve *Klebsiella* Suşlarının Ertapenem ve Diğer Antibiyotiklere Duyarlılığı. *Ankem Dergisi*, 22(4), 188-192.
- Hamañça, Ö. (2009). Enterobacteriaceae Ailesi Üyelerinde OXA Tipi Genişlemiş Spektrumlu Beta-Laktamazların Araştırılması. *Tıpta Uzmanlık Tezi, İstanbul: İstanbul Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü*.
- Hanson, N. D., Moland, E. S., Hossain, A., Neville, S. A., Gosbell, I. B., ve Thomson, K. S. (2002). Unusual *Salmonella enterica* serotype typhimurium isolate producing CMY-7, SHV-9 and OXA-30 beta-lactamases. *The Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 49(6), 1011–1014.
- Hasan, A. S., Nair, D., Kaur, J., Baweja, G., Deb, M., & Aggarwal, P. (2007). Resistance patterns of urinary isolates in a tertiary Indian hospital. *Journal of Ayub Medical College Abbottabad*, 19(1), 39-41.
- Herridge, W. P., Shibu, P., O'Shea, J., Brook, T. C. ve Hoyle, L. (2020). Bacteriophages of *Klebsiella* spp., their diversity and potential therapeutic uses. *Journal of Medical Microbiology*, 69(2), 176–194.
- Heritier, C., Poirel, L., Fournier, P. E., Claverie, J. M., Raoult, D., & Nordmann, P. (2005). Characterization of the naturally occurring oxacillinase of *Acinetobacter baumannii*. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 49(10), 4174-4179.
- Houang, E. T., Chu, Y. W., Lo, W. S., Chu, K. Y. ve Cheng, A. F. (2003). Epidemiology of rifampin ADP-ribosyltransferase (arr-2) and metallo-beta-lactamase (blaIMP-4) gene cassettes in class 1 integrons in *Acinetobacter* strains isolated from blood cultures in 1997 to 2000. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 47(4), 1382–1390.
- Işık, Y. (2008). *Pseudomonas aeruginosa* Kökenlerinde Kinolon Direncinin Moleküler Olarak Saptanması (Yüksek lisans tezi). Ankara, Gazi Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü.
- Jawetz E, Melnick JL, Adelberg EA. Medical Microbiology. East Norwalk, CT: Appleton & Lange, 1995:137-67

- Jeon, B. C., Jeong, S. H., Bae, I. K., Kwon, S. B., Lee, K., Young, D., Lee, J. H., Song, J. S. ve Lee, S. H. (2005). Investigation of a nosocomial outbreak of imipenem-resistant *Acinetobacter baumannii* producing the OXA-23 beta-lactamase in korea. *Journal of Clinical Microbiology*, 43(5), 2241–2245.
- Jones, R. N., Sader, H. S. ve Fritsche, T. R. (2005). Comparative activity of doripenem and three other carbapenems tested against Gram-negative bacilli with various beta-lactamase resistance mechanisms. *Diagnostic Microbiology and Infectious disease*, 52(1), 71–74.
- Kayış, U. (2019). Antimikrobiyal Direnç Mekanizmaları. *Aydın Sağlık Dergisi*, 5(1), 1-12.
- Kayser, F. K., Bienz, K. A., Eckert, J. ve Zinkernagel, R. F. (2002). Genel bakteriyoloji. *Tıbbi Mikrobiyoloji, Nobel yayınları, 2002a; 9. baskı, 138, 220.*
- Kıraç, E. (2011). Klinik Örneklerden İzole Edilen *Klebsiella* İzolatlarının Antibiyotiklere Duyarlılıkları (Yüksek lisans tezi), Afyon Kocatepe Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü.
- Kiratisin, P., Chattammanat, S., Sa-Nguansai, S., Dansubutra, B., Nangpatharapornthawee, P., Patthamalai, P., Tirachaimongkol, N. ve Nunthanasup, T. (2008). A 2-year trend of extended-spectrum beta-lactamase-producing *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae* in Thailand: an alert for infection control. *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene*, 102(5), 460–464.
