

T.C.
DOKUZ EYLÜL ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ

**YENİDOĞAN BEBEKLERİN AEROBİK
NORMAL FEKAL FLORALARINDA
BETA-LAKTAM ANTİBİYOTİK DİRENCİ**

Dr. Murat DUMAN

**ÇOCUK SAĞLIĞI VE HASTALIKLARI ANABİLİM DALI
UZMANLIK TEZİ**

69050

**İZMİR
1998**

69050

T.C.
DOKUZ EYLÜL ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ

**YENİDOĞAN BEBEKLERİN AEROBİK
NORMAL FEKAL FLORALARINDA
BETA-LAKTAM ANTİBİYOTİK DİRENCİ**

Dr. Murat DUMAN

**ÇOCUK SAĞLIĞI VE HASTALIKLARI ANABİLİM DALI
UZMANLIK TEZİ**

**DANIŞMAN ÖĞRETİM ÜYESİ
Doç. Dr. Hasan ÖZKAN**

**İZMİR
1998**

İÇİNDEKİLER

SAYFA NO

İçindekiler.....	I
Tablo Listesi.....	III
Şekil Listesi.....	IV
Ekler Listesi.....	IV
Kısaltmalar.....	V
ÖZET	1
SUMMARY	3
1.GİRİŞ VE AMAÇ	5
2.GENEL BİLGİLER	7
2.1.ANTİMİKROBİYAL İLAÇLARA DİRENÇ	7
2.1.1.Antibiyotik Direncinin Genetik Mekanizmaları.....	7
2.1.1.1.Plazmidlere Bağlı Direnç.....	8
2.1.1.2.Aktanlabilir Genetik Elementlere Bağlı Direnç.....	9
2.1.1.3.DNA İntegrasyon Elementlerine Bağlı Direnç.....	10
2.1.1.4.Kromozomal Direnç.....	11
2.1.2.Direnç Genlerinin Yayılım Mekanizmaları.....	11
2.1.3.Antibiyotiklere Karşı Direnç Gelişiminin Tarihçesi.....	12
2.1.4.Antimikrobiyal Ajanlara Karşı Direnç Gelişim Mekanizmaları.....	13
2.1.4.1.Bakteriyal Membranlarda Değişiklikler.....	13
2.1.4.1.1.Dış Membran Geçirgenliğinde Azalma.....	13
2.1.4.1.2.İç Membran Geçirgenliğinde Azalma.....	16
2.1.4.1.3.Antibiyotik Dışarı Atımında Artış (aktif efflux).....	17
2.1.4.2.İlacın Bakteri Hücreesindeki Hedefinin Değiştirilmesi.....	17
2.1.4.2.1.Ribozomal Hedef Alanlarında Değişiklik.....	17
2.1.4.2.2.Hücre Duvarı Öncül Hedeflerinde Değişiklik.....	18
2.1.4.2.3.Hedef Enzimlerde Değişiklik.....	19
2.1.4.2.3.1.PBP'de değişiklik.....	19
2.1.4.2.3.2.Sulfonamidlere ve Trimetoprim Karşı Direnç Gelişimi.....	19
2.1.4.2.3.3.Kinolonlara Karşı Direnç Gelişimi.....	20
2.1.4.3.Antibiyotiğin Hedefinin Dışında Yeni Bir Metabolik Yolun Kullanımı.....	21
2.1.4.4.Enzim Sentezi.....	21
2.1.4.4.1.Beta Laktamaz Enzim Üretimi.....	21
2.1.4.4.2.Aminoglikozid Yapısını Değiştiren Enzimler.....	21
2.1.4.4.3.Kloramfenikol Asetiltransferaz Enzim Üretimi.....	22
2.1.4.4.4.Eritromisin Esteraz Enzim Üretimi.....	22
2.2.BETA LAKTAM ANTİBİYOTİKLERE KARŞI DİRENÇTE	
ROL OYNAYAN MEKANİZMALAR	24
2.2.1.Penisilin Bağlayan Proteinlerde Değişimler.....	24
2.2.2.Beta Laktam Antibiyotiklerin Hedef Enzimlerine Ulaşmasındaki Yetersizliğe Bağlı Direnç.....	26
2.2.3.BETA LAKTAMAZLAR	26
2.2.3.1.Beta Laktamazların Sınıflandırılması.....	27
2.2.3.2.Beta Laktamazların Sınıflandırılmasında Kullanılan Kriterler.....	28
2.2.3.3.Moleküler Yapılarına Göre Beta Laktamazlar.....	29
2.2.3.4.Bush-Jacoby-Medeiros Sınıflandırması.....	29
2.2.3.4.1.Ana Hatırı ile Bush-Jacoby-Medeiros Sınıflandırmasındaki Beta Laktamazlar.....	30
2.2.3.5.Kromozomal Beta Laktamazlar.....	33
2.2.3.5.1.İndüklenebilen Kromozomal Beta Laktamazlar.....	34
2.2.3.5.2.Beta Laktamaz İndüksiyonu ve Derepresyonun Genetik Kontrolü.....	34
2.2.3.5.3.İndüklenebilir Beta Laktamazların Klinik Önemi.....	35
2.2.3.5.4.Moleküler grup A ve grup B'deki Kromozomal Beta Laktamazlar.....	36
2.2.3.6.Plazmid Kontrolündeki Beta Laktamazlar.....	37
2.2.3.6.1.TEM ve SHV Beta Laktamazlar.....	37

2.2.4.GENİŞLEMİŞ SPEKTRUMLU BETA LAKTAMAZLAR (ESBL).....	38
2.2.4.1.ESBL Yapımının Klinik Açısından Önemi	39
2.3.YENİDOĞAN YOĞUN BAKIM ÜNİTESİNDE NOZOKOMİYAL İNFEKSİYON	42
2.3.1.Epidemiyoloji	43
2.3.2.Etiyoloji	44
2.3.3.Risk Faktörleri.....	45
2.3.4.Yenidoğan Yoğun Bakım Ünitesinde Nozokomiyal Enfeksiyonu Önleme Kuralları	48
2.3.4.1.Göz Bakımı	49
2.3.4.2.Cilt ve Göbek Bakımı.....	49
2.3.4.3.Yoğun Bakım Personeli	50
2.3.4.4.Yoğun Bakım Düzeni	50
2.3.4.5.El Yıkama.....	50
2.3.4.6.Giyisi-Önlük Kullanımı	51
2.4.ANTİBİYOTİKLERE DİRENÇLİ GRAM OLUMSUZ BAKTERİLERİN	
 YENİDOĞAN YOĞUN BAKIM ÜNİTESİNDEKİ ÖNEMİ	53
2.5.YENİDOĞAN DÖNEMİNDE İNTESTİNAL FLORANIN GELİŞİMİ	
 VE BUNU ETKİLEYEN FAKTÖRLER.....	57
2.5.1.Anne Sütünün İntestinal Kolonizasyon Üzerine Etkisi	60
3.GEREÇ VE YÖNTEM	66
3.1.Çalışma Gruplarının Oluşturulması.....	66
3.2.Örnek toplanması	66
3.3.Örneklerin işlenmesi	66
3.4.Direnç fenotipinin belirlenmesi.....	67
3.5.Minimum inhibitör konsantrasyon belirlenmesi.....	67
3.6.Genişlemiş spektrumlu beta-laktamaz saptanması	67
3.7.İstatistiksel Değerlendirme.....	68
4.BULGULAR	69
4.1.Ampisiline Dirençli Bakteri Kolonizasyonu	69
4.2.Beta-Laktam Antibiyotiklere Duyarlılık	72
4.3.ESBL Yapımı.....	77
4.4.Komensal Fekal Floralarında ESBL Üreten Bakteri Kolonizasyonu	
Tesbit Edilen Olguların Değerlendirilmesi	80
4.5.İnfeksiyon saptanan olguların değerlendirilmesi.....	88
5.TARTIŞMA	91
6.SONUÇLAR VE ÖNERİLER	104
7.KAYNAKLAR.....	107
8.EKLER.....	125

