

T.C.
AKDENİZ ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
MİKROBİYOLOJİ ANABİLİM DALI

ÜRİNER SİSTEM İNFEKSİYONLARINDAN İZOLE EDİLEN
ESHERİCHİA COLİ SUŞLARININ BETA-LAKTAMAZ ETKİNLİKLERİ VE
ÜÇÜNCÜ KUŞAK SEFALOSPORİNLERE DUYARLILIKLARININ
İN VİTRO ARAŞTIRILMASI

UZMANLIK TEZİ

Dr. M. MUTLU ÖZER

T839 /4-1

TEZ DANIŞMANI
PROF. DR. GÖNÜL MUTLU

AKDENİZ ÜNİVERSİTESİ
MERKEZ KÜTÜPHANESİ

ANTALYA, 1993

T.C.
AKDENİZ ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
MİKROBİYOLOJİ ANABİLİM DALI

ÜRİNER SİSTEM İNFEKSİYONLARINDAN İZOLE EDİLEN
ESHERİCHİA COLİ SUŞLARININ BETA-LAKTAMAZ ETKİNLİKLERİ VE
ÜÇÜNCÜ KUŞAK SEFALOSPORİNLERE DUYARLILIKLARININ
İN VİTRO ARAŞTIRILMASI

UZMANLIK TEZİ

Dr.M.MUTLU ÖZER

TEZ DANIŞMANI

PROF.DR.GÖNÜL MUTLU

* Tezimden Kaynakça Gösterilerek Yararlanılabilir *

ANTALYA, 1993

İÇİNDEKİLER

1 - GİRİŞ	1
2 - GENEL BİLGİLER	2 - 22
3 - YÖNTEM VE GEREÇLER	23 - 28
4 - BULGULAR	29 - 34
5 - TARTIŞMA	35 - 40
6 - SONUÇ	41 - 42
7 - ÖZET	43
8 - KAYNAKLAR	44 - 50

GİRİŞ

Üriner sistem infeksiyonlarında sıklıkla gram negatif enterik bakteriler izole edilmektedirler. Enterik bakteriler içerisinde birinci etken *Escherichia coli* olmaktadır (5, 11, 12, 23, 24, 36, 40, 49).

Günümüzde infeksiyon hastalıklarının tedavisinde karşılaşılan en önemli sorun, etken olan bakterilerin kemoterapötik maddelere karşı gösterdikleri dirençtir. Direnç gelişmesi, kemoterapötiklerin tedavi ve koruyucu amaçlarla yaygın kullanılmasıyla hız kazanmaktadır. Beta-laktam antibiyotiklere karşı direnç sıklıkla enzimatik inaktivasyon yoluyla gelişmektedir (1, 2, 17, 26, 28, 29, 44, 51).

Beta-laktam antibiyotiklerden üçüncü kuşak sefalosporinler, gram negatif enterik basillere, birinci ve ikinci kuşak sefalosporinlere göre daha etkilidirler ve bu grup bakterilere bağlı infeksiyonların tedavisinde önerilmektedirler (4, 13, 14, 33, 43, 49).

Bu çalışmada Akdeniz Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi Merkez Mikrobiyoloji Laboratuvarına gelen idrar örneklerinden izole edilen 100 adet *Escherichia coli* suşunun, beta-laktamaz etkinliği araştırılmış ve üçüncü kuşak sefalosporinlerden sefoperazon, seftriakson, sefotaksim ve seftazidim antibiyotiklerine duyarlılıkları mikrodilüsyon yöntemiyle saptanmıştır.

GENEL BİLGİLER

Üriner Sistem İnfeksiyonları :

Üriner sistem infeksiyonları, özellikle kadınlar ve yaşlılarda olmak üzere, günümüzde sıklıkla karşılaşılan infeksiyon hastalıklarındandır. İnfeksiyon mesane ve üretrada lokalize ise "Alt Üriner Sistem İnfeksiyonu", üreterler ve böbreklere yayılmış ise "Üst Üriner Sistem İnfeksiyonu" adını alır. İdrarda $\geq 10^5$ CFU/ml bakteri olmasına karşın, klinik bulgular yok ise "Aseptomatik Bakteriüri" denir (40, 47).

Üriner sistem infeksiyonları ilk kez ya da tekrarlayıcı olabilir. Antibiyotik tedavisi kesildikten 1-2 hafta sonra yapılan idrar kültüründe aynı bakterinin üremesine relaps denir. Reinfeksiyon ise genellikle ilk 6 ay içerisinde birinci infeksiyonu oluşturan bakteriden farklı bir bakteri ile oluşur. 6 ay içerisinde 3 kez ya da daha fazla üriner sistem infeksiyonu meydana geliyorsa, buna rekürrent üriner sistem infeksiyonu denir. Bu tür infeksiyonu olan kişilerde, genellikle anatomik ya da fonksiyonel bir bozukluk vardır (11, 40, 47).

Yeni doğan döneminde üriner infeksiyon yaklaşık % 0,5 oranında görülmektedir. Okul öncesi veya okul çağındaki çocuklarda sıklığı, erkeklerde % 0,5 oranında iken, kızlarda % 3-5 oranındadır. Kadınların yaklaşık % 10-20'sinin yaşamının herhangi bir döneminde üriner infeksiyona yakalandığı tahmin edilmektedir. Doğurganlık çağındaki kadınların yaklaşık % 4'ünde semptomatik veya aseptomatik bakteriüri saptanabilir. Erişkin erkeklerde bu oran % 0,1

veya daha az olmakta ise de, yaş ilerledikçe prostat hipertrofisi ve prostat salgısının azalması ile orantılı olarak artar. 65 yaş üzerindeki erkeklerin en az % 10'unda, kadınların en az % 20'sinde bakteriüri bulunabilir(11,40,47).

Üriner sistem infeksiyonu yapan bakteriler arasında en çok gram negatif enterik bakteriler ve özellikle de *Escherichia coli* yer almaktadır. Bunu *Proteus*, *Klebsiella*, *Enterobacter* türleri , *Pseudomonas* , *Staphylococcus* ve *Enterococcus* takip eder (24, 40, 47). Son zamanlarda özellikle kadın hastalarda *Staphylococcus saprophyticus*'un *E.coli*'den sonra ikinci sırada yer aldığını gösterir bazı çalışmalar vardır (40, 47).

Anareobik bakteriler ve mantarlar nadiren üriner sistem infeksiyonuna neden olabilirler. *Chlamydia*'lar ve *Mycoplasma*'larda çok nadiren semptomatik üriner sistem infeksiyona neden olurken, dizüri, pollaküri gibi klinik bulgular olduğu halde bakteriürinin bulunmadığı üretral sendromun sık nedenidirler (6, 47).

Adenovirüsler, özellikle tip 11 çocuklarda görülen hemorajik sistitin önemli bir etkenidir (40, 47).

Üriner sistem infeksiyonlarının çok önemli kısmı asendan yol ile meydana gelir. Özellikle kolon florasından kaynaklanan gram negatif bakteriler perianal, perineal dokular ve üretra ağzını kolonize ederler. Buradan yukarı doğru yayılarak, üretra, mesane, üreterler ve böbreklerde infeksiyon oluştururlar (40, 47).

Üriner sistem infeksiyonunun, klinik bulguları, infeksiyonun lokalizasyonuna göre değişir. Alt üriner sistem infeksiyonunda sık ve ağrılı idrar yapma, idrar yaparken yanma, genellikle suprapubik ağrı ve ağrı olur. İdrar bulanıktır. Nadiren kanlı olabilir . Ateş

genellikle yoktur (11, 40, 47).

Üst üriner sistem infeksiyonlarında, klasik olarak alt üriner sistem infeksiyon bulgularına ilave olarak, ateş, titreme ve yan ağrısı vardır. Ateş genellikle alt üriner sistem bulgularından 2 - 3 gün sonra başlar (11, 40, 47).

Üriner infeksiyon asemptomatikte olabilir. Rutin idrar incelenmesinde bakteri görülmesine rağmen piyüri bulunmayabilir veya akut piyelonefritten kaynaklanan bakteremi ve septik şok klinik tabloya egemen olabilir. Ayrıca taş, üretra travması, hemorajik sistit, böbrek infarktüsü gibi infeksiyon dışı nedenlerde benzer semptomlara yol açabilmektedir (11, 40, 47).

Üriner sistem infeksiyonlarının kesin tanısı idrar kültürü ile konur. Bakteriyolojik kültür için idrar örneği en geç 2 saat içinde laboratuvara gönderilmelidir. Kültür için kanlı agar ve gram negatif bakterilerin ayırt edici besiyerine (örnek ; Endo besiyeri) ekim yapılır. 37°C'de 24 saat inkübasyondan sonra koloni yapan birimler sayılır. Ekim yapılan öze 0,01 ml. sıvı taşıyorsa 100 ile çarpılır. Koloni sayısının 10^5 CFU/ml veya daha fazla olması anlamlı bakteriürinin varlığını gösterir (6, 11, 40, 47).

Üriner infeksiyonların tedavisinde amaç, bakterinin üriner sistemden eradike edilmesidir. Antibakteriyel tedavide ilk ve en önemli nokta infeksiyonun bakteriyolojik olarak tanısının konup, lokalizasyonunun yapılmasıdır. Hangi tür tedavi yönteminin seçileceğine, predispozan faktörlerin olup olmadığına, semptomların süresine, idrar kültür sonuçlarına ve üriner sistem infeksiyonunun lokalizasyonuna göre karar verilir (40, 47).

Üropatojen E.coli :

Üriner sistem infeksiyonuna neden olan E.coli suşları genellikle fekal kaynaklıdır. Bakterilerin dış genital bölgede kolonize olmalarından sonra, suşun virulans faktörlerine ve konağın duyarlılığına bağlı olarak asemptomatik bakteriüriden, akut sistit ve piyelonefrite kadar değişen infeksiyonlar oluşabilmektedir(8, 22, 40, 47).

Üropatojen E.coli'lerin en önemli özelliği, üriner sistem epitel hücrelerine tutunabilme yetenekleridir. Buna bakteriyel adesitivite denmektedir. Üroepitelyal hücrelere adezyon, bakteri yüzeyinde bulunan, protein subünitlerinden oluşan makromoleküler yapıya sahip fimbriyalar ile olmaktadır (5, 12, 36, 40, 47).

Fimbriyal adezinlerden en sık bulunan tip 1 fimbriyalardır. Enterobacteriaceae grubunun ortak fimbriyasıdır. Çoğu E.coli suşlarında bulunmaktadır. Memeli hücre salgılarında ve membranlarında bulunan zincir şeklindeki mannoz artıklarını reseptör olarak seçerler. Diğerleri ise üropatojenik suşlarda bulunan ve insana özgül P fimbriya tipleridir (36, 40, 47).

Fimbriyal adezinlerin bakteriye kazandırdığı özellikler genelde aglütinasyon ve adezyon olmak üzere 2 ana grupta toplanmaktadır. Bir çok E.coli suşunda hemaglütinasyon aktivitesi, D-mannoz'la inhibe olmaktadır, yani mannoza duyarlıdır. Bu da bakteride tip 1 fimbriyanın bulunduğunu göstermektedir. Üropatojen suşların insana özgül P fimbriya adezinleri, eritrositlerin D-mannozdan etkilenmeyen bir yolla aglütine olmalarını sağlamaktadırlar. Bu çeşit hemaglütinasyona mannoza dirençli hemaglütinasyon denir. Ayrıca mannoza dirençli olan, reseptörü bilinmeyen ve daha az rastlanan X fimbriyalarda tanımlanmıştır(22, 36, 40, 47).

İnfeksiyon sırasında E.coli bakterilerinin epitel hücrelerinin yüzeyindeki glikoproteinlere veya özel hücrelerce salgılanan glikoproteinden oluşmuş mukus tabakasına tutunabilmeleri tip 1 fimbriyaları ile olmaktadır. Bu fimbriyalar genel bir kolonizasyon faktörü olarak kabul edilmektedirler. Yani tip 1 fimbriya idrar yollarında ilk kolonizasyon için idrar yolu mukus tabakasına bağlanmayı sağlayarak öncülük etmekte ve daha sonra P fimbriyaların yardımıyla infeksiyon devam etmektedir (36, 40, 47).