- Kohanski, M. A., Dwyer, D. J. ve Collins, J. J. (2010). How antibiotics kill bacteria: from targets to networks. *Nature Reviews Microbiology*, 8(6), 423-435.
- Kuo, S. C., Huang, W. C., Huang, T. W., Wang, H. Y., Lai, J. F., Chen, T. L. ve Lauderdale, T. L. (2018). Molecular Epidemiology of Emerging *bla*_{OXA-23-Like} and *bla*_{OXA-24-Like}-Carrying *Acinetobacter baumannii* in Taiwan. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 62(3), e01215-17.
- Kuyucu, N. (2007). Antibiyotik direnci. *Çocuk Enfeksiyon Dergi*: 1: s. 33-8.
- Lambert P. A. (2005). Bacterial resistance to antibiotics: modified target sites. *Advanced drug Delivery Reviews*, 57(10), 1471–1485.
- Leblebicioğlu, H., Usluer, G. ve Ulusoy, S., 2003. Güncel Bilgiler Işığında Antibiyotikler. Bilimsel Tıp Yayınevi, ISBN:975-6986-19-0, 572 s., 31-40.
- Lee, Y. T., Kuo, S. C., Chiang, M. C., Yang, S. P., Chen, C. P., Chen, T. L., ve Fung, C. P. (2012). Emergence of carbapenem-resistant non-*baumannii* species of *Acinetobacter* harboring a *bla* OXA-51-like gene that is intrinsic to *Acinetobacter baumannii*. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 56(2), 1124-1127.

- Leski, T. A., Bangura, U., Jimmy, D. H., Ansumana, R., Lizewski, S. E., Li, R. W. ve Vora, G. J. (2013). Identification of bla OXA-51-like, bla OXA-58, bla DIM-1, and bla VIM carbapenemase genes in hospital *Enterobacteriaceae* isolates from Sierra Leone. *Journal of Clinical Microbiology*, 51(7), 2435-2438.
- Li, Y., Zheng, B., Li, Y., Zhu, S., Xue, F. ve Liu, J. (2015). Antimicrobial susceptibility and molecular mechanisms of fosfomycin resistance in clinical *Escherichia coli* isolates in mainland China. *PloS one*, 10(8), e0135269.
- Lin, M.F. ve Lan, C.Y. (2014). Antimicrobial resistance in *Acinetobacter baumannii*: From bench to bedside. *World Journal of Mlinical Cases*, 2(12), 787–814.
- Liu, Y. Y., Wang, Y., Walsh, T. R., Yi, L. X., Zhang, R., Spencer, J., Doi, Y., Tian, G., Dong, B., Huang, X., Yu, L. F., Gu, D., Ren, H., Chen, X., Lv, L., He, D., Zhou, H., Liang, Z., Liu, J. H. ve Shen, J. (2016). Emergence of plasmid-mediated colistin resistance mechanism MCR-1 in animals and human beings in China: a microbiological and molecular biological study. *The Lancet. Infectious Diseases*, 16(2), 161–168.
- Livermore, D. M., ve Woodford, N. (2006). The beta-lactamase threat in *Enterobacteriaceae*, *Pseudomonas* and *Acinetobacter*. *Trends in Microbiology*, 14(9), 413–420.
- Massova, I. ve Mobashery, S. (1998). Kinship and diversification of bacterial penicillin-binding proteins and beta-lactamases. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 42(1), 1–17.
- Mayer K.H., Opal S.M., Medeiros A.A. (1995). Mechanisms of antibiotic resistance. In: Mandell GL, Bennett JE, Dolin R, eds. *Mandell, Douglas, and Bennett's Principles and Practice of Infectious Diseases*. Fourth ed. New York: Churchill Livingstone: 212-25.
- McCLINTOCK, B. (1950). The origin and behavior of mutable loci in maize. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 36(6), 344–355.