TABLO LİSTESİ

No	Başlık	Sayfa No
I	Antimikrobiyal Direnç Gelişiminde Rol Oynayan Mekanizmalar	14
II	Glikopeptid dirençli enterokokların fenotipik özellikleri	18
III	Antimikrobiyal ilaçlara direnç açısından güncel önem taşıyan mekanizmalar	23
IV	Beta-Laktamazların Sınıflandırması.....	31
V	Gram olumsuz bakterilerde beta laktamaz indüksiyonu için gereken proteinler	35
VI	Hastanedeki mikroorganizmalarda direncin ortaya çıkması ve yayılmasında rol oynayan mekanizmalar.....	47
VII	American Academy of Pediatrics (AAP) tarafından yoğun bakım ünitesi personeli için önerilen el yıkama kuralları	51
VIII	Antibakteriyal ajanlara dirençleri nedeniyle sağlımda sorun oluşturan mikroorganizmalar.....	54
IX	Yenidoğanda vücut bölgelerine göre kolonize olan mikroorganizmaların dağılımı	59
X	Slg A'nın Etkili Olduğu Mikrobiyal Patojenler	61
XI	Anne Sütünde Antimikrobiyal Faktörler ve Fonksiyonları	62
XII	Olguların kültür alınma zamanları	69
XIII	Olguların klinik özellikleri	70
XIV	Çalışma grubundaki olguların zamana bağlı komensal fekal floralarında ampisilin dirençli bakteri kolonizasyon oranı ve kolonize olan mikroorganizmaların dağılımı	71
XV	Yenidoğan servisinde yatan olguların zamana bağlı komensal fekal floralarında ampisilin dirençli bakteri kolonizasyon oranı ve kolonize olan mikroorganizmaların dağılımı	71
XVI	Kontrol grubundaki olguların zamana bağlı komensal fekal floralarında ampisilin dirençli bakteri kolonizasyon oranı ve kolonize olan mikroorganizmaların dağılımı	71
XVII	<i>E. coli</i> ve <i>Klebsiella spp.</i> 'nin beta-laktam antiyotiklere direnç oranının karşılaştırılması.....	73
XVIII	Komensal fekal florada kolonize <i>E. coli</i> 'nin beta-laktam antibiyotiklere direnç oranı	74
XIX	Komensal fekal florada kolonize <i>Klebsiella spp.</i> 'nin beta-laktam antibiyotiklere direnç oranı.....	75
XX	Hastanede ve hastane dışında alınan örneklerde kolonize olan ampisiline dirençli flora bakterilerinin β -laktam antibiyotiklere direnç oranının karşılaştırılması.....	76
XXI	Çalışma grupları arasında olguların komensal floralarında kolonize olan bakterilerin beta-laktam antibiyotiklere dirençlilik düzeyinin karşılaştırılması	76
XXII	Komensal fekal florada kolonize bakterilerde ESBL üretimi	77
XXIII	Çalışma grubundaki olguların zamana bağlı komensal fekal floralarında ESBL üreten bakteri kolonizasyon oranının değişimi	78
XXIV	Yenidoğan servis grubundaki olguların zamana bağlı komensal fekal floralarında ESBL üreten bakteri kolonizasyon oranının değişimi.....	78

XXV	Kontrol grubundaki olguların zamana bağlı komensal fekal floralarında ESBL üreten bakteri kolonizasyon oranının değişimi	78
XXVI	Örneklerin alındığı yere göre komensal fekal florada ESBL üreten bakterilerin saptanma oranı	79
XXVII	ESBL üreten bakterilerin gruplara göre dağılımı	80
XXVIII	Tüm çalışma süresince (hastane ve hastaneden taburcu olduktan sonra) komensal fekal floralarında ESBL üreten mikroorganizma kolonizasyonu olan ve olmayan olguların özellikleri.....	82
XXIXa	Çalışmaya alınan gruplarda komensal fekal floralarında ESBL üreten mikroorganizma kolonizasyonu olan ve olmayan olguların karşılaştırılması	83
XXIXb	Çalışmaya alınan gruplarda komensal fekal floralarında ESBL üreten mikroorganizma kolonizasyonu olan ve olmayan olguların karşılaştırılması	84
XXX	Tüm çalışma süresince olguların komensal fekal floralarında ESBL üreten bakterilerle kolonizasyondaki risk faktörlerinin multivariate lojistik regresyonla analizi	85
XXXI	Hastanede yattığı süre içinde, komensal fekal floralarında ESBL üreten mikroorganizma kolonizasyonu olan ve olmayan olguların özellikleri	86
XXXII	Hastanede yatış süresince komensal fekal floralarında ESBL üreten bakterilerle kolonizasyondaki risk faktörlerinin multivariate lojistik regresyonla analizi	87
XXXIII	Hastaneden taburcu olduktan sonra komensal fekal floralarında ESBL üreten bakterilerle kolonizasyonu olan ve olmayan olguların özellikleri	89
XXXIV	Hastaneden taburcu olduktan sonra komensal fekal floralarında ESBL üreten bakterilerle kolonizasyondaki risk faktörlerinin multivariate lojistik regresyonla analizi	90

ŞEKİL LİSTESİ

No	Başlık	Sayfa No
1	Antibiyotik direncinin moleküler yayılımı	9
2	Gram olumlu ve gram olumsuz bakterileri hücre membran yapısı..... (Beta laktam antibiyotik etki şekli örnek olarak gösterilmiştir)	15
3	Antibiyotik dirençli gram olumsuz bakterilerin kolonizasyon ve yayılma modeli.....	56
4	Yenidoğanlardan alınan gaita örneklerinin işleme basamakları	68

EKLER LİSTESİ

No	Başlık	Sayfa No
1	Çalışma grubundaki olguların özellikleri	125
2	Servis grubundaki olguların özellikleri.....	126
3	Kontrol grubundaki olguların özellikleri	127
4	NCCLS kriterleri	128

KISALTMALAR

AAC	: Aminoglycoside acetyltransferase - aminoglikozid amino gruplarını asetilleyen asetil transferaz
AAP	: American Academy of Pediatrics - Amerikan Pediatri Akademisi
AME	: Aminoglycoside-modifying enzym-aminoglikozid yapısını değiştiren enzim
ANT	: Aminoglycoside adenyltransferase - aminoglikozid hidroksil gruplarını adenile eden adenil transferaz
APH	: Aminoglycoside phosphotransferase - aminoglikozid hidroksil gruplarını fosforile eden fosfotransferaz
CDC	: The Centers for Disease Control and Prevention - hastalık kontrol ve önleme merkezi
DHPS	: Dehidropteroat sentaz
ESBL	: Extended spectrum beta-lactamases-genişlemiş spektrumlu beta-laktamazlar
IS	: Insertion sequence - insersiyon sekansı
kb	: Kilobaz
KEC	: <i>Klebsiella</i> , <i>Enterobacter</i> ve <i>Citrobacter</i>
Km	: Bağlanma afinitesi
LPS	: Lipopolysaccharide - lipopolisakkarid
MIC	: Minimum inhibitory concentration - Minimum inhibitör konsantrasyon
MLS	: Makrolid, Linkozamid ve Streptogramin grubu antibiyotikler
MRSA	: Methicillin resistant <i>Staphylococcus aureus</i> - metisiline dirençli <i>Staphylococcus aureus</i>
NCCLS	: National Committee for Clinical Laboratory Standards-klinik laboratuvar standartları ulusal komitesi
NICU	: Neonatal intensive care unit - yenidoğan yoğun bakım ünitesi
PABA	: Paraaminobenzoik asid
PBP	: Penicillin-binding protein - penisilin bağlayan protein
PCMB	: p- chloromercuribenzoate - p-kloromerküribenzoat
THFA	: tetrahidrofolik asid
Tn	: Transposon - transpozon
VLBW	: Very low birth weight - çok düşük doğum ağırlığı (<1500 g)
Vmax	: Maximum hydrolys rate-maksimum hidroliz hızı

ÖZET

Yenidoğan Bebeklerin Aerobik Komensal Fekal Floralarında Beta-Laktam Antibiyotik Direnci Dr. Murat Duman