Bakterilerin hedef hücre üzerinde bulunan glikolipitlere [alfa - D -galakto - pirazonil- (1-4) - β - D - galaktopiranozid] bağlanması P fimbriya tarafından sağlanmaktadır. Glikolipit reseptörler tüm üriner sistem epitel hücrelerinde özellikle böbreklerde yaygın olarak bulunmaktadır. Bu yüzden P fimbriyalar üst üriner sistem infeksiyonlarından izole edilen bakterilerde daha yüksek oranda tesbit edilmektedirler (36, 40, 47).

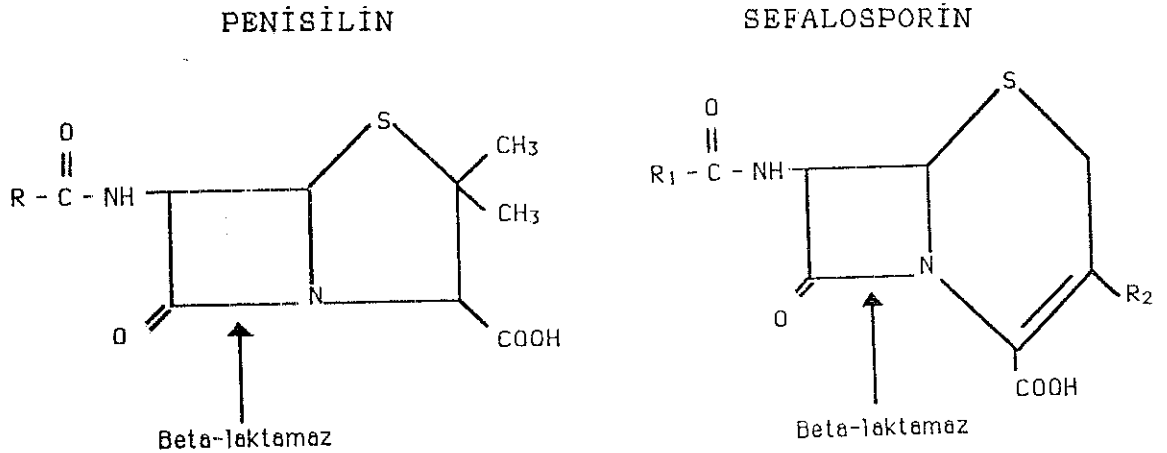
Daha önce üropatojen mikroorganizmalar olarak isimlendirilen E.coli serogrup 01, 02, 04, 05, 06, 07 gibi grupların, P fimbriya taşıdıkları için üropatojen oldukları ispatlanmıştır (36, 40, 47).

Son yıllarda diğer gram negatif bakterilerde de bu özellikler gösterilmiştir (36, 40, 47).

Beta - Laktamazlar :

Beta-Laktamazlar üzerindeki çalışmalar 1940'ta penisilin kullanıma girmesinden hemen sonra Abraham ve Chain tarafından antibiyotiği parçalayan enzimin bulunması ile başlar. İlk defa E.coli'de gösterilen bu enzimin, daha sonraki yıllarda yapılan çalışmalarda diğer bir çok bakteride de olduğu gösterilmiştir (46).

Beta-laktam antibiyotiklere bakteriyel direncin en önemli mekanizması beta-laktamazların yapımıdır. Beta-laktam antibiyotiklerin yapısındaki beta-laktam halkası antibakteriyel aktiviteyi belirler. Bu grup antibiyotikler, bakterideki penisilin bağlayan proteinlerle (PBP) kovalan bağlar yaparlar ve hücre duvarı sentezini bozarak etki gösterirler. Beta-laktamazlar, beta-laktam halkasındaki amid bağını hidrolize ederek antibiyotiği parçalar ve bakteriyi ilacın etkisinden korurlar (Şekil 1)(9, 28, 29, 32, 37, 46).



Şekil 1 : Beta-laktamazların, beta-laktam antibiyotikleri yıkım bölgesi.

Beta-laktamazlar, beta-laktam antibiyotiklere direncin en önemli mekanizması olması yanında, bakteri dış membranının permeabilite değişikliği veya PBP hedef değişikliği gibi farklı direnç mekanizmalarının tamamlayıcısı veya yardımcısıdır (46).

Beta-laktamazlar plazmid ve transpozonlar gibi genellikle nakledilebilir genlerle ya da kromozomal genlerle kodlanırlar (1, 26, 29, 30, 32, 37, 46, 51).

Beta-laktamazlar türden türe ve tür içindeki değişik suşlarda farklılık gösterirler. Bu nedenle beta-laktamazlar; substrat profilleri, molekül ağırlıkları, izoelektrik noktaları, aminoasit dizilişleri, moleküler yapıları, genlerle kontrolleri dikkate alınarak sınıflandırılmışlardır (37,46).

Aminoasit ve nükleotid dizilişine göre 3 ayrı beta-laktamaz sınıfı belirlenmiştir (29, 30).

A sınıfı (Class A) Beta-laktamazları ; yaklaşık 29.000 molekül ağırlığındadır. Aktif bölgelerinde serin bulundurlar ve özellikle penisilinleri hidroliz ederler. Örneğin *Staphylococcus aureus* beta-laktamazları ve gram negatif bakterilerde yaygın bulunan TEM-1 beta-laktamazları bu gruptandır (29, 30).

B sınıfı (Class B) Beta-laktamazları ; yaklaşık 23.000 molekül ağırlığında bir metalloenzimdirler. Aktivitesi için çinko gereklidir. Özellikle sefalosporinlere etkilidirler (29, 30).

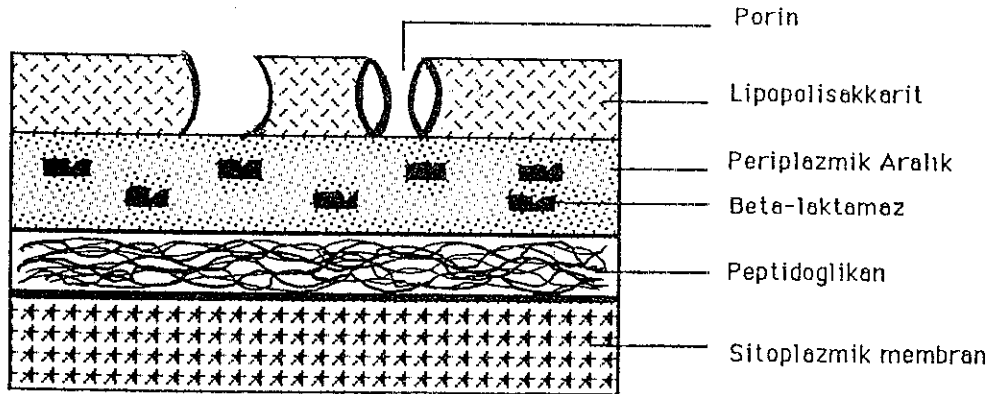
C sınıfı (Class C) Beta-laktamazları ; yaklaşık 39.000 molekül ağırlığı ile büyük proteinlerdir. A sınıfı beta-laktamazlar gibi aktif bölgelerinde serin bulunur. Fakat, yapısal başka bir benzerliği yoktur. *E.coli* ve *P.aeruginosa* gibi gram negatif basillerin kromozomal kodlanmış enzimlerini kapsarlar (29, 30).

Gram Pozitif Bakteri Beta-Laktamazları :

Gram-pozitif bakteriler arasında Staphylococcus'lar beta-laktamaz üreten en önemli patojenlerdir ve çoğunlukla penisilinleri hidroliz ederler. Bir çoğu indüklenebilir ve hücre dışına salınırlar. Ekzoenzim yapısındadırlar. Staphylococcus'ların beta-laktamazını belirleyen genler transdüksiyonla hücreden hücreye transfer edilebilen küçük plazmidlerle taşınırlar (26, 29, 46). Ayrıca beta-laktamaz ve diğer dirençleri kodlayan daha büyük plazmidler bulunabilir ve konjugasyonla nakledilirler (29).

Gram Negatif Bakteri Beta-Laktamazları :

Gram negatif bakteriler, gram pozitif bakterilere oranla çok daha değişik beta-laktamaz üretirler. Gram negatif bakterilerdeki beta-laktamazlar endoenzim özelliği gösterirler ve periplazmik aralıkta toplanırlar (Şekil 2). Kromozomal veya plazmid kaynaklı olabilirler (27, 28, 29, 37, 48).



Şekil 2 : Gram negatif bakteri hücre duvarı.

Plazmid kaynaklı olan beta-laktamazlar penisilin ve sefalosporinleri hidroliz ederler ve yüksek konsantrasyonlarda sentezlenirler. Bakteri suşları arasında konjugasyonla taşınırlar. 30'un üzerinde farklı plazmid kaynaklı beta-laktamaz bulunmuştur (28, 29). Enterobacteriaceae içinde en yaygın bulunanları TEM-1, TEM-2 ve SHV-1 enzimleridir. Günümüzde bu enzimlerden birkaç amino asit değişimi ile mutasyon sonucu "Extended broad spectrum" (EBS) beta-laktamazlar ortaya çıkmıştır. Bu enzimler ilk defa 1983'te Avrupa'da bildirilmiştir. Şimdiye kadar TEM-1 ve TEM-2 ile ilişkili 16, SHV-1 ile ilişkili 4 adet EBS beta-laktamaz bulunmuştur. Bu enzimlerin en çok *Klebsiella pneumoniae*'da olduğu saptanmıştır. Henüz sınıflandırılamayan yeni beta-laktamazlarla ilgili çalışmalar dünyanın her tarafında bildirilmektedir (4, 7, 10, 28, 29, 34, 35, 37).

Bütün gram negatif bakteriler bazı kromozomal kaynaklı beta-laktamazlar üretirler. Fakat genellikle düşük konsantrasyonda yapılırlar. Beta-laktam antibiyotiklerle indüklenerek bol miktarda yapılabilirler. Transdüksiyon ve transpozonlarla plazmide geçtikten sonra konjugasyonla nakledilebilirler (28, 29, 46).

Bazı suşlar indüksiyon olmadan da çok miktarda kromozomal beta-laktamaz yaparlar. Bakteri türleri arasında nakledilemez, türe spesifiktirler (Tablo 1) (29, 46).

Tablo 1 : Kromozomal beta-laktamazların sınıflandırılması ve genellikle bulunduğu bakteriler

Geniş spektrumlu sefalosporinazlar : Sefalosporinler	
kadar benzil penisilin, ampisilin ve karbenisilinde	
hidroliz ederler.	
<i>P.vulgaris</i>	<i>K.oxytoca</i>
<i>K.pneumoniae</i>	<i>K.aerogenes</i> K-1
Tipik sefalosporinazlar : Penisilinlere karşı etkisi az	
veya yoktur.	
1- Yapısal	
<i>E.coli</i>	<i>B.fragilis</i>
2- İndüklenebilir	
<i>E.aerogenes</i>	<i>P.aeruginosa</i>
<i>E.cloacae</i>	<i>A.anitratus</i>
<i>P.rettgeri</i>	<i>S.marcescens</i>

Son yıllarda gram negatif bakterilerin beta-laktamazları için birçok sınıflandırma şemaları geliştirilmiştir. Bunlardan ön önemlisi Bush'un şemasıdır (37). Bush gruplarının önemli özellikleri Tablo 2'de görülmektedir.

Klavulanik aside dirençli tüm kromozomal sefalosporinazlar grup 1 içindedir. Bu enzimler *Enterobacter cloacae* ve *P.aeruginosa*'nın indüklenebilir sefalosporinazlarını kapsamaktadır (37).