- Merkier, A. K., & Centrón, D. (2006). blaOXA-51-type β -lactamase genes are ubiquitous and vary within a strain in *Acinetobacter baumannii*. *International Journal of Antimicrobial Agents*, 28(2), 110-113.
- Mishra, S. K., Awal, B. K., Kattel, H. P., Acharya, J., Gyawali, P., Bhatt, C. P. ve Pokhrel, B. M. (2014). Drug resistant bacteria are growing menace in a University Hospital in Nepal. *Am J Epidemiol Infect Dis*, 2(1), 19-23.
- Moellering, R. C., Jr, Eliopoulos, G. M. ve Sentochnik, D. E. (1989). The carbapenems: new broad spectrum beta-lactam antibiotics. *The Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 24 Suppl A, 1–7.

- Moubareck, C., Brémont, S., Conroy, M. C., Courvalin, P. ve Lambert, T. (2009). GES-11, a novel integron-associated GES variant in *Acinetobacter baumannii*. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 53(8), 3579–3581.
- Mölstad, S., Lundborg, C. S., Karlsson, A. K. ve Cars, O. (2002). Antibiotic prescription rates vary markedly between 13 European countries. *Scandinavian Journal of Infectious Diseases*, 34(5), 366-371.
- Murray, P.R., Rosenthal, K.S., Kobayashi G.S., Pfaller M.A. (1998). *Enterobacteriaceae*. in: Medical Microbiology. 3. Editon. St. Louis: MosbyYear Book. Inc. 3: p. 232-44.
- Murray, P.R., Boran, E.J., Jorgensen, J.H., Landry, M.L., Pfaller, M.A. (2009) Manual of Clinical Microbiology. Gür D. (Çeviren). 9. Baskı, 1. Cilt, Ankara: Atlas kitapçılık,; s.1114-1136
- Murray, P., R., Rosenthal, K.S. Pfalleer, M.A. (2010). Medical microbiology, 6th Edition. p. 301-15.
- Murray, P. R., Rosenthal, K. S. ve Pfaller, M. A. (2020). *Medical microbiology E-book*. 5th edn. Elsevier Health Sciences.
- Mycek, M. J., Harvey, R.A. and Chambe, P.C., (2001). Farmakoloji. Güneş Kitabevi, ISBN: 975-8531-17-4, 514 s., Zergeroğlu, S., Zergeroğlu, A.M. (Ç. Ed.), 297-307.
- Naas, T., Poirel, L., ve Nordmann, P. (2008). Minor extended-spectrum beta-lactamases. *Clinical Microbiology and Infection: The Official Publication of the European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases*, 14 Suppl 1, 42–52.
- Nicola, G., Tomberg, J., Pratt, R. F., Nicholas, R. A., & Davies, C. (2010). Crystal structures of covalent complexes of β -lactam antibiotics with *Escherichia coli* penicillin-binding protein 5: toward an understanding of antibiotic specificity. *Biochemistry*, 49 (37),8094–8104.
- Nikaido, H. (1994). Prevention of drug access to bacterial targets: permeability barriers and active efflux. *Science (New York, N.Y.)*, 264(5157), 382–388.
- Nordmann, P., ve Poirel, L. (2002). Emerging carbapenemases in Gram-negative aerobes. *Clinical Microbiology and Infection: The Official Publication of the European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases*, 8(6), 321–331.
- Ocan, M., Obuku, E. A., Bwanga, F., Akena, D., Richard, S., Ogwal-Okeng, J. ve Obua, C. (2015). Household antimicrobial self-medication: a systematic review and meta-analysis of the burden, risk factors and outcomes in developing countries. *BMC Public Health*, 15(1), 1-11.

- Oğuz, K. H. Endodontide Sistemik İlaç Kullanımı, Bitirme Tezi, İzmir: Ege Üniversitesi, 2013.
- O'Kelly, F., Kavanagh, S., Manecksha, R., Thornhill, J. ve Fennell, J. P. (2016). Characteristics of Gram-negative urinary tract infections caused by extended spectrum beta lactamases: pivmecillinam as a treatment option within South Dublin, Ireland. *BMC Infectious Diseases*, 16(1), 620.