Son 20 yıl içinde plazmidlerce kodlanan ve oksimin beta laktamlara (sefotaksim, seftazidim) ile monobaktamlara (aztreonam) karşı dirençte sorumlu olan genişlemiş spektrumlu beta-laktamazlar (extended spectrum beta-lactamases=ESBL) enzimi üreten gram olumsuz bakteriler, yoğun bakım hizmeti veren yenidoğan ünitelerindeki nozokomiyal infeksiyon epidemilerinden sorumlu hale gelmişlerdir. Dirençli suşlarla intestinal kolonizasyonun hastaneden ayrıldıktan sonra da devam etmesi, hem bu bakterilerin toplumda hızla yayılmasına hem de direnç belirleyicilerinin başka bir patojen bakteriye aktarılması sonucunda oluşacak yeni infeksiyonların tedavisinde önemli problemlere yol açacaktır

Bu prospektif çalışma, yenidoğan ve prematürelerin aerobik normal fekal floralarında beta laktam antibiyotiklere dirençli bakteri kolonizasyonunun ve bu kolonizasyonun oluşmasındaki risk faktörlerinin belirlenmesine yönelik olarak düzenlenmiştir.

Çalışmaya 38' i çalışma grubu (yenidoğan yoğun bakım grubu), 36' sı yenidoğan servis grubu, 44'ü kontrol grubu olmak üzere toplam 118 yenidoğan alınmıştır. Her bebekten yaklaşık 15 gün arayla 3 ya da 4 kez alınan toplam 367 gaita örneğinin 276 (%75.2)' sında ampisiline dirençli komensal fekal flora mikroorganizmaları ile kolonizasyon tespit edilmiştir. Bu mikroorganizmaların %59' unun *Klebsiella spp.* ve %41' inin *E. coli* olduğu bulunmuştur. Çalışmaya alınan gruplar arasında en yüksek ampisiline dirençli bakteri kolonizasyonu yenidoğan servis grubunda saptanmıştır($p=0.004$).

Alınan 367 örnekten 124 (%33.7)' ünde ESBL üreten mikroorganizma kolonizasyonu tespit edilmiştir. Ampisilin dirençli *E. coli* izolatlarının 51 (%45.1)' inde, *Klebsiella spp.* izolatlarının 73 (%44.8)' ünde ESBL üretimi saptanmıştır. Her üç grup arasında ESBL üreten mikroorganizma kolonizasyonu açısından fark bulunmamıştır($p=0.056$).

Her üç grupta da hastanede yatarken alınan örneklerden izole edilen komensal bakterilerde ESBL üretimi, hastane dışında alınan örneklerden izole edilenlere göre anlamlı oranda yüksek bulunmuştur (çalışma grubu: %53.2-%22.0,

$p=0.002$; yenidoğan servis grubu: %69.0-%26.2, $p=0.000$; kontrol grubu: %84.2 - %48.1 $p=0.004$). Hastanede yatarken alınan örneklerden izole edilen 95 bakterinin 61 (%64.2)'i, hastane dışında alınan örneklerden izole edilen 181 bakterinin 63 (%34.8)'ünde ESBL üretimi tespit edilmiş ve aradaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ($p=0.0001$).

Tüm çalışma süresince gaita kültürlerinde ESBL üreten mikroorganizma kolonizasyonundaki risk faktörleri değerlendirildiğinde; çok düşük doğum ağırlığı (<1500 g) ($RR=22.02$, $p=0.021$), vaginal yolla doğum ($RR=3.52$, $p=0.017$), olguda antibiyotik kullanımı ($RR=14.05$, $p=0.035$), maternal antibiyotik kullanımı ($RR=3.81$, $p=0.038$), erkek cinsiyet ($RR=2.61$, $p=0.031$) ve erken membran rüptürü ($RR=7.41$, $p=0.031$) risk faktörleri olarak tespit edilirken, nasogastrikle beslenme ($RR=0.05$, $p=0.021$) koruyucu risk faktörü olarak bulunmuştur. Hastaneden taburcu olduktan sonra gaita kültürlerinde ESBL üreten bakterilerle kolonizasyondaki risk faktörlerinin değerlendirilmesinde ise sadece anne sütü ile beslenmemenin ($RR=7.6$, $p=0.028$) risk faktörü olduğu görülmüştür.

Yenidoğan yoğun bakım ünitesi (neonatal intensive care unit=NICU)'nde yatan 12 olguda sepsis tanısı konulmuş ve bu olguların 5' inde kan kültürlerinde üreme saptanmıştır. Kan kültürlerinde *K. pneumoniae* saptanan iki olguda aynı zamanda intestinal floralarında benzer direnç fenotipine sahip ESBL üreten *K. pneumoniae* kolonizasyonu tesbit edilmiştir. Bu olgulardan ikisinde kan kültüründe *alfa hemolitik streptokok* ve birinde ise *S. pneumoniae* izole edilmiştir. Kan kültürlerinde üreme saptanmayan 7 olgunun ise 4 'ünde intestinal floralarında ESBL üreten *K. pneumoniae* ve 3' ünde ESBL üreten *E. coli* kolonizasyonu saptanmıştır.

Çoğunlukla infantın normal florasında kolonize olan dirençli mikroorganizmaların sebep olduğu infeksiyonlara bağlı mortalite ve morbiditenin azaltılmasında en önemli yaklaşım, yenidoğanın normal patojenik olmayan bakteriyle kolonizasyonunu sağlamaktır. Bu ise infantları annelerinin yanında, anne sütüyle besleyerek, hastane infeksiyon önleme kurallarını etkin şekilde uygulayarak ve antibiyotik kullanımını sadece klinik endikasyonlarla sınırlayarak sağlanabilecektir. Ayrıca dirençli mikroorganizma kolonizasyonunun ve infeksiyonunun epidemiyolojik özelliklerinin tanımlanması, bunların kontrollerine yönelik stratejilerin geliştirilmesinde önemli rol oynayacaktır. **Anahtar Sözcükler:** Komensal fekal flora, kolonizasyon, yenidoğan, beta-laktam antibiyotik direnci, ESBL.

SUMMARY

Beta-lactam Antibiotic Resistance in Aerobic Commensal Faecal Flora in Newborns

Dr. Murat Duman

Over the past two decades, gram negative bacteria producing extended spectrum beta-lactamases (ESBL) which coded by plasmid and responsible from the resistance against oxyimino beta-lactams (cefotaxime, ceftazidime) and monobactams (aztreonam) have become prominent pathogens of the nosocomial infections in neonatal intensive care unit (NICU). Persistence of intestinal colonization with resistant strains after leaving the hospital leads to both rapid dissemination of these bacteria in the population and significant problems in the treatment of new infections caused by the transmission of the resistance determinants to other pathogen bacteria.

This study was designed prospectively to determine the colonization of beta lactam antibiotic resistant bacteria in commensal faecal flora of newborns and the risk factors leading to this colonization.

One hundred and eighteen newborns including study group (NICU)(n=38), neonatal ward group (n=36) and control group (n=44) were enrolled in the study. Three or four stool samples were obtained fifteen days apart from each infant. Colonization with ampicilline resistant commensal faecal flora microorganisms was determined in 276 (75.2%) of total 367 stool samples. *Klebsiella spp.* and *E. coli* were identified in 59% and 41% of the samples respectively. The highest rate of ampicilline resistant bacteria colonization was determined in neonatal ward group (p=0.004).

ESBL producing microorganisms were identified in 124 (33.7%) of 367 stool samples. Fifty one (45.1%) and 73 (44.8%) of ampicilline resistant *E. coli* and *Klebsiella spp.* isolates were determined to produce ESBL respectively. There was no difference with respect to colonization with ESBL producing microorganisms between the three groups (p=0.056).

ESBL production rate in commensal bacteria was higher significantly in the samples obtained during hospitalization period with respect to the samples obtained after discharge in all three groups (study group: 53.2%-22.0%, p=0.002; neonatal ward group: 69.0%-26.2%, p=0.000; control group: 84.2% - 48.1% p=0.004). ESBL

production rate were 61/95 (64.2%) and 63/181 (34.8%) in the bacteriae isolated from the samples obtained in and out of the hospital respectively and the difference was statistically significant ($p=0.0001$).