Grup 2 değişik substrat profilleri olan enzimleri içerir. Henüz hepsi klavulanik asit, diğer sulbaktam ve tazobaktam gibi inaktivatörlerle inhibisyona duyarlıdırlar. E.coli (TEM-1) ve Klebsiella pneumonia (SHV-1) arasında çok yaygın olan plazmid kaynaklı beta-laktamazlar ve yeni beta-laktam antibiyotiklere dirençten sorumlu olan derivelere bu grup içindedir.

Ayrıca H. influenzae (TEM-1), N.gonorrhoeae (TEM-1) ve Moraxella catarrhalis (BR0-1) gibi zor üreyen gram negatif bakterilerdeki beta-laktam direncinden sorumlu enzimleri de kapsar. Klebsiella oxytoca (K1)'daki geniş spektrumlu dirençten sorumlu olan kromozomal enzimler ve Bacterioides fragilis'deki sefalosporin direncine neden olan kromozomal enzimler Grup 2'ye dahil edilmiştir (37).

Grup 3 beta-laktamazlar kofaktör olarak çinkonun gerekli olduğu metalloenzimleri içerir. Bu grup enzimler genellikle kromozomal kaynaklıdır ve beta-laktamlar kadar imipenemleride hidroliz ederler (37).

Grup 4 nispeten nadir karşılaşılan penisilinazlardır ve klavulanik aside dirençlidirler (37).

TABLO 2 : Gram-negatif bakterileri beta-laktamazlarının sınıflandırma şemalarının karşılaştırılması

Bush Grup	Enzim Tipi	Klavulanik asit ile inhibisyon	Örnekler	Richmond ve Sykes Sınıfı		Mitsuhashi Tipi	Moleküler Sınıf
				Ia, Ib, Id	C Sase		
1	Cephalosporinase	-	P99. Sabath-Abraham Enzimi				C
2a	Penicillinase	+	NPS-1, MJ-2	--	--		-
2b	Broad-spectrum	+	TEM-1, SHV-1	III	P Case I		A
2b'	Extended-spectrum	+	TEM-3, SHV-2, K1	III, IV	P Case I		A
2c	Carbenicillinase	+	PSE-1, CARB-3, BRO-1	V	P Case IV		-
2d	Cloxacillinase	+	OXA-1, PSE-2	V	P Case II		D
2e	Cephalosporinase	+	Proteus vulgaris Bacterioides fragilis	Ic	C Xase I		-
3	Metalloenzyme	-	Xanthomonas maltophilia L1 Aeromonas hydrophila A ₂	-	Cxase II		-
4	Penicillinase	-	Pseudomonas cepacia LCR-1	-	-		B

Beta-Laktamaz Test Yöntemleri :

- 1- Asidometrik test.
- 2- İyodometrik test.
- 3- Kromojenik sefalosporin testi
 - a. Nitrocefin veya Cefinase
 - b. PADAC

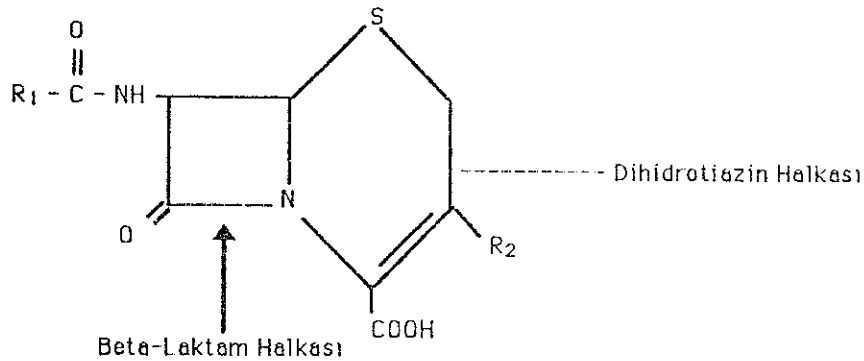
Asidometrik ve İyodometrik testler, substrat olarak penisilin kullanılarak çalışılmaktadır. Bu nedenle yalnızca penisilinleri hidrolize eden enzimler saptanabilirler. Kromojenik sefalosporin testlerinden PADAC, Staphylococcus'ların ürettiği penisilinazların bazıları ve anaerobik bakterilerce üretilen bazı beta-laktamazlar haricinde, bilinen beta-laktamazların birçoğunun saptanmasında etkilidir. Nitrocefin ise Staphylococcal penisilinazlarında içine alacak şekilde bilinen bütün beta-laktamazların saptanmasında etkili bulunmuştur (16, 41).

Beta-laktamaz test sonuçları yorumlanırken, beta-laktamaz enzimlerinin farklı grupları için testin duyarlılığı, organizmalardan farklı taksonomik grupta olanların ürettiği beta-laktamazların çeşitliliği ve farklı beta-laktamazların substrat özgüllüğü göz önüne alınmalıdır (16, 41).

Sefalosporinler :

Son yıllarda klinik kullanıma giren yeni antibiyotiklerin birçoğu sefalosporinlerdir. İlk defa Cephalosporium acremonium isimli mantardan izole edilmiştir. Cephalosporium'un üç aktif fermentasyon ürünü bulunmuştur. Bunlar Cephalosporin C, Cephalosporin N ve Cephalosporin P'dir. Cephalosporin N gerçekte aminocarboxybutyl yan zinciri olan bir penisilindir. Cephalosporin P çok kısıtlı antibakteriyel yan etkisi ile bir steroiddir. Cephalosporium C asıl üründür ve yeni sefalosporinlerin temelidir. Beta-laktam halkasından dolayı penisiline benzemektedir fakat penisilinin beşli thiazolidine halkası yerine, altılı dihydrothiazine halkası yer almıştır (4,14, 42, 43, 51).

Sefalosporin molekülü 7 aminocephalosporinic acid (7 ACA) ve iki yan zincirden oluşur. 7 ACA bir beta-laktam ve bir dihydrothiazine halkasını içerir (Şekil 3). Sefalosporin çekirdeği penisilin çekirdeğinden daha avantajlıdır. Çünkü beta-laktamaz stabilitesi nedeni ile penisilinaz oluşturulan pekçok bakteriye etkilidir. Ayrıca çeşitli modifikasyon bölgelerine sahip olması çok değişik özellikte sefalosporinlerin sentezlenmesine olanak tanır (4, 14, 42, 43, 51).



Şekil 3 : Sefalosporinlerin temel yapısı.

R_1 pozisyonunda antibakteriyel özellikler, R_2 pozisyonunda farmakokinetik özellikler, X pozisyonunda beta-laktamaz stabilitesi ve anaerop etkinlik yönünde modifikasyonlar yapılabilir (4, 14, 43).

Sefalosporinler değişik kriterlere göre sınıflandırılabilir. Bu kriterler, farmakolojik özellikler, antibakteriyel spektrum, beta-laktamazlara direnç veya kimyasal yapı özellikleri olabilir. Bu gün daha çok antibakteriyel spektrum temeline dayanan sınıflandırma kullanılmaktadır ve 3 kuşakta incelenir (Tablo 3) (2, 4, 14, 43, 51).

Tablo 3 : Sefalosporinlerin sınıflandırılması

Birinci kuşak sefalosporinler

Cefadroxil
Cefazolin
Cephalexin
Cephaloridine
Cephalothin
Cephapirin
Cephradine

İkinci kuşak sefalosporinler

Cefaclor
Cefamandole
Cefonicid
Ceforanide
Cefotiam
Cefuroxime
Cefotetan
Cefoxitin

Üçüncü kuşak sefalosporinler

Cefixime

Cefoperazone

Cefotaxime

Ceftazidime

Ceftizoxime

Ceftriaxone

Moxalactam

Sefalosporinlerin Antibakteriyel Spektrumları :

Birinci kuşak sefalosporinler ; Metisiline dirençli stafilokoklar ve penisiline dirençli *S.pneumoniae* haricinde gram pozitif koklara karşı çok etkilidirler. *E.coli*, *Klebsiella pneumoniae* ve indol negatif *Proteus*'u kapsayan sınırlı sayıda aerobik gram negatif basillere orta derecede etkilidirler (2, 4, 14, 50, 51).

İkinci kuşak sefalosporinler ; *E.coli*, *Klebsiella pneumoniae* ve indol negatif *Proteus*lara birinci kuşak sefalosporinlere göre daha etkilidirler. İkinci kuşak sefalosporinler, *H.influenzae*, *Enterobacter* sp., *Serratia* sp., indol pozitif *Proteus*, anaeroblar, *N.meningitidis* ve *N.gonorrhoeae*'ye etkilidirler. Bu ajanların hiç biri *Pseudomonas*'lara karşı etkili değildir (2, 4, 14, 50, 51,).

Üçüncü kuşak sefalosporinler ; Gram negatif basillere karşı bütün sefalosporinler içinde en geniş spektruma ve en çok potansiyel etkiye sahiptirler. Beta-laktamaz üreten bir çok gram negatif bakteriye karşı etkilidirler. Gram pozitif bakterilere etkileri, birinci kuşak sefalosporinlere oranla daha azdır (2, 4, 14, 50, 51).

Üçüncü kuşak sefalosporinler *Pseudomonas aeruginosa*'ya etkilerine göre 2 gruba ayrılırlar. Cefotaxime, Ceftizoxime, Ceftriaxone, Moxalactam ve Cefixime'in *Pseudomonas aeruginosa*'ya etkisi zayıftır. Ceftazidime, Cefoperazone, araştırma aşamasındaki sefalosporinlerden Cefpirome ve Cefpiramide *P.aeruginosa*'ya etkilidir (14).

Üçüncü kuşak sefalosporinlerin primer indikasyonları multipl dirençli gram negatif basil infeksiyonlarıdır (2, 4, 14,).

Sefalosporinlerin Etki Mekanizması :

Diğer beta-laktam antibiyotikler gibi bakteri hücre membranında yer alan penisilin bağlayan proteinlere (PBP) bağlanırlar. PBP'ler hücre duvarı sentezinde peptid formasyonunu sağlayan enzimlerdir (carboxypeptidase, transpeptidase, endopeptidase). Sefalosporinler bu enzimleri inaktive ederek, bakteri hücre duvarı sentezini engellerler (2, 4, 13, 14, 32, 43, 50, 51).

Bazı PBP'ler kritik olarak önemlidir (PBP 1A, 1 BS, 2 ve 3). Bunların inaktivasyonu ile hücre ölümü olur. Diğer PBP'ler (PBP 4, 5 ve 6) bakterinin yaşaması için gerekli değildir ve inhibisyonları ile ölümcül olmayan değişiklikler olur (14, 51).

Ayrıca bu antibiyotikler peptidoglikan hidrolizini sağlayan otolitik enzimleride aktive ederek, hücre lizisine neden olurlar. Bakteri otolizini yetersiz ise sefalosporinler bakteriyostatik etki gösterirler. Bakterisidal etkinin ancak yüksek ilaç konsantrasyonlarında görülebildiği bu duruma tolerans adı verilmektedir (14, 51).

Üçüncü kuşak sefalosporinler *Pseudomonas aeruginosa*'ya etkilerine göre 2 gruba ayrılırlar. Cefotaxime, Ceftizoxime, Ceftriaxone, Moxalactam ve Cefixime'in *Pseudomonas aeruginosa*'ya etkisi zayıftır. Ceftazidime, Cefoperazone, araştırma aşamasındaki sefalosporinlerden Cefpirome ve Cefpiramide *P.aeruginosa*'ya etkilidir (14).

Üçüncü kuşak sefalosporinlerin primer indikasyonları multipl dirençli gram negatif basil infeksiyonlarıdır (2, 4, 14,).

Sefalosporinlerin Etki Mekanizması :

Diğer beta-laktam antibiyotikler gibi bakteri hücre membranında yer alan penisilin bağlayan proteinlere (PBP) bağlanırlar. PBP'ler hücre duvarı sentezinde peptid formasyonunu sağlayan enzimlerdir (carboxypeptidase, transpeptidase, endopeptidase). Sefalosporinler bu enzimleri inaktive ederek, bakteri hücre duvarı sentezini engellerler (2, 4, 13, 14, 32, 43, 50, 51).