- Öngen, B. (2008) (a) *Escherichia* enfeksiyonları. içinde: Tıbbi Mikrobiyoloji 3. Gürlü B. editör. İstanbul Tıp Fakültesi Temel ve Klinik Bilimler Ders Kitapları. 2. baskı. Nobel Tıp Kitabevleri. Ankara: s. 197-201.
- Öngen, B., ve Nazik, H. (2008) (b) Investigation of plasmid mediated quinolone resistance among *Campylobacter* strains, *Farmacologia e Terapiae*: 25(3-4):37-9, 2008.
- Öngen, B. (2008). *Escherichia* enfeksiyonları ve *Klebsiella* enfeksiyonları, Nobel Tıp Kitabevleri, İstanbul, 197-205, 221-226.
- Özdemir, P., ve Atahan, G. (2013). Beta-Laktam Antibiyotikler; Kimyasal Yapıları ve Kullanım Alanları. 4. Ulusal Kimya Öğrenci Kongresi.
- Paczosa, M. K., ve Meccas, J. (2016). *Klebsiella pneumoniae*: Going on the Offense with a Strong Defense. *Microbiology and Molecular Biology Reviews: MMBR*, 80(3), 629–661.
- Palzkill, T. (2018). Structural and mechanistic basis for extended-spectrum drug-resistance mutations in altering the specificity of TEM, CTX-M, and KPC β -lactamases. *Frontiers in molecular biosciences*, 5, 16.
- Papp-Wallace, K. M. ve Endimiani, A. (2011). Carbapenems: past, present, and future. *Antimicrob Agents Chemother*, 55, 4943-60.
- Pasteur, L. Joubert, Charbon J. et septicemie, Gauthier-Villars, Paris, 1877, pp. 101e105
- Paterson, D. L. ve Bonomo, R. A. (2005). Extended-spectrum beta-lactamases: a clinical update. *Clinical Microbiology Reviews*, 18(4), 657–686.
- Patel, G., ve Bonomo, R. A. (2011). Status report on carbapenemases: challenges and prospects. *Expert Review of Anti-infective Therapy*, 9(5), 555-570.
- Peirano, G., ve Pitout, J. D. (2019). Extended-spectrum β -lactamase-producing *Enterobacteriaceae*: update on molecular epidemiology and treatment options. *Drugs*, 79(14), 1529-1541.
- Pérez-Pérez, F. J., ve Hanson, N. D. (2002). Detection of plasmid-mediated AmpC β -lactamase genes in clinical isolates by using multiplex PCR. *Journal of Clinical Microbiology*, 40(6), 2153-2162.

- Philippon, A., Arlet, G. ve Jacoby, G. A. (2002). Plasmid-determined AmpC-type beta-lactamases. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 46(1), 1–11.
- Pitout, J. D., Nordmann, P., Laupland, K. B. ve Poirel, L. (2005). Emergence of *Enterobacteriaceae* producing extended-spectrum β -lactamases (ESBLs) in the community. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 56(1), 52-59.
- Pokharel, S., Raut, S. ve Adhikari, B. (2019). Tackling antimicrobial resistance in low-income and middle-income countries. *BMJ Global Health*, 4(6), e002104.
- Poirel, L., Heritier, C., Tolün, V. ve Nordmann, P. (2004). Emergence of oxacillinase-mediated resistance to imipenem in *Klebsiella pneumoniae*. *Antimicrobial Agents And Chemotherapy*, 48(1), 15-22.
- Poirel, L., Carbonnelle, E., Bernabeu, S., Gutmann, L., Rotimi, V. ve Nordmann, P. (2012). Importation of OXA-48-producing *Klebsiella pneumoniae* from Kuwait. *The Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 67(8), 2051–2052.