When the risk factors related to colonization with ESBL producing microorganisms in stool samples were evaluated through the whole study period: very low birth weight (<1500 g) ($RR=22.02$, $p=0.021$), vaginal delivery ($RR=3.52$, $p=0.017$), antibiotic usage in the patient ($RR=14.05$, $p=0.035$), maternal antibiotic usage ($RR=3.81$, $p=0.038$), male sex ($RR=2.61$, $p=0.031$) and premature rupture of membrane ($RR=7.41$, $p=0.031$) were determined as risk factors, while feeding with nasogastric tube ($RR=0.05$, $p=0.021$) was identified as preventive factors. When the risk factors related to colonization with ESBL producing bacteria in stool samples after discharge from the hospital were evaluated, only not feeding with breast milk was determined as a risk factor ($RR=7.6$, $p=0.028$).

Twelve patients in NICU were diagnosed to have sepsis and in and blood cultures were positive in five of these cases. In two patients in whom *K. pneumoniae* were recovered from the blood cultures, colonization of intestinal flora with ESBL producing *K. pneumoniae* having similar resistance pattern was also determined. In the remaining patients with positive blood cultures, Alpha hemolytic streptococci ($n=2$) and *Streptococcus pneumoniae* ($n=1$) were isolated. ESBL producing *K. pneumoniae* and *E. coli* colonization were determined in intestinal flora of four and three of the remaining patients with negative blood cultures respectively.

The most important approach to decrease mortality and morbidity due to infection caused by resistant microorganisms colonized in normal flora of the infant is to provide colonization of the newborn with normal non-pathogenic bacteria. This, in turn could be achieved by feeding with fresh breast milk from their mothers, application of infection control measures efficiently and limitation of antibiotic usage only on strict clinical indications. In addition, definition of colonization with resistant microorganisms and epidemiological characteristics of the infections will play an important role in the development of strategies to control these infections.

Key words: Commensal faecal flora, colonization, newborn, beta-lactam antibiotic resistance, ESBL.

1.GİRİŞ VE AMAÇ

Doğuma kadar endojen floraya sahip olmayan yenidoğan, doğum kanalından geçerken ve doğum sonrasında mikroorganizmalarla karşılaşarak kendi florasını oluşturur (1,2). Yenidoğanların çoğunda temasta bulunduğu bu bakteriler kolonizasyona neden olurlar ve yenidoğan infeksiyonlarının en büyük kaynağı genellikle infantın kendi florasındaki bu mikroorganizmalardır. Gram olumsuz bakterilerle oluşan hastane infeksiyonlarında bu mikroorganizmalarla intestinal kolonizasyonun %90 gibi yüksek oranlarda bulunabileceği gösterilmiştir (3,4). Son 20 yıl içinde bu bakteriler bir veya birden çok antibiyotiğe direnç kazanmışlar ve özellikle düzey III yoğun bakım hizmeti veren yenidoğan ünitelerindeki nozokomiyal infeksiyon epidemilerinden sorumlu hale gelmişlerdir (4-6).

Gram olumsuz bakterilerde beta laktamaz enzimlerine bağlı beta laktam antibiyotik direnci önemli bir klinik sorun oluşturmaktadır. Son yıllarda, plazmidlerce kodlanan ve oksiminino beta laktamlar (sefotaksim, seftazidim) ile monobaktamlara (aztreonam) karşı dirençte sorumlu olan ESBL enzim üretimi bu bakteriler arasında hızla yayılmıştır (8). Dirençli bakterilerle kolonizasyonun saptanması özellikle nozokomiyal enfeksiyonlara bağlı mortalitenin yüksek olduğu prematüre ve yenidoğanlarda büyük önem taşımaktadır. Ayrıca bu dirençli suşlarla intestinal kolonizasyonun hastaneden ayrıldıktan sonra da devam etmesi, hem bu bakterilerin toplumda hızla yayılmasına hem de direnç belirleyicilerinin başka bir patojen bakteriye aktarılması sonucunda oluşacak yeni infeksiyonların tedavisinde önemli problemlere yol açacaktır (9).

Dirençli mikroorganizmaların sebep olduğu nozokomiyal infeksiyonların yoğun bakım ünitelerinde önemli mortalite ve morbidite nedeni olması nedeniyle sıklıkla daha geniş spektrumlu, daha toksik ve daha pahalı ampirik antibiyotik tedavileri başlanılmaktadır (5,10). Geniş spektrumlu antibiyotik kullanımının ise hastanede dirençli mikroorganizma kolonizasyonuna ve infeksiyonuna zemin hazırladığı bilinmektedir (11-13). Bu veriler kritik hastalarda antibiyotik kullanımının sınırlandırılmasının dirençli gram olumsuz bakteri kolonizasyonu ve infeksiyon prevalansı üzerinde önemli etkisi olduğunu göstermektedir (14-16). Bununla birlikte ESBL üreten mikroorganizmalarla kolonizasyon ve enfeksiyon

gelişmesinde daha pek çok risk faktörü olduğu bildirilmiştir (4). Ayrıca toplumdaki sağlıklı kişilerin flora bakterileri de antibiyotik direnç genleri için önemli bir kaynak oluşturmaktadır (17, 18). Bu dirençli flora bakterileri direnç genlerini daha patojen olan bakterilere aktarabilir veya kendileri endojen bir infeksiyon sebebi olabilirler. Sonuç olarak sağlıklı popülasyondaki direnç seviyesinin bilinmesi, oluşan infeksiyonların tedavisinde ilk basamak antibiyotik seçimini belirlemede önemli olacaktır (19). Bu nedenle dirençli mikroorganizma kolonizasyonunun ve infeksiyonunun epidemiyolojik özelliklerini tanımlamak, bunların kontrollerine yönelik stratejilerin belirlenmesi için önemlidir (5).

Bu prospektif çalışma yenidoğan bebeklerin aerobik normal fekal floralarında beta laktamlara dirençli bakteri kolonizasyonunun ve bu kolonizasyonun oluşmasındaki risk faktörlerinin belirlenmesine yönelik olarak düzenlenmiştir.

2.GENEL BİLGİLER

2.1. ANTİMİKROBİYAL İLAÇLARA DİRENÇ

Antimikrobiyal ilaçlar keşfedilmelerinden bu güne kadar bakteriyal infeksiyon hastalıklarının kontrolünde belirgin etki sağlamışlardır. Bununla beraber antimikrobiyal ilaçlara direnç klinik uygulamada giderek artan bir sorun olmuştur. Günümüzde nozokomiyal infeksiyon etkeni olan bakterilerde antibiyotik direnci giderek artarken, toplum kaynaklı patojenik bakterilerdeki direnç de büyük sorun oluşturmaktadır (20). Dirençli mikroorganizmalarla infekte olan kişinin tedavi süresi ile birlikte hastanede kalış zamanı uzamakta ve ölüm oranı iki kat artmaktadır. Antibiyotik direnci ayrıca hastalarda daha toksik, daha geniş spektrumlu ve daha pahalı antibiyotik kullanımına yol açmaktadır. Dirençli mikroorganizma ile infekte olan hasta mümkün olan en kısa sürede izole edilip, uygun antibiyotik tedavisi için infeksiyon etkeni hızla saptanmalı ve tedavisine hemen başlanılmalıdır (21). Bu nedenle mikroorganizmalarda antibiyotik direnç gelişim mekanizmalarının ve bunların yayılım yollarının iyi bilinmesi gereklidir.