Bazı PBP'ler kritik olarak önemlidir (PBP 1A, 1 BS, 2 ve 3). Bunların inaktivasyonu ile hücre ölümü olur. Diğer PBP'ler (PBP 4, 5 ve 6) bakterinin yaşaması için gerekli değildir ve inhibisyonları ile ölümcül olmayan değişiklikler olur (14, 51).

Ayrıca bu antibiyotikler peptidoglikan hidrolizini sağlayan otolitik enzimleride aktive ederek, hücre lizisine neden olurlar. Bakteri otolizini yetersiz ise sefalosporinler bakteriyostatik etki gösterirler. Bakterisidal etkinin ancak yüksek ilaç konsantrasyonlarında görülebildiği bu duruma tolerans adı verilmektedir (14, 51).

Farmakolojik Özellikleri :

Bir çok sefalosporinin parenteral verilmesi gerekmektedir. Az bir kısmı oral şekilde kullanılır. Nisbeten yüksek konsantrasyonlarda plasenta, sinovial, pleural, perikardial ve peritoneal sıvılara geçerler. Cefuroxime, Ceftizoxime, Cefotaxime, Ceftriaxone, Cefaperazone ve Moxalactam'ın BOS'a geçişi yeterli olmaktadır (4, 50).

Cefaperazon haricinde bütün sefalosporinler primer olarak böbreklerden atılırlar. Böbrek yetmezliği olan hastalarda bu ilaçların dozajının ayarlanması gereklidir (Kreatinin klirensi < 50 ml/dk). Cefaperazonun % 70'i safra ile atılır (4, 50).

Penisilinlerde olduğu gibi sefalosporinlerin renal atılımına probenecid ile engel olunabilir (50).

Yan Etkileri :

Sefalosporinler genel olarak çok iyi tolere edilirler. En çok görülen yan etkileri diare ve hipersensitivite reaksiyonlarıdır. Penisilin allerjisi olan hastaların % 3 - 7'sinde bu ilaçlara karşı çapraz reaksiyon olur(2, 14, 50).

Diğer az sıklıkta yan etkileri, pseudomembranöz kolit, serum kreatinin ve transaminaz seviyelerinde yükselme, lökopeni, trombositopeni ve Coombs-pozitif hemolitik anemidir. Bu yan etkiler genellikle hafif ve geri dönüşlüdür (2, 14, 50).

Cefamandole, Cefotetan, Cefaperazon ve Moxalaktam alan hastalarda disülfiram benzeri reaksiyonlar tanımlanmıştır. Bu belirtiler antibiyotiğin N-methylthiotetrazole yan zincirinden dolayıdır. Kimyasal yapısı disulfirama benzer.

Bu sefalosporinler ile hipoprothrombinemi ve kanamaya meyil gözlenebilir. Koagulopati nedenleri ; antibiyotiğin normal barsak florasını değiştirmesi, vitamin K ve prekürsörlerinin sentezini inhibe etmesi ile N-methylthiotetrazole yan zincirinin vitamin K'ya bağlı karboksilaz enzimini inhibe etmesindendir (14, 50).

Sefalosporinlere Direnç Gelişimi :

Sefalosporinlerin antibakteriyel etkisi, hücre duvarına penetre olma yeteneğine, beta-laktamaz enziminin etkisine karşı koymasına, PBP'e bağlanmasına ve inaktive etmesine bağlıdır (14, 28).

Bakteriyel direnç bu basamakların herhangi birinde gelişir (4, 14, 28, 37, 38, 43).

1- Bakteri hücrelerine girişin engellenmesi : Sadece gram negatif bakterilerde görülür. Gram pozitif bakterilerin PBP'leri için koruyucu bir permabilite bariyeri yoktur. Gram negatif bakterilerde ise antibiyotik önce dıştaki lipopolisakkarit tabakasını geçmek zorundadır. Bu tabaka üzerindeki protein yapısındaki porin kanallarından geçme hızı antibakteriyel etkiyi belirler. Antibiyotiğin moleküler büyüklüğü, yükü ve hidrofilik özellikleri önemlidir. Dış membran porin kanallarında oluşan değişimler sonucu direnç ortaya çıkabilir. Bu tür direnç daha çok *P.aeruginosa* ve zor üreyen gram negatif bakterilerde klinik problem olmaktadır. Diğer direnç mekanizmaları, özellikle beta-laktamaz üretimiyle birlikte sinerjistik etki gösterir (1, 4, 14, 28, 37, 38, 43, 51).

2- PBP'lerdeki değişiklikler : Bu direnç mekanizması gram pozitif koklar ve *Neisseria gonorrhoeae*, *Haemophilus influenzae* gibi zor üreyen gram negatif bakterilerde çok önemlidir. Nazokomial gram negatif patojenlerde nadirdir. Ama *Pseudomonas aeruginosa*'da bildirilmektedir (14, 28, 43, 51).

N.gonorrhoeae, *H.influenzae*, *Enterococcus* ve *Pneumococcus*'lardaki PBP'lerde sefalosporinlere karşı afinite azalması sonucu direnç gelişebilir (4, 28).

Stafilokokların PBP'leri doğal olarak yeni sefalosporinlere daha az duyarlıdır. Methicilline dirençli stafilokoklar ise beta-laktam antibiyotiklere düşük afiniteli yeni PBP'ler (PBP 2a veya PBP 2') sentezleyerek direnç oluşturmaktadır (4, 14, 28).

3- Beta-laktamaz üretimi : Beta-laktam antibiyotiklerin beta-laktam halkasını hidroliz ederek antibiyotik aktivitesini bozan beta-laktamazlar, sefalosporinlere karşı en önemli bakteriyel direnç mekanizmasıdır (1, 4, 9, 14, 18, 19, 20, 28, 37, 38, 43, 51).

Sefalosporinler, gram pozitif bakteri beta-laktamazlarına oldukça stabil olmalarına karşın gram negatif bakteri beta-laktamazlarına çok hassastırlar. Gram negatif bakteri beta-laktamazlarından sefalosporinlere etkili en önemli kromozomal enzimler Class I beta-laktamazlardır (1, 4, 28, 34).

Class I kromozomal enzimler *Salmonella* spp. ve bazı *Klebsiella* spp. haricinde birçok gram negatif enterik bakterilerde ve *P.aeruginosa*'da bulunurlar.

Proteus mirabilis, *E.coli*, *Shigella* gibi bakterilerde yapısal olarak az miktarda sentezlenen bu enzimler, sefalosporinleri parçalamak için yeterli değildir. Halbuki *P.aeruginosa*, *Enterobacter*, *Citrobacter*, *Serratia* türleri ve

Morganella morganii gibi bakteriler beta-laktam antibiyotiklerle indüklenebilen enzimlere sahiptirler (4, 28, 34).

Birinci kuşak sefalosporinler Class I enzim yapımını kuvvetle indüklerler ve bu enzimlere hassastırlar. İkinci ve üçüncü kuşak sefalosporinler Class I enzim yapımını zayıf indüklediklerinden, enzime hassas olmalarına karşın çoğu gram negatif bakteriye karşı etkilidirler (4, 28).

Üçüncü kuşak sefalosporinlerin kullanımı ile duyarlı bakteri popülasyonu ortadan kalkarak seleksiyon sonucu Class I enzimlerini beta-laktam ilahtan bağımsız olarak aşırı miktarda sentezleyen "Stabil Derepresse Mutantlar" ortaya çıkmaktadır (4, 28).

Gram negatif bakterilerin plazmid tarafından kodlanan, sefalosporinleri hidrolize eden beta-laktamazları Class 2b, 2b' ve 2'e'dedir. Gram negatif enterik bakterilerde en yaygın bulunanları TEM-1, TEM-2 ve SHV-1 enzimleridir ve genellikle birinci kuşak sefalosporinleri hidroliz edebilirler. Ancak günümüzde TEM-1, TEM-2 ve SHV-1 enzimlerinden birkaç aminoasit değişimi ile mutasyon sonucu ortaya çıkan "Extended broad spectrum" beta-laktamazlar, ikinci ve üçüncü kuşak sefalosporinleri hidroliz edebilirler (4, 7, 20, 28, 34, 37, 39, 43).

GEREÇ VE YÖNTEM

Çalışmamızda Akdeniz Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi Merkez Bakteriyoloji Laboratuvarında, idrar kültürlerinde mililitrede 100.000 koloni veya üzerinde, tek cins olarak üreyen 100 adet *Escherichia coli* suşu incelenmeye alındı. Bu suşların beta-laktamaz etkinlikleri "Kromojenik sefalosporin (Nitrocefın)" yöntemi ile, üçüncü kuşak sefalosporinlerden sefoperazon, seftriakson, sefotaksim ve seftazidime duyarlılıkları mikrodilüsyon yöntemi ile araştırıldı.

Kontrol olarak *E.coli* ATCC 25922 standart suşu kullanıldı.

Escherichia Coli'nin İzolasyonu :

Endo besiyerinde laktozu fermente ederek metalik parlaklık veren, ml'de 100.000 koloni veya üzerinde tek cins olarak üreyen suşlara kesin tanı için İMVİC deneyi uygulanmış, TSİ ile üre besiyerine etkisine bakılmıştır.

İndol ve Metil Kırmızısı testleri olumlu, Voges Proskauer testi olumsuz, Simon'un sitratlı besiyerinde üremeyen, üre besiyerinde üreaz olumsuz ve TSİ besiyerinde üst asit / alt asit şeklinde reaksiyon veren, H_2S olumsuz suşlar *E.coli* olarak kabul edildi.

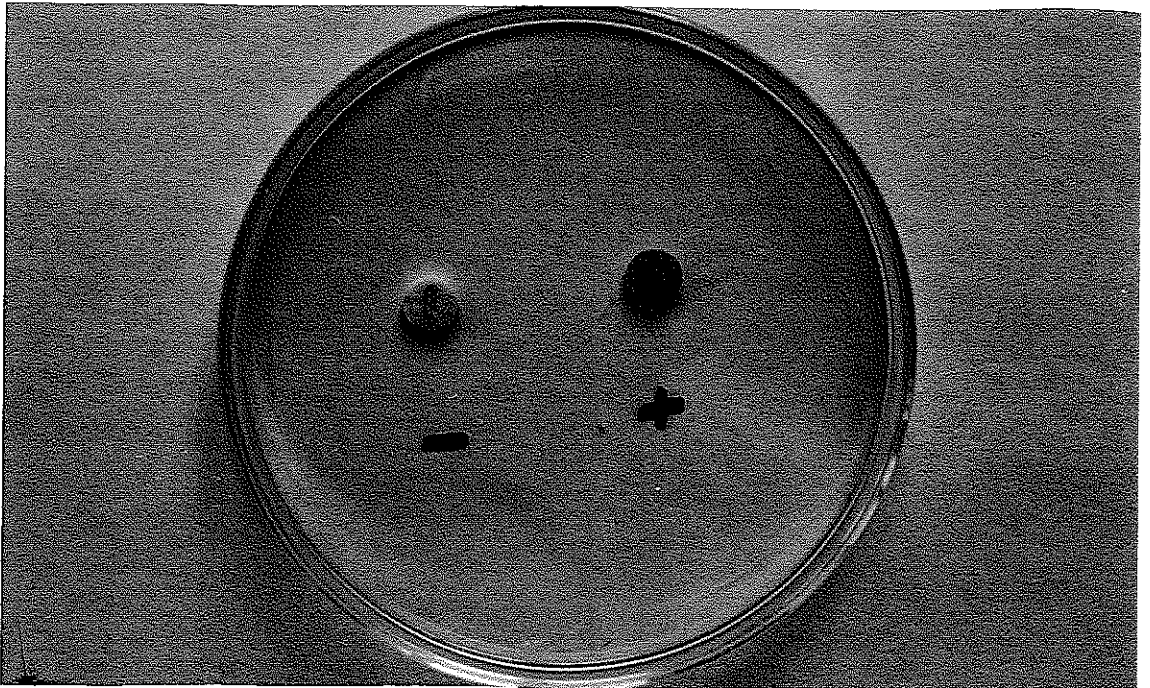
Kromojenik Sefalosporin Yöntemi İle Beta-Laktamaz Araştırılması :

E.coli suşlarının beta-laktamaz etkinliğini saptamak için kromojenik sefalosporin (Nitrocefın) ile emdirilmiş Cefınase diskleri kullanıldı. Bu bileşik, beta-laktamazlar ile beta-laktam halkasındaki amid bağının hidrolize olmasıyla çok hızlı bir şekilde sarıdan kırmızıya renk değişikliği göstermektedir (Şekil 4).