- Poirel, L., Kieffer, N., Brink, A., Coetze, J., Jayol, A. ve Nordmann, P. (2016). Genetic features of MCR-1-producing colistin-resistant *Escherichia coli* isolates in South Africa. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 60(7), 4394-4397.
- Poirel, L., Potron, A. ve Nordmann, P. (2021). OXA-48-like carbapenemases: the phantom menace. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 67(7), 1597-1606.
- Poole, T. L., Callaway, T. R., Norman, K. N., Scott, H. M., Loneragan, G. H., Ison, S. A., Beier, R. C., Harhay, D. M., Norby, B. ve Nisbet, D. J. (2017). Transferability of antimicrobial resistance from multidrug-resistant *Escherichia coli* isolated from cattle in the USA to *E. coli* and *Salmonella* Newport recipients. *Journal of Global Antimicrobial Resistance*, 11, 123–132.
- Potron, A., Poirel, L., Rondinaud, E. ve Nordmann, P. (2013). Intercontinental spread of OXA-48 beta-lactamase-producing *Enterobacteriaceae* over a 11-year period, 2001 to 2011. *Eurosurveillance*, 18(31), 20549.
- Queenan, A. M., ve Bush, K. (2007). Carbapenemases: the versatile beta-lactamases. *Clinical Microbiology Reviews*, 20(3), 440–458.
- Rational Drug Use National Action Plan. The Department of Rational Use of Medicines, Turkish Medicines and Medical Devices Agency; 2014–2017. <http://www.akilciilac.gov.tr/wp-content/uploads/2014/11/Rational-Drug-Use-National-Action-Plan.pdf> (accessed on 18 September 2021)
- Rawat, D. ve Nair, D. (2010). Extended-spectrum β -lactamases in Gram Negative Bacteria. *Journal of Global Infectious Diseases*, 2(3), 263.
- Rhouma, M., Beaudry, F., Theriault, W. ve Letellier, A. (2016). Colistin in pig production: chemistry, mechanism of antibacterial action, microbial resistance emergence, and one health perspectives. *Frontiers in microbiology*, 7, 1789.

- Rice, B.L, Bonomo, A. R, (çeviri: Gür, D.) (2009). Antibakteriyel ajanlara direnç mekanizmaları. Patrick R. M. Klinik mikrobiyoloji 9. Baskı 2007. Çeviri Editörü: Ahmet Başustaoğlu. Atlas kitapçılık. Ankara. Sayfa: 1114-1145.
- Rodríguez-Bano, J., Navarro, M. D., Romero, L., Martínez-Martínez, L., Muniain, M. A., Perea, E. J. ve Pascual, A. (2004). Epidemiology and clinical features of infections caused by extended-spectrum beta-lactamase-producing *Escherichia coli* in nonhospitalized patients. *Journal of clinical microbiology*, 42(3), 1089-1094.
- Rupp, M. E., ve Fey, P. D. (2003). Extended spectrum β -lactamase (ESBL)-producing *Enterobacteriaceae*. *Drugs*, 63(4), 353-365.
- Sah, R. S. P., Dhungel, B., Yadav, B. K., Adhikari, N., Thapa Shrestha, U., Lekhak, B., Banjara, M.R., Adhikari, B., Ghimire, P. ve Rijal, K. R. (2021). Detection of TEM and CTX-M Genes in *Escherichia coli* isolated from clinical specimens at tertiary care heart hospital, Kathmandu, Nepal. *Diseases*, 9(1), 15.
- Smith, H. Z., ve Kendall, B. (2021). Carbapenem Resistant *Enterobacteriaceae*. In *StatPearls [Internet]*. StatPearls Publishing.
- Sobeck, J., Smith-Darden, J., Gartner, D., Kaljee, L., Pieper, B., Kilgore, P. ve Zervos, M. (2022). Antibiotic Knowledge, Beliefs, and Behaviors: Testing Competing Hypotheses Using an Urban Community Sample. *Health communication*, 37(7), 862-871.