2.1.1. Antibiyotik Direncinin Genetik Mekanizmaları

Bir mikroorganizmanın yapısı nedeniyle antibiyotiklere karşı dirençli oluşu *doğal direnç (Intrinsic resistance)* olarak tanımlanır. Doğal direnç, bu mikroorganizmaların tür özelliği olarak ilacın hedefi olan yapıyı taşınmamaları veya ilacın yapısal bir özellikten dolayı hedefe ulaşamaması sonucu oluşur. Örneğin; gram olumsuz bakterilerin çoğu vankomisin ve metisiline, enterokoklar ise sefalosporinlere, ilaç bakterinin dış membranından geçemediği için dirençlidir (22). Oksidatif fosforilasyonun olmadığı zorunlu anaerob mikroorganizmalar ise aminoglikozidlere karşı, ilacın hücre membranından transportu oksijene bağımlı enerji gerektiren bir olay olduğundan doğal olarak dirençlidirler (23) .

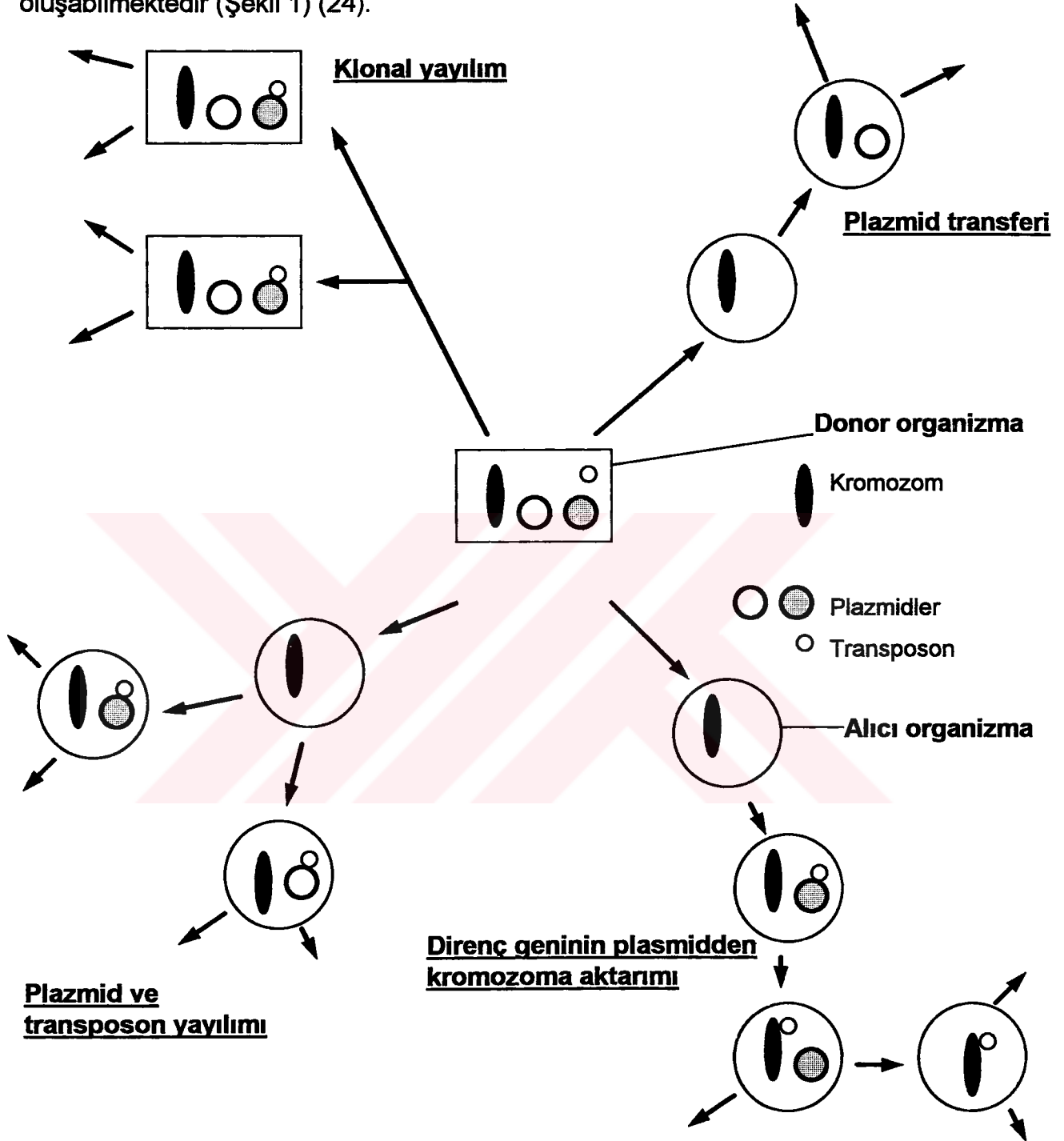
Kazanılmış direnç, bakterinin genetik özelliklerindeki değişimler, DNA dizilerindeki mutasyonlar ya da yeni DNA dizini elde edilmesi sonucu ortaya çıkan dirençtir (22). Antimikrobiyal ajanların bakteri populasyonları üzerindeki seçici baskısı bu tip direnç gelişiminde rol oynayan en önemli etkidir (24).

Direnç gelişimine yol açan genetik değişimler farklı mekanizmalarla ortaya çıkabilir; Bakterilerde birinci derecede genomik değişiklik (*microevolutionary change*) nükleotid bazında oluşan nokta mutasyonları ile antibiyotiklerin hedef alanlarında onların etkilerini ortadan kaldıran değişikliklerdir. İkinci derecede genomik değişiklik (*macroevolutionary change*) geniş bir DNA segmentinin transpozisyon, insersiyon, delesyon, dublikasyon ya da inversiyon ile yeniden düzenlenmesini içerir. Bu yeniden düzenlenme bakteriyal kromozomdan bağımsız hareket etme yeteneğine sahip *transpozon (transposon-Tn)* veya *insersiyon sekansı (insertion sequence-IS)* olarak adlandırılan özel genetik elementleri oluşturur. Bakterilerde üçüncü derecede genomik değişiklik ise plazmidler, bakteriyofajlar veya aktarılabılır genetik elementler tarafından taşınan yabancı DNA ile oluşturulur. Bu ekstrakromozomal elementlerin kalıtımı antibiyotiklerin seçici baskılarına daha büyük oranda katkı sağlamaktadır. Bu mekanizmalar bakterilere, antimikrobiyal ajanlara karşı direnç geliştirmede sınırsız kapasiteler kazandırmaktadır. Antibiyotik direnç geni oluşuktan sonra diğer bakterilere transformasyon, transdüksiyon, konjugasyon veya transpozisyon ile yayılabilmekte ve dirençli bakteri kolonileri antibiyotik alan hastanın florasında çoğalabilmektedir (24).

2.1.1.1. Plazmidlere Bağlı Direnç

Plazmidler bakterilerde oldukça sık bulunan, büyüklükleri 10 kilobazdan (kb) daha az ve 400 kb'dan daha fazla olabilen, çift sarmallı sirküler DNA molekülü yapısında ekstrakromozomal genetik elementlerdir. Plazmidler antibiyotik direnç genleri yanında virulans ve metabolik kapasite ile ilgili genleri de taşırlar ve otonom olarak kendi kendilerine çoğalabilirler. Konaktan konağa aktarılabilmeyi sağlayan genleri içeren plazmidlere *konjugatif plazmidler* adı verilmektedir. Plazmidler tarafından kodlanan fonksiyonların çoğu bakteriyi çevredeki zararlı ajanlara karşı koruyarak kalıcı olmasını sağlar. Örneğin; topikal bakteriyostatik olarak heksoklorofen gibi bileşikler kullanıldığında, bakteri popülasyonlarında bu ajanlara karşı plazmid aracılıklı direnç belirgin şekilde artmaktadır (22, 24).

Plazmidler aracılığı ile antibiyotik direncinin yayılmasını pek çok şekilde oluşabilmektedir (Şekil 1) (24).