Beta-laktamaz varlığının gösterilmesi için her bir suş için bir disk kullanıldı.

Testin Yapılışı :

- 1 - Boş bir petri kutusunun içerisine gerekli sayıda disk belirli aralıklarla dizildi.
- 2 - Her bir disk bir damla distile su ile hafifçe ıslatıldı.
- 3 - Eğik jeloza saf kültürü yapılan E.coli suşundan steril öze ile alınarak disk yüzeyine sürüldü.
- 4 - 5 dk. içerisinde diskte renk değişikliği olup olmadığı gözlemlendi.



Şekil 4 : Cefınase diski ile incelenen beta-laktamaz (-) ve beta-laktamaz (+) E.coli suşları.

Mikrodilüsyon Yöntemi İle Duyarlılık Testi :

100 adet E.coli suşunun üçüncü kuşak sefalosporinlerden sefoperazon, seftriakson, sefotaksim ve seftazidime duyarlılıkları mikrodilüsyon yöntemi ile, NCCLS standartlarına göre yapılmıştır. MIC değerinin saptanmasında steril mikropiplaklarda dilüsyon testi uygulandı (31). Bu testte besiyeri olarak Ca ve Mg ile tamponlanmış Mueller-Hinton sıvı besiyeri kullanıldı. Çalışmamızda kullanılan antibiyotikler üretici firmalardan sağlanmıştır.

Deneyin Yapılışı :

- A) Mg stok solusyonunun hazırlanması : 836 mg $MgCl_2 \cdot 6 H_2O$, 10 ml distile suda eritilip filtrasyonla sterilize edildi. Kullanılincaya kadar $+4^{\circ}C$ 'de saklandı. Bu solusyon 10 mg/ml Mg^{++} içermektedir.
- B) Ca stok solusyonunun hazırlanması : 367,5 mg $CaCl_2 \cdot 2H_2O$, 10 ml distile suda eritilip filtrasyonla sterilize edildi. Kullanılincaya kadar $+4^{\circ}C$ 'de saklandı. Bu solusyon 10 mg/ml Ca^{++} içermektedir.
- C) Mueller-Hinton sıvı besiyerinin hazırlanması : 1 litre distile suya 25 gr besiyeri ilavesinden sonra pH 7,4'e ayarlandı. Otoklavda sterilize edildi. Daha sonra soğumuş besiyerine konsantrasyonları 25 mg/L Mg^{++} , 50 mg/L Ca^{++} olacak şekilde stok solusyonlardan ilave edildi.
- D) Antibiyotik stok solusyonlarının hazırlanması : Aktivitesi 947 mcg/ml olan sefoperazon, 856 mcg/ml olan seftriakson, 913 mcg/ml olan sefotaksim ve 852 mcg/ml olan seftazidimin stok solusyonları 1280 mcg/ml olacak şekilde aşağıdaki formüle göre hazırlandı :

$$\frac{\text{İstenilen konsantrasyon (mcg/ml) X Hacim (ml)}}{\text{Antibiyotiğin Aktivitesi (mcg/ml)}} = \text{Tartılacak Miktar (mg)}$$

Sefoperazon, seftriakson ve sefotaksim stok çözeltisi pH'ı 6 olan 0,1M steril fosfat tamponu, seftazidim pH'ı 7 olan 0,1M steril fosfat tamponu ile hazırlandı.

Tüm stok solusyonlar -20°C'de maksimum 30 gün saklandı. Çalışma anında solusyonlardan Mueller-Hinton sıvı besiyerinde 1/5'lik dilüsyon hazırlandı. Son konsantrasyonlar 256 mcg/ml olacak şekilde ayarlandı.

E) MIC için mikrotitrasyon plaklarının hazırlanması : Steril koşullarda mikropipet ile Ca^{++} ve Mg^{++} ile tamponlanmış Mueller-Hinton sıvı besiyerinden ilk 4 sütunun (A,B,C,D) her sırasındaki 1'den 11'e kadar olan kuyucuklara 50 µl konuldu. C sütununun 12. kuyucuğuna 50 µl, D sütununun 12. kuyucuğuna 100 µl besiyeri konuldu. Bu kuyucuklar retrospektif olarak inokulum ve besiyeri kontrolü olarak kullanıldı.

A,B,C,D sütunlarının 1. kuyucuklarına sırası ile 256mcg/ml yoğunluğundaki sefoperazon, seftriakson, sefotaksim ve seftazidimden 50 µl miktarında steril mikro pipetle konuldu.

Steril mikropipet kullanarak 1. kuyucuktan başlamak üzere 50 µl aktarımlarla 11. kuyucuktan dışarı atıldı.

F) Bakteri kültürünün hazırlanması : Mueller-Hinton sıvı besiyerinde üretilmiş taze kültürlerden 1×10^8 CFU/ml olacak şekilde McFarland 0,5 bulanıklık eşeline göre 10,5 ml 0,048M BaCl_2 (1,175 % $\text{BaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ w/v), 9,95 ml 0,18M H_2SO_4 (1 % v/v) içeren suspansiyonl Mueller-Hinton sıvı besiyeri ile sulandırıldı.

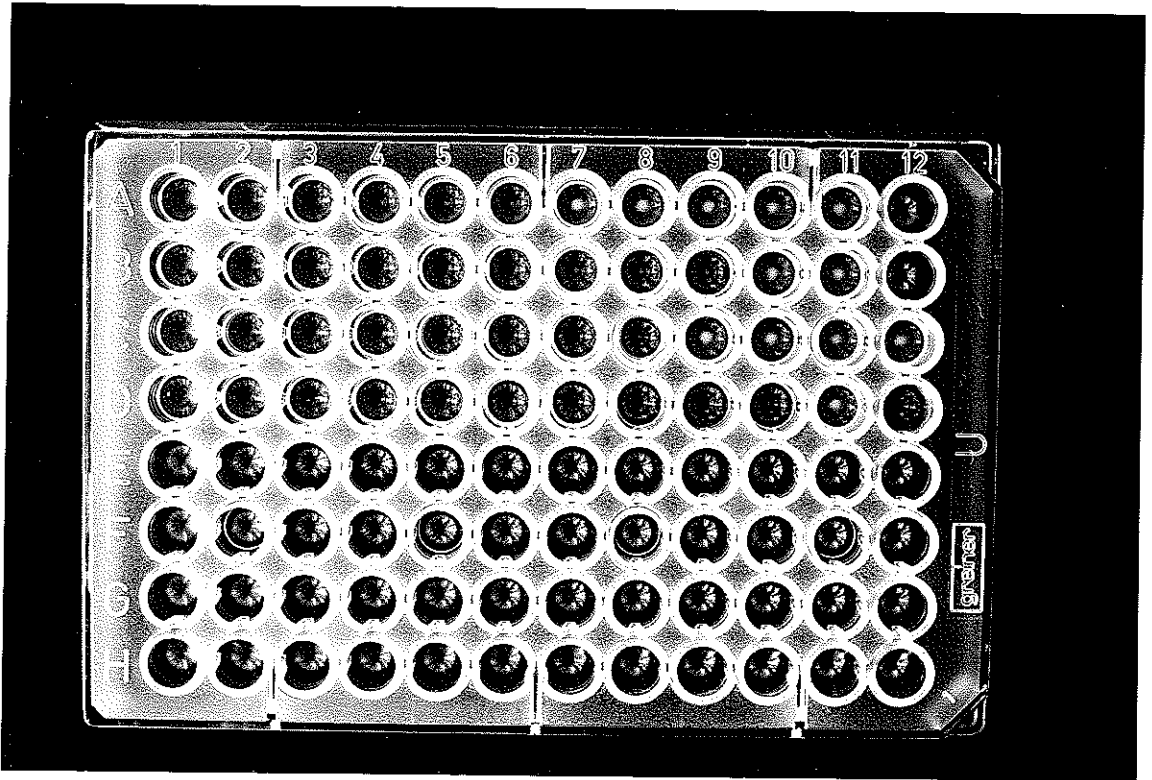
Dilüsyon yapılan tüm kuyucuklara ve bakteri kontrolü için C sütununun 12. kuyucuğuna 50 µl bakteri suspansiyonundan ilave edildi. Böylece 64 mcg/ml - 0,06 mcg/ml oranında antibiyotik sulandırma değerleri elde edildi.

Mikroplakların üzeri steril bir kapakla kapatılarak 37°C'de 18-24 saat inkübasyona bırakıldı.

Değerlendirme :

Plaklar yeterli ışık ve büyütme sağlayan göstergeçle okundu.

Besiyeri kontrol kuyucuklarında üreme olmayışı ve bakteri kontrol kuyucuğunda tam bir bulanıklık olması deneyin iyi çalıştığını gösterir. Her serideki üremenin olmadığı en son kuyucuk MIC değeri olarak kaydedildi(Şekil 5).



Şekil 5 : E.Coli suşunun sefoperazon (A sırası), seftriakson (B sırası), sefotaksim (C sırası) ve seftazidime (D sırası) mikrodilüsyon yöntemiyle duyarlılığının araştırıldığı mikrotitrasyon plağı.

E.Coli suşlarının kullandığımız antibiyotiklere duyarlılıkları NCCLS standartlarına göre değerlendirildi (Tablo 4) (31).

Tablo 4 : Kullandığımız antibiyotiklerin E.coli için standart MIC değerleri.

Antibiyotik	E. Coli MIC Değeri		
	Dirençli	Az Duyarlı	Duyarlı
Sefoperazon	≥ 64	32	≤ 16
Seftriakson	≥ 64	16 - 32	≤ 8
Sefotaksim	≥ 64	16 - 32	≤ 8
Seftazidim	≥ 32	16	≤ 8

İstatistiksel Değerlendirmeler :

Bu amaçla Fisher Kesin Ki Kare Testi uygulanmıştır.

BULGULAR

Çalışmamızda üriner sistem infeksiyonlarından izole edilen 100 adet E.coli suşunun beta-laktamaz etkinlikleriyle, sefoperazon, seftriakson, sefotaksim ve seftazidim antibiyotiklerine duyarlılıkları araştırılmıştır. Araştırma sonuçları Tablo 5'de görülmektedir.

Tablo 5 : 100 E.coli suşunun beta-laktamaz aktiviteleri ve sefoperazon, seftriakson, sefotaksim, seftazidimin bu suşlar üzerindeki MIC (mcg/ml) değerleri.