- Savage, P. B. (2001). Multidrug-resistant bacteria: overcoming antibiotic permeability barriers of Gram-negative bacteria. *Annals of medicine*, 33(3), 167-171.
- Schechner, V., Straus-Robinson, K., Schwartz, D., Pfeffer, I., Tarabeia, J., Moskovich, R., Chmelnitsky, I., Schwaber, M. J., Carmeli, Y. ve Navon-Venezia, S. (2009). Evaluation of PCR-based testing for surveillance of KPC-producing carbapenem-resistant members of the *Enterobacteriaceae* family. *Journal of clinical microbiology*, 47(10), 3261–3265.
- Schneider, K. D., Bethel, C. R., Distler, A. M., Hujer, A. M., Bonomo, R. A. ve Leonard, D. A. (2009). Mutation of the active site carboxy-lysine (K70) of OXA-1 beta-lactamase results in a deacylation-deficient enzyme. *Biochemistry*, 48(26), 6136–6145.
- Shaikh, S., Fatima, J., Shakil, S., Rizvi, S. M. ve Kamal, M.A. (2015). Antibiotic resistance and extended spectrum beta-lactamases: Types, epidemiology and treatment. *Saudi journal of biological sciences*, 22(1), 90–101.
- Song, W., Kim, J. S., Kim, H. S., Yong, D., Jeong, S. H., Park, M. J., ve Lee, K. M. (2006). Increasing trend in the prevalence of plasmid-mediated AmpC beta-lactamases in *Enterobacteriaceae* lacking chromosomal ampC gene at a

- Korean university hospital from 2002 to 2004. *Diagnostic microbiology and infectious disease*, 55(3), 219–224.
- Stürenburg, E., ve Mack, D. (2003). Extended-spectrum beta-lactamases: implications for the clinical microbiology laboratory, therapy, and infection control. *The Journal of infection*, 47(4), 273–295.
- Sulton, D., Pagan-Rodriguez, D., Zhou, X., Liu, Y., Hujer, A. M., Bethel, C. R., Helfand, M. S., Thomson, J. M., Anderson, V. E., Buynak, J. D., Ng, L. M., ve Bonomo, R. A. (2005). Clavulanic acid inactivation of SHV-1 and the inhibitor-resistant S130G SHV-1 beta-lactamase. Insights into the mechanism of inhibition. *The Journal of biological chemistry*, 280(42), 35528–35536.
- Tankhiwale, S. S., Jalgaonkar, S. V., Ahamad, S. ve Hassani, U. (2004). Evaluation of extended spectrum beta lactamase in urinary isolates. *Indian J Med Res*, 120(6), 553-6.
- Tekintaş, Y., Çilli, F., Eraç, B., Yaşar, M., Aydemir, S. Ş. ve Limoncu, M. H. (2017). Comparison of phenotypic methods and polymerase chain reaction for the detection of carbapenemase production in clinical *Klebsiella pneumoniae* isolates. *Mikrobiyoloji bulteni*, 51(3), 269-276.
- Tenover, F. C., Emery, S. L., Spiegel, C. A., Bradford, P. A., Eells, S., Endimiani, A., Bonomo RA., ve McGowan Jr, J. E. (2009). Identification of plasmid-mediated AmpC β -lactamases in *Escherichia coli*, *Klebsiella spp.*, and *Proteus* species can potentially improve reporting of cephalosporin susceptibility testing results. *Journal of clinical microbiology*, 47(2), 294-299.
- Thong, K. S., Chang, C. T., Lee, M., Lee, J. C. Y., Tan, H. S., ve Shafie, A. A. (2021). Impact of targeted educational intervention towards public knowledge and perception of antibiotic use and resistance in the state of Perak, Malaysia. *Antimicrobial Resistance and Infection Control*, 10(1), 1-9.
- Thorpe, A., Sirota, M., Orbell, S., ve Juanchich, M. (2021). Effect of information on reducing inappropriate expectations and requests for antibiotics. *British Journal of Psychology*, 112(3), 804-827.