Şekil 1: Antibiyotik direncinin moleküler yayılımı

2.1.1.2. Aktarılabılır Genetik Elementlere Bağlı Direnç

Transpozon ve insersiyon sekansı olarak adlandırılan benzer özelliklere sahip iki tip aktarılabılır genetik element vardır. Transpozonlar bakteriyal

kromozomun bir alanından diğerine veya kromozom, plazmid ve bakteriyofaj DNA'sı arasında yer değiştirebilen küçük, hareketli DNA dizileridir. Tn' lerin IS' lerden farkı bunların antibiyotik direnç belirleyicisi olarak bilinen fenotipik özelliklere aracılık etmeleridir. Tn ve IS' ler kendi kendilerine çoğalamazlar ve bu nedenle çoğalmak için plazmid, bakteriyofaj veya kromozoma bağlanırlar. Konjugatif transpozon olarak adlandırılan bir bakteri kromozomundan diğerine plazmid veya bakteriyofaja birleşmeden geçen yeni bir aktarılabilir element tanımlanmıştır ve bunlar çoğunlukla aerobik ve anaerobik gram olumlu bakterilerde bulunmuştur (24).

Neisseria gonorrhoeae (*N. gonorrhoeae*), *Mycoplasma hominis* (*M. Hominis*) ve *Ureaplasma urealyticum* (*U. urealyticum*) arasında tetrasiklin direnci transpozonlara bağlıdır (25, 26). Tn' lar birçok antibiyotiğe dirençli bölümler içeren plazmidlerin ortaya çıkışında önemli rol oynar (24).

Farklı tür bakteriler arasında antibiyotik direnç genlerinin genetik değişimi artan oranda tanımlanmaktadır. Örneğin, *Campylobacter* ve streptokoklarda eritromisin direnç genleri aynıdır ve enterokoklar beta-laktam ve aminoglikozid direnç genlerini stafilokoklardan almışlardır (24).

2.1.1.3. DNA İntegrasyon Elementlerine Bağlı Direnç

Yapısal antibiyotik direnç genlerinin bakteriyal kromozom, plazmid veya transpozon boyunca ardışık olarak yerleştikleri, birbirleriyle yakın bağlantıda bulundukları ve başlangıç bölgelerinin yakınında özel integrasyon birimlerinin bulunduğu gösterilmiştir. Bu integrasyon elemanlarına *integron* adı verilir. Bunlar rekombinasyonun sık görüldüğü sıcak bölgeleri oluştururlar (24).

İntegronlar transpozonlardan yapısal ve fonksiyonel olarak farklıdır ve bakterilerde yaygın olarak bulunarak bakteriyel direncin yayılmasında önemli rol oynarlar. İntegronlar yabancı DNA' dan kaynaklanan direnç genlerinin yerleşmesi için uygun bölgeler oluştururlar. Dolayısıyla bir takım genler belli bir integrona girerek çoğul antibiyotik direncine yol açabilirler veya hem düzenleyici hem de yapısal genlerin aynı transpozonda birikimini sağlayabilirler. Benzer bir mekanizma enterokoklarda vankomisine direci kodlayan genetik elemanların bir araya gelmesinde rol oynayabilir (24,27,28).

2.1.1.4. Kromozomal Direnç

Bu tip direnç kromozomda spontan mutasyon oluşması sonucu ortaya çıkmaktadır. Spontan mutasyonlar çevresel faktörlerle veya bakteri hücresinin metabolik ara ürünleri ile oluşmaktadır. Bunun sonucunda bakteri hücresinde yapısal değişimler oluşabilir ve hücrelerin ilaca geçirgenliği azalabilir ya da hücre içinde ilacın hedefinde değişiklik meydana gelebilir. Ortamda antibiyotik bulunduğu duyarlı mikroorganizmalar baskılanarak ilaca dirençli olanlar yararına bir seleksiyon oluşacaktır. Ancak spontan mutasyon oluşma olasılığı çok düşüktür. Bir bakteri hücresinin geninin kendiliğinden mutasyona uğrama oranı her hücre bölünmesinde 10^{-5} ile 10^{-10} civarındadır. Bu nedenle klinikte bu direnç oldukça nadirdir. Ancak rifampin gibi bazı antibiyotiklere karşı bu oran daha yüksektir (10^{-5} , 10^{-7}) (29).

Kromozomal direnç, gizli direnç determinantlarının yeniden düzenlenmesi veya indüksiyonu sonucunda da oluşabilir. Buna en iyi örnek *Pseudomonas aeruginosa* (*P.aeruginosa*)' da kromozomal beta laktamaz üretiminin indüksiyonudur. Ayrıca geniş spektrumlu antibiyotiklere karşı indüklenebilir mekanizmalar ile geçirgenlikte azalma sonucu direnç gelişebilir (30).

2.1.2. Direnç Genlerinin Yayılım Mekanizmaları

Kromozom veya plazmid üzerinde taşınan direnç genleri hücrenin bölünerek çoğalmasıyla yavru hücrelere aktarılabilir ve bu vertikal geçiş olarak adlandırılır. Aktarılan bu direnç genleri bakteriye uzun süre seçici bir avantaj sağlamazsa bakteri popülasyonunda kaybolabilir veya bu genler aktarıldığı hücrelerin çoğalması ile yayılabilir ve bu olay *klonal yayılım* olarak adlandırılır (24).

Antibiyotik direnç genlerinin yayılımında en önemli mekanizma *konjugasyon yolu* ile direnç genlerinin horizontal olarak yayılmasıdır. Hücreden hücreye gen aktarımının, iki hücrenin seks pilusları veya köprüler aracılığı ile teması sonucu oluşmasına konjugasyon denilmektedir. Klinik önemi ilk kez 1959'da dört farklı antibiyotiğe dirençli *Shigella flexneri* (*S.flexneri*)' nin sebep olduğu basilli dizanteri salgınında tanımlanmıştır. Aktarılabilir genetik materyal plazmid içinde iki farklı gen alanı içerir. Birincisi gerçek direnci kodlayan genler,

ikincisi ise bakteriyel konjugasyon için gerekli genleri içeren *direnç aktarım faktörü* (*resistance transfer factor = RTF*)' dır. Bunların her biri ayrı ayrı veya birlikte bakteriyel konjugasyonla yayılabilirler. Bu yolla plazmid aktarımı *invivo* şartlarda özellikle enterobakterlerin farklı türleri arasında gösterilmiştir. Bu mekanizma gastrointestinal sistemde flora bakterileri ile patojenik bakteri türleri arasında direnç genlerinin aktarımında önemli bir yer tutmaktadır. Ayrıca gram olumlu ve gram olumsuz bakteriler arasında plazmid aktarımlarında da önemlidir. Özellikle gram olumlu bakterilerde tanımlanmış olan konjugatif transpozonlar plazmid olmaksızın gen aktarımı yapabilirler ve bu transfer olayının düşük konsantrasyonda antibiyotik varlığında artması önemli bir noktadır (31,32).

Ortamda serbest olarak, bakteri DNA' sına bağlı olmadan bulunan genetik bilginin bakteri hücresi tarafından alınması ile direnç genlerinin aktarılmasına *transformasyon* denir. Transformasyon, *Neisseria* ve pnömokok türleri arasında penisilin bağlayan protein (Penicillin-binding protein-PBP)' de değişikliğe yol açarak direnç gelişimini sağlayan mozaik yapıdaki genlerin aktarımında önemlidir (33).

Direnç genlerinin bakteriyofaj aracılığı ile aktarılmasına ise *transdüksiyon* denir. Transdüksiyon *Staphylococcus aureus* (*S. aureus*) türleri arasında, kloramfenikol, tetrasiklin ve eritromisin direnç genleri ile penisilinaz kodlayan genleri taşıyan plazmidlerin bulunduğu bakteriyofajlar aracılığı direnç genlerinin aktarılmasında önemlidir (31).

2.1.3. Antibiyotiklere Karşı Direnç Gelişiminin Tarihçesi

Direnci belirleyen birçok genin doğada bulunduğu ve antimikrobiyal ilaçların klinik kullanımından önce de var olduğu bilinmektedir (34). Bu genlerin bazıları antibiyotik üreten mikroorganizmaları antibiyotiklerin etkilerine karşı korumalarını sağlamaktadır (35).