Suş No	Beta-laktamaz aktivitesi	Sefoperazon	Seftriakson	Sefotaksim	Seftazidim
1	-	64	0,5	0,25	2
2	-	0,25	0,25	0,5	0,5
3	-	> 64	8	16	2
4	-	32	2	2	16
5	-	4	4	2	4
6	-	16	2	2	0,5
7	-	0,5	0,06	0,06	0,06
8	+	32	16	4	0,5
9	+	> 64	64	> 64	64
10	-	0,5	0,06	0,06	0,06
11	-	0,12	0,12	0,12	0,12
12	-	0,12	2	1	2
13	-	0,5	0,5	0,5	0,12
14	-	4	4	2	4
15	-	16	1	16	8
16	-	0,12	0,5	0,5	0,5
17	-	8	8	4	8
18	-	0,5	0,06	0,12	0,06
19	-	64	8	4	0,5
20	-	16	2	0,5	2
21	-	2	2	1	1
22	-	0,5	0,5	0,12	0,12
23	-	64	0,5	0,5	0,5
24	-	16	16	8	0,12
25	-	0,25	1	0,12	0,06
26	-	0,25	0,06	0,06	0,06
27	-	0,12	0,06	1	0,25
28	-	2	4	2	2
29	+	8	0,5	0,12	0,25
30	-	0,5	1	1	0,06

31	-	2	1	0,5	0,5
32	+	0,5	0,25	1	0,12
33	-	0,5	0,5	0,5	0,06
34	-	0,12	0,12	0,06	0,06
35	-	64	1	1	2
36	-	8	8	4	4
37	-	8	0,5	4	0,25
38	+	> 64	0,5	0,12	0,5
39	-	64	0,5	0,12	0,12
40	-	0,25	0,06	0,12	0,06
41	-	0,5	1	1	0,5
42	-	32	0,5	0,12	0,5
43	-	64	16	2	0,12
44	-	0,5	0,5	0,5	0,5
45	-	1	0,25	0,5	1
46	-	0,12	0,12	0,12	0,06
47	-	4	4	0,25	0,5
48	-	0,12	0,12	0,12	0,12
49	+	4	4	8	0,5
50	-	0,25	0,06	0,12	0,06
51	+	64	4	16	4
52	+	16	0,5	0,25	1
53	-	4	0,25	0,12	0,12
54	-	0,25	0,25	0,25	0,12
55	-	2	0,5	0,5	0,12
56	+	> 64	64	64	16
57	-	0,12	0,06	0,06	0,5
58	-	1	0,5	2	2
59	-	0,5	0,12	0,5	2
60	-	8	8	8	4
61	-	> 64	4	0,5	2
62	-	64	8	8	8
63	-	8	0,5	0,06	0,12
64	-	0,12	0,5	0,12	0,5
65	-	2	0,5	0,06	0,12
66	+	64	8	8	4
67	-	4	2	2	2
68	-	0,5	0,12	2	0,5
69	-	2	2	0,5	1
70	-	8	4	4	0,06
71	-	2	2	2	2
72	-	2	0,5	0,5	1
73	-	0,5	0,5	0,5	0,5
74	-	0,25	0,5	0,25	0,06
75	-	16	0,25	0,25	0,25

76	-	64	4	4	0,5
77	-	8	0,25	0,25	0,5
78	-	2	2	4	0,5
79	-	4	4	4	2
80	-	0,25	0,5	0,5	0,5
81	-	64	0,5	2	4
82	-	0,5	0,25	0,25	0,5
83	-	0,12	0,12	0,12	0,12
84	+	32	0,5	0,25	0,25
85	-	0,5	0,5	0,5	0,5
86	-	64	4	4	1
87	-	1	0,5	0,5	0,06
88	-	0,5	0,06	0,06	0,25
89	-	> 64	2	1	1
90	-	32	8	4	8
91	-	8	8	8	8
92	-	64	0,25	0,06	0,25
93	-	64	4	4	4
94	-	0,12	0,5	0,06	0,06
95	-	2	2	2	2
96	-	64	4	0,5	0,06
97	-	16	0,5	8	8
98	-	64	1	2	4
99	-	0,5	0,5	8	0,12
100	-	16	4	4	0,25

Araştırılan E.coli suşlarının Cefinase diskleri ile beta-laktamaz etkinliği 11 suşta (%11) pozitif bulunmuştur (Tablo 5).

Beta-laktamaz etkinliği pozitif olan 11 E.coli suşundan 4'ü (% 36,4) sefoperazona duyarlı iken, negatif olan 89 E.coli suşundan 69'u (% 77,5) bu antibiyotiğe duyarlı idi. Toplam 100 E.coli suşundan 73'ü (%73) sefoperazona duyarlı bulundu. (Tablo 6).

Beta-laktamaz etkinliği olan ve olmayan E.coli suşlarının sefoperazona duyarlılıkları arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulundu ($p < 0,05$).

Tablo 6 : Beta-laktamaz etkinliği olan ve olmayan E.coli suşlarının sefoperazona duyarlılıkları.

	Duyarlı (%)	Az Duyarlı(%)	Dirençli(%)	Toplam (%)
Beta-laktamaz (+)	4 (36,4)	2 (18,2)	5 (45,4)	11(100.0)
Beta-laktamaz (-)	69 (77,5)	3 (3,4)	17 (19,1)	89(100.0)
T o p l a m	73 (73.0)	5 (5.0)	22 (22.0)	100(100.0)

(p < 0,05)

Beta laktamaz etkinliği pozitif olan 11 E.coli suşundan 8'i (% 72,7) seftriaksona duyarlı iken, negatif olan 89 E.coli suşundan 87'si (% 97,8) bu antibiyotiğe duyarlı idi. Toplam 100 E.coli suşundan 95'i (% 95) seftriaksona duyarlı bulundu (Tablo 7).

Beta-laktamaz etkinliği olan ve olmayan E.coli suşlarının seftriaksona duyarlılıkları arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı değildi (p > 0,05).

Tablo 7 : Beta-laktamaz etkinliği olan ve olmayan E.coli suşlarının seftriaksona duyarlılıkları.

	Duyarlı(%)	Az Duyarlı(%)	Dirençli(%)	Toplam(%)
Beta-laktamaz (+)	8 (72,7)	1 (9,1)	2 (18,2)	11 (100.0)
Beta-laktamaz (-)	87 (97,8)	2 (2,2)	0 (0)	89 (100.0)
T o p l a m	95 (95.0)	3 (3.0)	2 (2.0)	100(100.0)

(p > 0,05)

Beta-laktamaz etkinliği pozitif olan 11 E.coli suşundan 8'i (% 72.7) sefotaksime duyarlı iken, negatif olan 89 E.coli suşundan 87'si (97,8) bu antibiyotiğe duyarlı idi. Toplam 100 E.coli suşundan 95'i (95.0) sefotaksime duyarlı bulundu (Tablo 8).

Beta-laktamaz etkinliği olan ve olmayan E.coli suşlarının sefotaksime duyarlılıkları arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı değildi ($p > 0,05$).

Tablo 8 : Beta-laktamaz etkinliği olan ve olmayan E.coli suşlarının sefotaksime duyarlılıkları.

	Duyarlı (%)	Az Duyarlı (%)	Dirençli (%)	Toplam (%)
Beta-laktamaz (+)	8 (72,7)	1 (9,1)	2 (18,2)	11 (100.0)
Beta-laktamaz (-)	87 (97,8)	2 (2,2)	0 (0)	89(100.0)
T o p l a m	95 (95.0)	3 (3.0)	2 (2.0)	100(100.0)

($p > 0,05$)

Beta-laktamaz etkinliği pozitif olan 11 E.coli suşundan 9'u (% 81,8) seftazidime duyarlı iken, negatif olan 89 E.coli suşundan 88'i (% 98,9) bu antibiyotiğe duyarlı idi. Toplam 100 E.coli suşundan 97'si (% 97.0) seftazidime duyarlı bulundu (Tablo 9).

Beta-laktamaz etkinliği olan ve olmayan E.coli suşlarının seftazidime duyarlılıkları arasındaki fark anlamlı değildi ($p > 0,05$).

Tablo 9 : Beta-laktamaz etkinliği olan ve olmayan E.coli suşlarının seftazidime duyarlılıkları.

	Duyarlı (%)	Az Duyarlı (%)	Dirençli (%)	Toplam (%)
Beta-laktamaz (+)	9 (81,8)	1 (9,1)	1 (9,1)	11 (100.0)
Beta-laktamaz (-)	88 (98,9)	1 (1,1)	0 (0)	89 (100.0)
T o p l a m	97 (97.0)	2 (2.0)	1 (1.0)	100 (100.0)

(p > 0,05)

TARTIŞMA

Bir çok bakteri türü idrar yolu infeksiyonlarına neden olabilmektedir. En sık rastlanan etken *E.coli*'dir. *E.coli*'nin üroepitelyal hücrelere adheransının artması, serumun bakterisidal aktivitesine direnci, K antijeninin yüksek miktarı ve hemolizin oluşturması, hastalık yapma kapasitesini arttırmaktadır (5, 12, 36, 40, 47).

Beta-laktam antibiyotikler tüm bakteriyel infeksiyonların tedavisinde önemli bir yer tutmaktadır. Bu antibiyotiklere karşı gelişen dirençte en sık görülen mekanizma, bakterilerin sentezledikleri beta-laktamaz enzimleriyle. Beta-laktam antibiyotiklerden üçüncü kuşak sefalosporinler bakteriyel beta-laktamazlara karşı daha dirençlidirler (4, 13, 14, 34).

Üriner sistem infeksiyonlarından en sık izole edilen gram negatif enterik bakterilerin tedavisinde üçüncü kuşak sefalosporin kullanılması, bu antibiyotiklere karşıda direnç gelişmesinin artmasına yol açmıştır (7, 14, 19, 34).

E.coli beta-laktamazları kromozomal veya plazmid kontrolünde yapılmaktadır. Sefalosporinlere etkili en önemli kromozomal enzimler olan Class I beta-laktamazlar, *E.coli* tarafından yapısal olarak az miktarda sentezlenmekte, bakteriyi korumada yetersiz olmaktadır (28).

E.coli plazmidleri tarafından kodlanan beta-laktamazlardan en sık bulunanlar, TEM-1, TEM-2 ve SHV-1 enzimleridir. bu beta-laktamazlar ampisilin, karbenisilin ve tikarsiline çok etkili iken birinci kuşak sefalosporinlere, üreidopenisilinlere ve sefoperazona daha zayıf etkiye

sahiptirler. Diğer yandan yeni sefalosporinlere, monobaktamlara ve karbapenemlere etki etmezler (28).

TEM-1, TEM-2 ve SHV-1 beta-laktamaz enzimlerinden birkaç aminoasit değişimi ile mutasyon sonucu ortaya çıkan "Extended broad spectrum" (EBS) beta-laktamazlar ikinci ve üçüncü kuşak sefalosporinleri hidroliz edebilmektedirler. E.coli'nin üçüncü kuşak sefalosporinlere direnç kazanmasında bu enzimler çok önemlidir (7, 20, 21, 28).

Philippon ve arkadaşları, E.coli suşlarındaki EBS beta-laktamazların epidemiyolojisi ile ilgili yaptıkları çalışmada, E.coli suşlarındaki EBS beta-laktamazları tiplendirmişler, TEM-3 enzimini % 26,1, SHV-2 enzimini % 8,7, SHV-4 enzimini % 8,7 ve diğerlerini (TEM-4, 5, 7, vs) % 56,5 oranında saptamışlardır (35). Bu yeni TEM ve SHV variantları yaygın olarak, tüm dünyada bildirilmektedir.

Çalışmamızın ilk bölümünde, kromojenik sefalosporin (Nitrocefın) emdirilmiş Cefınase diski ile 100 E.coli suşundan 11'inde (%11) beta-laktamaz etkinliğini pozitif bulduk. Kocabeyoğlu ve arkadaşları çeşitli materyallerden izole edilen 67 E.coli suşunun beta-laktamaz etkinliğini nitrosefin yöntemiyle araştırmışlar ve % 9'unda pozitif bulmuşlardır (25). Turhanoğlu ve arkadaşları ise 100 E.coli suşunun beta-laktamaz etkinliğini asidometrik yöntemle araştırmışlar % 17 oranında pozitiflik saptamışlardır (45). Esposito ve arkadaşları, üriner sistem infeksiyonlarından izole edilen 186 E.coli suşunun beta-laktamaz etkinliğini nitrosefin yöntemi ile çalışarak % 35,5 gibi yüksek oranda pozitiflik bulmuşlardır (15).

Bizim bulgularımız ile Kocabeyoğlu ve Turhanoğlu'nun sonuçları arasında belirli bir yakınlık vardır. Esposito'nun

bulguları ise bizimkilere göre oldukça yüksektir. Fakat bakterilerin beta-laktamaz üretiminin bölgesel, hatta aynı bölgedeki hastaneler arasında farklılıklar gösterebileceği bilinmektedir (35).