- Tooke, C. L., Hinchliffe, P., Bragginton, E. C., Colenso, C. K., Hirvonen, V. H. A., Takebayashi, Y. ve Spencer, J. (2019). β -Lactamases and β -Lactamase Inhibitors in the 21st Century. *Journal of molecular biology*, 431(18), 3472–3500. <https://doi.org/10.1016/j.jmb.2019.04.002>
- Topal, M., Şenel, G.U., Topal, E.I.A. ve Erdal, Ö.B.E.K. (2015). Antibiyotikler ve kullanım alanları. *Erciyes Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Fen Bilimleri Dergisi*, 31(3), 121-127.
- Torumkuney, D., Aktas, Z., Unal, S., van Hasselt, J., Seyhun, Y., ve Keles, N. (2022). Country data on AMR in Türkiye in the context of community-acquired respiratory tract infections: links between antibiotic susceptibility, local and

- international antibiotic prescribing guidelines, access to medicine and clinical outcome. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 77(Supplement_1), i51-i60.
- Töreci, K. (2004) Antibiyotiklerde direnç sorunu. *Türkiye Klinikleri Farmakoloji Özel*, 2004; 2: 92-96
- Töreci, K. (2003) Antibiyotik kullanımı ve direnç ilişkisi. *Flora* 2003;8: (2): 89-110.
- Töreci, K. (2002). İnfeksiyon Hastalıkları ve Mikrobiyolojisi, Topçu, A.W., Söyletir, G. ve Doğanay, M., Nobel Tıp Kitabevleri, Ankara, 1564-1571.
- Trautner, B. W., Hull, R. A., ve Darouiche, R. O. (2005). Colicins prevent colonization of urinary catheters. *The Journal of antimicrobial chemotherapy*, 56(2), 413–415.
- Turton, J. F., Woodford, N., Glover, J., Yarde, S., Kaufmann, M. E., ve Pitt, T. L. (2006). Identification of *Acinetobacter baumannii* by detection of the blaOXA-51-like carbapenemase gene intrinsic to this species. *Journal of clinical microbiology*, 44(8), 2974–2976.
- Uluğ, M., Kemeç, Ö. ve Can-Uluğ, N. (2012). Antibiyotik Kontrol Ekibinin Akılcı Antibiyotik Kullanımına Etkisi: Maliyet Kullanım Analizi ve Cerrahi Profilakside Sağlanan Başarı. *Klinik Journal/Klinik Dergisi*, 25(1):14-8.
- URL-1, (2023). <https://tr.wikipedia.org/wiki/Antibiyotik>. (6.01.2023)
- URL-2, (2023). <https://tr.wikipedia.org/wiki/Penisilin>. (7.01.2023)
- URL3,(2023).<https://www.biomerieux.com.tr/urun/vitek2#:~:text=%C3%87al%C4%B1%C5%9Fmprensibi&text=%C4%B0nok%C3%BCI%C3%BCm%20Smart%20Carrier%20Station%20sisteminde,m%C3%BCdahale%20gerektirmedensistem%20taraf%C4%B1ndan%20y%C3%B6netilir>. (24.02.2023)
- Usluer, G. Çoklu dirençli patojenler: Epidemiyoloji ve kontrol. *Flora*, 2002;7: 135-141
- Ustaçelebi, Ş.(1999) editör. Temel ve Klinik Mikrobiyoloji. Ankara: Güneş Kitabevi; 1999. pp.471-515.
- Vading, M., Naucélér, P., Kalin, M. ve Giske, C.G. (2018). Invasive infection caused by *Klebsiella pneumoniae* is a disease affecting patients with high comorbidity and associated with high long-term mortality. *PloS one*, 13(4), e0195258. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0195258>
- Vahaboğlu, H. (2004). Antibiyotiklerde direnç sorunu. *Türkiye Klinikleri Farmakoloji Özel*, 2, 92-96.
- Van Bambeke, F., Balzi, E. ve Tulkens, P.M. (2000). Antibiotic efflux pumps. *Biochemical pharmacology*, 60(4), 457-470.