İlk kez 1928 yılında penisilinin stafilokoklara etkili olduğunun keşfedilmesi ve 1940' lı yıllarda klinik kullanıma girmesini takiben Abraham ve Chain tarafından penisilini parçalayan bir enzim varlığı gösterilmiştir. 1944 yılında Kirby, *S. aureus* suşlarında benzer özellikte bir enzim elde etmiştir (36). Bunu takip eden 10 yıl içinde penisiline dirençli stafilokoklara bağlı hastane infeksiyon

salgınları tüm dünyada yaygın olarak görülmüştür. 1959 yılında *Shigella dysenteriae* (*S. dysenteriae*) suşlarında çoklu antibiyotik direnci saptanmış ve bu özelliğini konjugasyonla *Escherichia coli* (*E. coli*) suşuna aktarabildiği gösterilmiştir. 1960' ların sonu ile 1970' lerin başında önce *S. Aureus*, sonra da hastane salgınlarında saptanan gram olumsuz basil türlerinde çoklu ilaç direnci saptanmıştır. *N. gonorrhoeae* ve *Haemophilus influenzae* (*H. influenzae*) gibi toplum kaynaklı infeksiyon ajanları arasında tedavide kullanılan antibiyotiklere karşı direnç gelişimi ile sorunun büyüklüğü daha iyi anlaşılmıştır (36).

Direnç gelişimindeki artışa paralel olarak ilaç endüstrisi de ilerlediğinden tüm ajanlara dirençli mikroorganizmalar ortaya çıkmadan önce 1980' lerde genişletilmiş spektrumlu sefalosporinler, 1990' larda ise florokinolonlar geliştirilmiş ve infeksiyon sağaltımında kullanılmaya başlanmıştır. Ancak günümüzde bu antibiyotiklere karşı da direnç geliştiği görülmektedir (7).

2.1.4. Antimikrobiyal Ajanlara Karşı Direnç Gelişim Mekanizmaları

Bakterilerde antibiyotik direnç gelişimini açıklayan en az sekiz mekanizma tanımlanmıştır (Tablo I) (24,37).

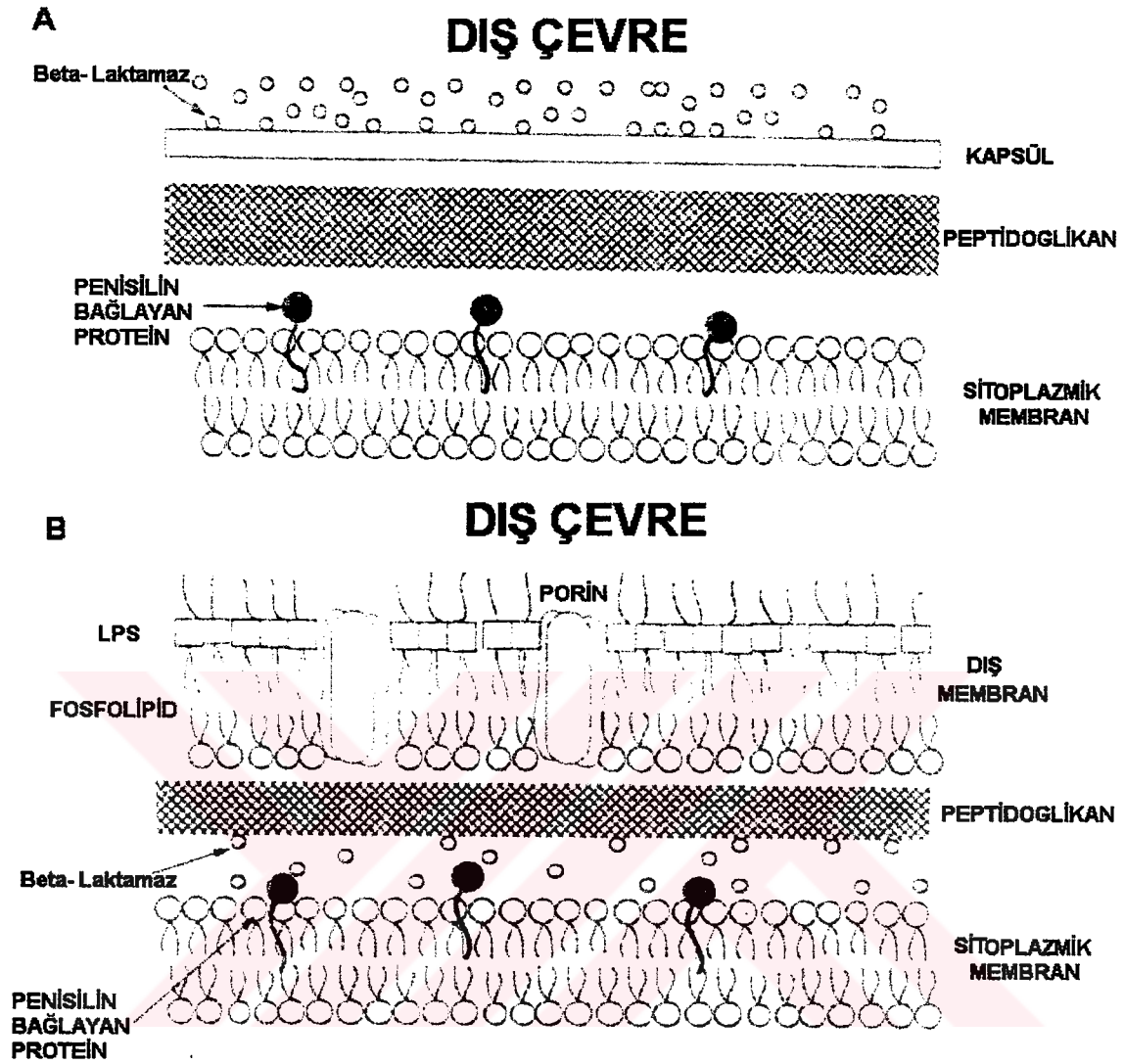
2.1.4.1.Bakteriyal Membranlarda Değişiklikler

2.1.4.1.1.Dış Membran Geçirgenliğinde Azalma: Antibiyotiklerin ilk keşfedildiği dönemlerde penisilinlerin gram olumlu bakterilere etkili olurken, gram olumsuz bakterilere karşı etkili olmaması ile tanımlanmış bir mekanizmadır. Penisilin duyarlılığındaki bu fark, gram olumsuz bakterilerde hücreye antibiyotik girişinde bariyer olarak görev alan dış membranın geçirgenliğinden kaynaklanır. Antibiyotiklerin hücre içi hedeflere ulaşması antibiyotik duyarlılığını belirleyen kritik faktördür. Yapısal olarak gram olumsuz bakterilerde peptidoglikan hücre duvarının dış kısmında yerleşen ve büyük bölümünü lipid tabakasının oluşturduğu dış membran gram olumlu bakterilerde bulunmamaktadır (Şekil 2) (30)

Tablo 1: Antimikrobiyal Direnç Gelişiminde Rol Oynayan Mekanizmalar

Antibiyotikler												
Direnç Mekanizmaları	Beta-laktamlar	Amino-glükozidler	Kloramfenikol	Makrolidler	Linkosamidler	Solfonamidler	Trime-toprim	Tetrasiklin	Klinolonlar	Vankomisin	Rifampin	Polimiksin
Enzimatik inaktivasyon	H	H	P	P	-	-	-	-	-	-	-	-
Membran geçirgenliğinde azalma	K	K	P	-	-	K	K	H	-	K	-	K
Aktif pompa (dışa akım;efflux) sistemi	-	-	-	K	K	-	-	H	K	-	-	-
Ribozomal hedef alanlarında değişiklik	-	K	K	H	H	-	-	H	-	-	-	-
Hedef hücre duvar öncüllerinde değişiklik	-	-	-	-	-	-	-	-	-	H	-	-
Hedef enzimlerde değişiklik	K	-	-	-	-	H	H	-	K	-	K	-
Hedef enzimlerin artmış üretimi	-	-	-	-	-	K	K	-	-	-	-	-
Yeni bir metabolik yolun kullanımı	-	-	-	-	-	H	H	-	-	-	-	-

K: Kromozomal direnç, P: Plazmid aracılıklı direnç, H: Hem kromozomal hem plazmid aracılıklı direnç



Şekil 2: Gram olumlu(A) ve gram olumsuz(B) bakterileri hücre membran yapısı (Beta laktam antibiyotik etki şekli örnek olarak gösterilmiştir)

Dış membranın iç tarafı fosfolipidlerden, dış tarafı birbirine sıkı bağlanmış hidrokarbon moleküllerinden oluşan lipopolisakkarid (lipopolysaccharide-LPS) içeren asimetrik bir lipid halkasıdır. LPS nafsilin ve eritromisin gibi hidrofobik antibiyotiklerin girişine engel olur. Polimiksin gibi LPS tabakaya girerek onu parçalayan ajanlar veya mutasyonlar sonucu yapısı bozulmuş LPS üretimi, hidrofobik (suda erimeyen) antibiyotiklere geçirgenlikte artışla sonuçlanır (24).