Çalışmamızın ikinci bölümünde mikrodilüsyon yöntemiyle, beta-laktamaz etkinliği olan ve olmayan toplam 100 E.coli suşunun sefoperazon, seftriakson, sefotaksim ve seftazidime duyarlılıklarını saptadık. Sefoperazona % 73, seftriaksona % 95, sefotaksime % 95, seftazidime % 97 oranlarında duyarlı bulduk. E.coli suşlarında en fazla direnci sefoperazona karşı saptadık. Ayrıca beta-laktamaz etkinliği olan suşlar sefoperazona büyük oranda dirençli idi. Beta-laktamaz etkinliği olan ve olmayan suşların sefoperazona duyarlılıkları arasındaki fark istatistiki olarak anlamlı bulundu ($p < 0,05$).

E.coli suşlarının seftriakson, sefotaksim ve seftazidime duyarlılıkları yüksek oranda idi. Beta-laktamaz etkinliği olan ve olmayan suşların bu antibiyotiklere duyarlılıkları arasındaki fark istatistiki olarak anlamlı değildi ($p > 0,05$).

Akalın ve arkadaşları çeşitli klinik örneklerden izole edilen 120 E.coli suşunun sefoperazon, seftriakson, sefotaksim ve seftazidime duyarlılıklarını mikrodilüsyon yöntemiyle çalışmışlar ve sırasıyla % 80,8, % 89,2, % 95,8, % 95,8 oranlarında duyarlı bulmuşlardır (3).

Willke ve arkadaşları idrar yolu infeksiyonlarından izole edilen 50 E.coli suşunun çeşitli antibiyotiklere duyarlılıklarını mikrodilüsyon yöntemi ile araştırmışlar ve sefoperazona % 74, seftriaksona % 100, sefotaksime % 100 oranında duyarlı bulmuşlardır (49).

Okan ve arkadaşları çeşitli muayene materyallerinden izole edilen 50 E.coli suşunun 3.kuşak sefalosporinlere duyarlılıklarını disk diffüzyon yöntemiyle çalışmışlar, sefoperazona % 62, seftriaksona % 80, sefotaksime % 76, seftazidime % 80 oranında duyarlılık saptamışlardır (33).

Kaynar ve arkadaşları üriner sistemden izole edilen 177 E.coli suşunun sefoperazon, seftriakson ve sefotaksime duyarlılıklarını disk diffüzyon yöntemini uygulayarak sırası ile % 67,2, % 81,9, % 76,8 oranlarında bulmuşlardır (23).

Kılıç ve arkadaşları idrar kültürlerinden izole edilen 718 E.coli suşunun çeşitli antibiyotiklere duyarlılıklarını disk diffüzyon yöntemiyle çalışmışlar ve sefoperazona % 76,5 sefotaksime % 86,8 oranında duyarlı bulmuşlardır (24).

Ayyıldız ve arkadaşları üriner sistem infeksiyonlarından izole edilen 407 E.coli suşunun sefoperazon, seftriakson, sefotaksime duyarlılıklarını disk diffüzyon yöntemiyle çalışmışlar ve sırasıyla % 76,2, % 80,6, % 82,8 oranlarında saptamışlardır (5).

Coşkun ve arkadaşları idrar yolu infeksiyonlarından izole ettikleri 351 E.coli suşunun sefoperazon ve seftriaksona duyarlılıklarını, disk diffüzyon yöntemiyle % 54,2 ve % 86,3 oranlarında bulmuşlardır (12).

E.coli'lerin üçüncü kuşak sefalosporinlere duyarlılıklarını gösteren, Türkiye'de yapılmış çalışmalar Tablo 10'da sunulmuştur.

Tablo 10 : E.coli'lerin 3.kuşak sefalosporinlere duyarlılık durumlarını gösteren Türkiye'de yapılmış çalışmalar.

Araştırmacı	Kullanılan Yöntem	Sefoperazon %	Seftriakson %	Sefotaksim %	Seftazidim %
Akalın, 1987	Mikrodilüsyon	80.8	89.2	95.8	95.8
Willke, 1987	"	74.0	100.0	100.0	-
Ayyıldız, 1988	Disk diffüzyon	76.2	80.6	82.8	-
Okan, 1990	"	62.0	80.0	76.0	80.0
Kaynar, 1990	"	67.2	81.9	76.8	-
Kılıç, 1990	"	76.5	-	86.8	-
Coşkun, 1990	"	54.2	86.3	-	-

Gerek bizim çalışmamızın, gerekse Türkiye'de yapılan diğer çalışmaların sonuçlarına göre, E.coli suşlarının sefoperazona duyarlılığı diğer antibiyotiklere göre daha azdır. Sefoperazona karşı duyarlılığın düşük bulunmasının nedeni ; E.coli suşlarında ilk defa sentezlenen ve sıklıkla bulunan TEM-1, TEM-2 ve SHV-1 enzimleri bu antibiyotiğe karşı etkiliyken, diğer üçüncü kuşak sefalosporinlere etkisinin olmaması, ayrıca sefoperazonun ilk çıkan üçüncü kuşak sefalosporin oluşu nedeniyle, fazla miktarda ve gelişigüzel kullanılmasına bağlı olarak bakterilerde direnç gelişmiş olabileceğidir (5, 12, 28, 49).

Çalışma bulgularımıza göre E.coli suşlarında seftriakson, seftotaksim ve seftazidimede az da olsa direnç saptanmıştır. Bilindiği gibi E.coli'de üçüncü kuşak sefalosporinlere direnç en fazla EBS beta-laktamazlarıdır. Nadiren, porin kanallarında mutasyon ile olan değişiklikler ve mutasyona uğramış Class I kromozomal beta-laktamazların aşırı üretimiyle de direnç gelişebilir (7, 20, 21, 28).

Dirençli suşlarda bulunan beta-laktamazların farklılığını göstermek ve beta-laktamazların genel bir sınıflandırmasının yapılabilmesi için IEF (Isoelectric Focusing) yöntemi kullanılabilir (18).

Jacoby ve arkadaşları yaptıkları çalışmada TEM-1, TEM-2, SHV-1 enzimleri ve EBS beta-laktamazlardan bazılarının (TEM-3, 4, 5, 6, 7, 9, CA2-2, SHV-2, 3, 4, 5,) seftriakson, seftotaksim ve seftizidime etkisini agar dilüsyon metoduyla çalışmışlar ve TEM-1, TEM-2, SHV-1 enzimlerinin bu antibiyotiklere etkisiz olduğunu saptamışlardır (20). Bauerfeind, EBS beta-laktamazların sefoperazon, seftotaksim ve seftazidime etkisini agar dilüsyon metoduyla araştırmış ve bu enzimleri genellikle etkili bulmuştur (7).

Daha ileri aşamada yapılacak çalışmalarda, E.coli suşlarında varlığını saptadığımız beta-laktamaz enzimlerinin IEF yöntemi kullanılarak tiplendirilmesi ve EBS olduğu düşünülen enzimlerin tanımlanmaları için bu suşlardaki enzim sentezinin plazmid kontrolünde olduğunun gösterilmesi, ayrıca enzimlerin substrat profillerinin spektrofotometrik deneylerle belirlenmesinin yararlı olacağını düşünmekteyiz.

SONUÇ

Üriner infeksiyonlar, hastane dışı infeksiyonlar arasında sıklık açısından, solunum sistemi infeksiyonlarının ardından ikinci sırada yer almaktadır. Yeni bir çok antibiyotiğin kullanıma girdiği son zamanlarda bile üriner sistem infeksiyonları halen önemini korumaktadır.

Beta-laktam antibiyotiklerin tüm dünyada yaygın olarak kullanılmaları sonucunda bakterilerin bu grup antibiyotiklere karşı geliştirdikleri direnç artmaktadır. Beta-laktam antibiyotiklere karşı oluşan dirençte en sık gözlenen mekanizma beta-laktamaz enzimleri ile bu antibiyotiklerin inaktive edilmesidir. Bu sorunu çözmek için son yıllarda beta-laktamaz enzimlerine dayanıklı beta-laktam antibiyotikleri ve beta-laktamaz inhibitörleri geliştirilmiş ancak bu yeni antibiyotiklere karşıda bakterilerin direnç kazandığı saptanmıştır.

Bakterilerde enzimatik direncin değişik mekanizmalarla oluşabileceği gözlenmiştir. Beta-laktamaz enzimlerinin tiplendirilmesi ve bakteri toplumunda hangi tip enzimlerin daha yaygın olduğunun bilinmesi, bunlara karşı önlem alınabilmesi açısından gereklidir.

Günümüzde üriner sistem infeksiyonların tedavisinde sıklıkla kullanılan, çok pahalı olduklarından genellikle yeterli doz ve yeterli süre kullanılmayan ve bilinçsizce yazımı olan üçüncü kuşak sefalosporinlere karşı artan direnç bildirilmektedir. Üriner infeksiyonlarda en sık etken olan E.coli'lerin bu antibiyotiklere karşı geliştirdikleri direnç genellikle "Extended broad spectrum" (EBS) beta-laktamaz enzimleri iledir.

Çalışmamızda üriner sistem infeksiyonlarından izole edilen E.coli suşlarının beta-laktamaz etkinliği yurdumuzda yapılan diğer çalışmalara paralel olarak % 11 oranında saptanmıştır. Ayrıca beta-laktamaz etkinliği olan ve olmayan suşların ilk kullanılan üçüncü kuşak sefalosporin olan sefoperazona direnci istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur. Daha sonraki yıllarda kullanılmaya başlanan seftriakson, sefotaksim ve seftazidime direnç henüz istatistiksel yönden anlamlı bulunmamıştır.

Bakterilerde antibiyotiklere karşı oluşan direnç, tekrarlayan infeksiyonlara sık rastlanan üriner sistem infeksiyonlarında önemli olmaktadır. Ülkemizde yakın zamandan beri kullanılmalarına rağmen direnç gelişmeye başladığı için üçüncü kuşak sefalosporinlerin, basit infeksiyonlarda ve profilakside kullanılmamaları ve diğer antibiyotiklerin yetersiz kaldığı ağır infeksiyonlar için saklanmaları uygun olacaktır.

ÖZET

Günümüzde kullanılan üriner sistem infeksiyonlarının tedavisinde sıklıkla kullanılan üçüncü kuşak sefalosporinlere karşı artan direnç bildirilmektedir. Üriner infeksiyonlarda en sık etken olan E.coli'lerin bu antibiyotiklere karşı geliştirdikleri direnç genellikle "Extended broad spectrum" (EBS) beta-laktamaz enzimleri ile olmaktadır.

Çalışmamızda, Akdeniz Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi Merkez Mikrobiyoloji Laboratuvarına gelen idrar örneklerinden izole edilen 100 adet E.coli suşunun Cefinase diski ile beta-laktamaz etkinliği 11 suşta (%11) pozitif bulunmuştur. Ayrıca bu suşların mikrodilüsyon yöntemiyle sefoperazon, seftriakson, sefotaksim ve seftazidim antibiyotiklerine duyarlılıkları sırası ile % 73, % 95, % 95 ve % 97 oranlarında saptanmıştır. Beta-laktamaz etkinliği olan ve olmayan E.coli suşlarının ilk kullanılan üçüncü kuşak sefalosporin olan sefoperazona direnci istatistiksel olarak anlamlı iken ($p < 0,05$), daha sonraki yıllarda kullanılmaya başlanan seftriakson, sefotaksim ve seftazidime direnci henüz istatistiksel yönden anlamlı bulunamamıştır ($p > 0,05$).

Antibiyotiklere duyarlılık durumu bölgesel değişimler gösterdiğinden, üriner infeksiyonların ve diğer infeksiyonların tedavisinde her bölgenin antibiyotik patterninin belirlenmesi ve duyarlı antibiyotiklerden seçim yaparken, elimizde mevcut etkili silahlardan üçüncü kuşak sefalosporinlere, direnç gelişmesini geciktirmek için son tercih edilecek antibiyotikler olmasına özen gösterilmesi yararlı olacaktır.