- Vasilaki, O., Ntokou, E., Ikonomidis, A., Sofianou, D., Frantzidou, F., Alexiou-Daniel, S., Maniatis, A. N. ve Pournaras, S. (2008). Emergence of the plasmid-mediated quinolone resistance gene qnrS1 in *Escherichia coli* isolates in Greece. *Antimicrobial agents and chemotherapy*, 52(8), 2996–2997.
- Vila, J., Sáez-López, E., Johnson, J. R., Römling, U., Dobrindt, U., Cantón, R., Giske, C. G., Naas, T., Carattoli, A., Martínez-Medina, M., Bosch, J., Retamar, P., Rodríguez-Baño, J., Baquero, F. ve Soto, S. M. (2016). *Escherichia coli*: an old friend with new tidings. *FEMS microbiology reviews*, 40(4), 437–463.
- Wachino, J., Yoshida, H., Yamane, K., Suzuki, S., Matsui, M., Yamagishi, T., Tsutsui, A., Konda, T., Shibayama, K. ve Arakawa, Y. (2011). SMB-1, a novel subclass B3 metallo-beta-lactamase, associated with ISCR1 and a class 1 integron, from a carbapenem-resistant *Serratia marcescens* clinical isolate. *Antimicrobial agents and chemotherapy*, 55(11), 5143–5149.
- Wanger, A., Chavez, V., Huang, R. S. P., Wahed, A., Actor, J. K. ve Dasgupta, A. (2017). Antibiotics, antimicrobial resistance, antibiotic susceptibility testing, and therapeutic drug monitoring for selected drugs. *Microbiol. Mol. Diagn. Pathol*, 119-153.
- Weldhagen, G. F. (2006). GES: an emerging family of extended spectrum beta-lactamases. *Clinical Microbiology Newsletter*, 28(19), 145-149.
- WHO (2018) Antimicrobial Resistance. Available from: <https://www.who.int/en/news-room/fact-sheets/detail/antimicrobial-resistance>. [Last accessed on 2019 Apr 12].
- Koneman, E. W., Allen, S. D., Janda, W. M., Schreckenberger, P. C. ve Winn, W. C. (1997). Diagnostic microbiology. *The nonfermentative gram-negative bacilli*. Philadelphia: Lippincott-Raven Publishers, 253-320.
- Woodford, N., Ellington, M. J., Coelho, J. M., Turton, J. F., Ward, M. E., Brown, S., Amyes, S. G., ve Livermore, D. M. (2006). Multiplex PCR for genes encoding prevalent OXA carbapenemases in *Acinetobacter* spp. *International journal of antimicrobial agents*, 27(4), 351–353.
- Wyres, K. L., Lam, M. M. C., ve Holt, K. E. (2020). Population genomics of *Klebsiella pneumoniae*. *Nature reviews. Microbiology*, 18(6), 344–359.
- Xu, L., Ensor, V., Gossain, S., Nye, K. ve Hawkey, P. (2005). Rapid and simple detection of blaCTX-M genes by multiplex PCR assay. *Journal of medical microbiology*, 54(Pt 12), 1183–1187.
- Yao, J.D.C., Moellering, R.C. (2009). Antibakteriyel ajanlar. Manual of Clinical Microbiology. Köksal İ. (Çeviren). 9. Baskı, 1. Cilt, Ankara: Atlas kitapçılık, 1077-1137.
- Yüce, A. (2001). Antimikrobik ilaçlara direnç kazanma mekanizmaları. *Klinik Dergisi*, 14(2), 41-46.

Zhao, S., Qaiyumi, S., Friedman, S., Singh, R., Foley, S. L., White, D. G., McDermott, P. F., Donkar, T., Bolin, C., Munro, S., Baron, E. J. ve Walker, R. D. (2003). Characterization of *Salmonella enterica* serotype newport isolated from humans and food animals. *Journal of clinical microbiology*, 41(12), 5366–5371.