KAYNAKLAR

- 1 - Acar JF, Minozzi C : Role of β -lactamases in the resistance of gram-negative bacilli to β -lactam antibiotics. Rev Infect Dis 8: 482-486, 1986.
- 2 - Akalın HE, Baykal M : Sefalosporin grubu antibiyotikler. Antibiyotikler : Temel Bilgiler ve Klinik kullanımları. 1.Baskı (Ed: Akalın HE)'da. Ankara, Türk Tabibler Birliği Yayınları, 1989 s: 58-64.
- 3 - Akalın HE, Köksal İ, Kardeş T, Baykal M : Çeşitli antibiyotiklerin gram negatif bakterilere in vitro aktiviteleri. Ankem Derg 1: 79-84, 1987.
- 4 - Aktaş F : Sefalosporinler. Antimikrobia Kemoterapi : Klinik Uygulama ve Yenilikler (Ed: Meço O, Willke A, Balık İ, Kurt H)'da. Türk Mikrobiyoloji Cemiyeti Yayınları, No:17, 1992 s: 57-67.
- 5 - Ayyıldız A, Balkan R, Babacan M : İdrar yolu infeksiyonlarından izole edilen Escherichia coli'lerin üçüncü kuşak sefalosporinler ve ofloksasine duyarlılıklarının in vitro araştırılması. Türk Mikrobiyol Cem Derg 19: 1-5, 1989.
- 6 - Baron EJ, Finegold SM : Bailey and Scott's Diagnostic Microbiology. 8th Edition, CV Mosby Company, 1990 s: 253-262.
- 7 - Bauerfeind A : Perspectives of beta-lactamases inhibitors in therapy of infections caused by Escherichia coli or Klebsiella with plasmidic resistance to third generation cephalosporins. Infection, 18: 56-60, 1990.

- 8 - Bilgehan H : Klinik Mikrobiyoloji ; Özel Bakteriyoloji ve Bakteri Enfeksiyonları. Bornova, İzmir, Barış Yayınları, 1992 s: 4-13.
- 9 - Bush K, Sykes RB : Methodology for the study of β -lactamases. Antimicrob Agents Chemother 30: 6-10, 1986.
- 10- Cooksey RC : Mechanisms of resistance to antimicrobial agents. Manual of Clinical Microbiology, Fifth Edition (Ed: Balows A, Hausler WJ, Herrmann KL, Isenberg HD, Shadomy HJ)'da. Washington DC, American Society for Microbiology, 1991 s: 1099-1104.
- 11- Çalangu S : Hastane dışı üriner enfeksiyonlar. İnfeks Derg 4: 735-743, 1990.
- 12- Coşkun Ş, Yücedağ G, Önder Y, Ünlü E : İdrar yolu enfeksiyonlarında izole edilen bakteriyel etkenler ve bunların antimikrobik'lere karşı duyarlılıklarının son dört senelik değerlendirilmesi. Türk Mikrobiyol Cem Derg 21: 167-179, 1991.
- 13- Donowitz GR : Third Generation Cephalosporins. Infectious Disease Clinics of North America 3: 595-612, 1989.
- 14- Donowitz GR, Mandell GL : Cephalosporins. Principles and Practice of Infectious Diseases, Third Edition (Ed: Mandell GL, Douglas RG, Bennet JE)'da. New York, Churchill Livingstone, 1990 s: 246-257.
- 15- Esposito S, Galante D, Barba D, Pennucci C, Limaure D : Comparative activity of Ceftizoxime and four other cephalosporins against gram negative bacteria and their sensitivity to β -lactamases. Microbiologica 8: 197-204, 1985.

- 16- Gunn BA, Keiser JF, Almazan RD : Culture Media, tests and reagents in bacteriology. Clinical and Pathogenic Microbiology (Ed: Howard BJ, Klaas J, Rubin SJ, Weissfeld AS, Tilton RC)'da. St.Louis, CV Mosby Co., 1987 s: 853-854.
- 17- Gür D : Gram negatif bakterilerde antibiyotik direnci ve hastane infeksiyonlarındaki rolü. Ankem Derg 3: 464-474, 1989.
- 18- Gür D, Akalın HE, Baykal M, Doğrul F : Yeni kuşak beta-laktam antibiyotiklere dirençli Klebsiella ve Enterobacter suşlarında "Isoelectric Focusing" yöntemi kullanılarak beta-laktamaz enzimlerinin tiplen-dirilmesi. Mikrobiyol Bült 26: 1-11, 1992.
- 19- Gür D, Akalın HE, Baykal M, Kardeş T : Gram negatif bakterilerin sefalosporin grubu antibiyotiklere direncinde beta-laktamaz enzimlerinin rolü. Ankem Derg, 2: 323-325, 1988.
- 20- Jacoby GA, Carreras I : Activities of β -lactam antibiotics againsts Escherichia coli strains producing extended-spectrum β -lactamases. Antimicrob Agents Chermother 34: 858-862, 1990.
- 21- Jacoby GA, Sutton L : β -lactamases and β -lactam resistance in Escherichia coli. Antimicrob Agents Chermother 28: 703-705, 1985.
- 22- Karabiber N, Türet S : Üriner ve fekal kaynaklı Esherichia coli suşlarında mannoz-resistan hemagglütinasyon (MRHA), tip 1 fimbriya ve hemoliz yapma özelliklerinin araştırılması. Mikrobiyol Bült 26: 12-16, 1992.

- 23- Kaynar V, Koşanoğlu R, Akata F, Bozkurt Y : İdrar yolu infeksiyonlarından izole edilen bakteriler ve antibiyotiklere duyarlılıkları. Türk Mikrobiyol Cem Derg 20: 253-258, 1990.
- 24- Kılıç SS, Felek S, Aşcı Z, Barlas H, Orak S : İdrar yolu infeksiyonlarından izole edilen bakterilerin çeşitli antibiyotiklere duyarlılıkları. İnfeks Derg 4: 571-577, 1990.
- 25- Kocabeyoğlu Ö, Koşan E, Öztürkeri H, Yılmaz M, Özer MT: Gram negatif bakterilerde beta-laktamaz aktivitesinin araştırılması. Ankem Derg 5: 128, 1991.
- 26- Korten V, Ünal S : Beta-laktamaz inhibitörü, beta-laktamaz antibiyotik kombinasyonları. Antibiyotikler : Temel Bilgiler ve Klinik Kullanımları, 1.Baskı (Ed: Akalın HE)'da. Ankara Türk Tabibler Birliği Yayınları, 1989 s: 65-72.
- 27- Küçük MA : Bakterilerin kemoterapötik maddelere direnç mekanizmaları. Türk Mikrobiyol Cem Derg 18: 170-176, 1988.
- 28- Livermore DM : Mechanisms of resistance to β -lactam antibiotics. Scand J Infect Dis suppl 78: 7-16, 1991.
- 29- Mayer KH, Opal SM, Medeiros AA : Mechanisms of antibiotic resistance. Principles and Practice of Infectious Diseases, Third Edition (Ed: Mandell GL, Douglas RG, Bennet JE)'da. New York, Churchill Livingstone, 1990 s: 218-228.
- 30- Murray BE : Problems and mechanisms of antimicrobial resistance. Infectious Disease Clinics of North America, 3: 423-439, 1989.

- 31- National Committee for Clinical Laboratory Standards, Approved Standard M7-A : Methods for dilution antimicrobial susceptibility tests for bacteria that grow aerobically, Villanova, Pa., 1985.
- 32- Neu HC : Overview of mechanisms of bacteriel resistance. Diagn Microbiol Infect Dis 12: 109-116, 1989.
- 33- Okan G, Batur T : Üçüncü kuşak sefalosporinlerin *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli* ve *Proteus* suşlarına in vitro etkisi. Ankem Derg 4: 114-118, 1990.
- 34- Pechere JC : Resistance to third generation cephalosporins : the Current situation. Infection 17: 333-337, 1989.
- 35- Philippon A, Redjed SB, Fournier G, Hassen AB : Epidemiology of extended spectrum β -lactamases. Infection 17: 347-354, 1989.
- 36- Rota S, Kuştımur S, Türet S, Gülsayın C : İdrar yolu infeksiyonu yapan *Escherichia coli*'lerin mannoz-sensitif (MS) ve mannoz-rezistan (MR) adezinleri bakımından incelenmesi. İnfeks Derg 4: 563-570, 1990.
- 37- Sanders CC : β -lactamases of gram-negative bacteria : New challenges for new drugs. Clinical Infectious Diseases 14: 1089,1099, 1992.
- 38- Sanders CC, Sanders WE : Microbial resistance to newer generation β -lactam antibiotics : Clinical and Laboratory Implications. J Infect Dis 151:399-406, 1985.
- 39- Sirot D, Chanal C, Labia R, Sirot J : Susceptibility of new β -lactams to the expanded-spectrum β -lactamase CTX-1. Infection 17: 34-36, 1989.

- 40- Sobel JD, Kaye D : Urinary tract infections. Principles and Praticce of Infectious Diseases, Third Edition (Ed: Mandell GL, Douglas RG, Bennet JE)'da. New York, Churchill Livingstone, 1990 s: 582-611.
- 41- Stratton CW, Cooksey RC : Susceptibility tests : Special tests. Manual of Clinical Microbiology, Fifth Edition (Ed: Balows A, Hausler WJ, Herrmann KL, Isenberg HD, Shadomy HJ)'da. Washington DC, American Society for Microbiology, 1991 s: 1153-1165.
- 42- Tilton RC, Howard BJ : Antimicrobial susceptibility testing. Clinical and Pathogenic Microbiology, (Ed: Howard BJ, Klaas J, Rubin SJ, Weissfeld AS, Tilton RC)'da. St.Louis, CV Mosby Co., 1987 s: 121-156.
- 43- Töreci K : Sefalosporinler I. tarihçe, yapı, etki mekanizması, gruplandırma ve direnç mekanizmaları. Ankem Derg 1: 90-99, 1987.
- 44- Töreci K :Antibiyotik direnç mekanizmaları. Ankem Derg 3: 445-456, 1989.
- 45- Turhanoglu M, Arıkan E, Atmaca S : Çeşitli materyallerden soyutlanan bazı bakterilerde beta-laktamaz enzimi ve antibiyotik duyarlılıkları. İnfeks Derg 5: 37-43, 1991.
- 46- Türkyılmaz FR : Beta-laktamaz inhibitörleri ve beta-laktam antibiyotiklerle kombinasyonları. Antimikrobia Kemoterapi : Klinik Uygulama ve Yenilikler (Ed: Meço O, Willke A, Balık İ, Kurt H)'da. Türk Mikrobiyol Cem Yayınları, No:17, 1992 s: 68-78.
- 47- Ünal S, Akalın HE : Üriner sistem infeksiyonları. İnfeksiyon Hastalıkları : Akut Bakteriyal İnfeksiyonlara Yaklaşım, 1.Baskı (Ed: Kanra G, Akalın HE)'da. Ankara, Güneş Kitabevi Yayınları, 1991 s: 167-189.

- 48- Wiedemann B, Peter K : Induction of beta-lactamase in gram-negative bacteria Diagn Microbiol Infect Dis 12: 131-137, 1989.
- 49- Willke A, Ertuğrul N, Tural D : İdrar yolu infeksiyonlarından izole edilen bazı gram-negatif bakterilerin üçüncü kuşak sefalosporinlere duyarlılıklarının in vitro saptanması. İnfeks Derg 2: 199-204, 1988.
- 50- Yao JDC, Moellering RC : Antibacterial Agents. Manual of Clinical Microbiology, Fifth Edition (Ed: Balows A, Hausler WJ, Herrmann KL, Isenberg HD, Shadomy HJ)'da. Washington DC, American Society for Microbiology, 1991 s: 1065-1098.
- 51- Yüce K : Antibiyotikler ve İnfeksiyon Hastalıklarında Tedavi Prensipleri. Bornova, İzmir ; Bilgehan Basımevi, 1988 s: 3-36.