Dış membranın içine su dolu kanallardan oluşan *porin* olarak adlandırılan transmembran proteinleri yerleşmiştir. Beta laktamlar, bazı kinolonlar ve aminoglikozid gibi hidrofilik (suda eriyen) antibiyotikler periplazmik alana geçmek için porin kanallarını kullanırlar. Bakterilerde genelde çok sayıda porin kanalı

oluşturulur. Tek bir *E. coli* hücresinde 10^5 porin kanalı bulunmaktadır. Bakteri hücresi etrafını çevreleyen ortamın osmolaritesine bağlı olarak farklı yapıda ve sayıda porin üretir. Örneğin; *E. coli* hiperosmolar ortamda daha küçük olan porinlerini (OmpC) artırırken, daha büyük olan porin (OmpF) üretimini baskılar (24).

Dış membrandan antibiyotiklerin diffüzyon hızı sadece porin kanallarının sayısına ve özelliklerine değil, aynı zamanda antibiyotiğin fizyokimyasal özelliklerine de bağlıdır. İmipenem gibi küçük, hidrofilik antibiyotiklere geçirgenlik fazla iken, karbenesilin gibi daha büyük ve negatif yüklü antibiyotiklere geçirgenlik daha azdır (38).

Spesifik porinlerin kaybına neden olan mutasyonlar bakterilerde artmış beta laktam antibiyotik direncine neden olurlar. Hem OmpF hem de OmpC üreten türlerde mutant olanlar sadece OmpF üretirler. Mutant türler hasta dokusu ile uygun olarak sadece hiperosmolar ortamda test edilirse, OmpF porin üretiminin de azalma olacağı için beta laktam antibiyotiklere dirençli saptanırlar. Tedavi esnasında aminoglikozid ve karbapenemlere karşı gelişen direnç, dış membran protein üretiminde azalma sonucudur. *P. aeruginosa*'da karbapenem direnci kromozomal beta laktamaz üretimi ile birlikte, D₂ gibi özel bir porin kaybı sonucu oluşmaktadır (24).

Serratia marcescens (*S. Marcescens*) 'de nalidiksik asid ve kinolon direnci dış membran protein yapım bozukluğu ile birliktedir. *E.coli*' de plazmid aracılıklı kloramfenikol direnci dış membran geçirgenliğinde azalma sonucudur. Gram olumsuz mikroorganizmalarda LPS oluşumunda ve düzenlenmesindeki değişiklik polimiksin ve aminoglikozid direncine neden olmaktadır (30).

2.1.4.1.2. İç Membran Geçirgenliğinde Azalma: Aminoglikozid antibiyotik moleküllerinin bakteri hücresi içine taşınması enerji gerektiren bir olaydır ve taşınmadan önce eşik değerini aşacak minimal bir hücre içi negatif şarj oluşması gereklidir (proton motive edici güç=proton motive force). Aminoglikozid dirençli mikroorganizmalarda mutasyon sonucu, hücre içine antibiyotik transportu için gerekli enerji sağlanamayabilir ancak bu nadir bir olaydır. Bu izolatlar büyüme oranlarında azalma sonucu küçük koloni fenotipindedirler ve aminoglikozid

antibiyotik baskısı kalkınca tekrar duyarlı hale dönüşebilirler. Bu tip dirence sahip mikroorganizmalar nadiren fatal bakteriyemi sebebi olabilirler (24). Aminoglikozid dirençli psödomonaslarda spesifik sitokromlarda eksiklik olduğu bulunmuştur (39). Bozuk elektron transport sistemli mutantlar *E. coli*, *S. aureus* ve *Salmonella spp.*'de tanımlanmıştır. Fakültatif anaerobik mikroorganizmalarda antibiyotik alımı belirgin şekilde düşük olduğu için aminoglikozidlere dirençlidirler (24).

2.1.4.1.3. Antibiyotik Dışarı Atımında Artış (aktif efflux): Gram olumsuz enterik mikroorganizmalarda tetrasiklin direncinde temel mekanizma tetrasiklinin hücre içinde birikmesindeki azalmadır. Bunun nedeni hücre membranından geçen antibiyotiğin aktif pompa sistemi ile dışarı atılmasıdır (24). Direnç genleri kromozom, plazmid ve çoğunlukla da aktarılabılır genetik elementler üzerinde bulunur ve tetrasiklin subinhibitör konsantrasyonlarında indüklenirler. Makrolid, azalid ve streptograminlere dirençli *Staphylococcus epidermidis* (*S.epidermidis*)' te aktif pompa sistemi olarak işlev gören indüklenebilir ATP'ye bağlı bir protein gösterilmiştir (24). *S.aereus*' da bu mekanizma ile kinolon direncine yol açan *norA* geni ve *E.coli*' de dış membran geçirgenliğinde azalma ile birlikte çoklu antibiyotik direncine neden olabilen aktif pompa sistemini kodlayan *marAB* operonu tanımlanmıştır (40).

2.1.4.2. İlacın Bakteri Hücresindeki Hedefinin Değiştirilmesi

2.1.4.2.1. Ribozomal Hedef Alanlarında Değişiklik: Tetrasiklin, makrolid, linkozamid ve aminoglikozidler gibi çok sayıda farklı antimikrobiyal ajanda ribozomal bağlanma alanında değişiklik sonucunda direnç oluşur. Antibiyotiğin ribozomal hedef sahasına bağlanmasındaki yetersizlik, antibiyotiğin hücre büyümesini ve protein sentezini baskılama yeteneğini ortadan kaldırır (24).

Aerobik ve anaerobik gram olumlu bakteriler arasında makrolid, linkozamid ve streptogramin (MLS) direncinin temel mekanizması budur. MLS direnci, 50 S subünitesinde 23 S ribozomal RNA' nın dimethylate adenin residülerini metilleyen en az sekiz metilaz enzimi sonucunda oluşur. Bu direnç *S.aureus*, *Streptococcus sanquits*, *Bacteroides fragilis* (*B. Fragilis*) ve *Clostridium perfringens* (*C.*

Perfringens) 'te tanımlanmıştır. Direnç belirleyicileri bakteriyal kromozom veya plazmid üzerinde bulunur ve indüklenebilir özelliktedir (41).

Çoğunlukla gram olumlu bakteriler olmak üzere *Mycoplasma*, *Ureaplasma*, *Campylobacter* ve *Neisseria spp.* türlerinde de bulunan tetM geni, tetrasiklinin ribozoma bağlanmasını azaltarak tetrasiklin direncine neden olur (24).

Aminoglikozid direnci ribozomal seviyede de olabilir. 30 S subünitinde S 12 protein mutasyonu streptomisin ribozoma bağlanmasını engellediği ve bunun da enterokoklarda streptomisin direncinde önemli olduğu gösterilmiştir. Gentamisin, tobramisin, amikasin gibi aminoglikozidlerde ribozomal direnç nadirdir. Bu antibiyotikler 50 S ve 30 S ribozomal subünitesinde çok sayıda farklı alanlara bağlanırlar ve bu da çok sayıda mutasyon gerektirir. Ribozomal direnç sıklıkla ilacın hücre içinde birikmesinde azalmayla birlikte (42).

2.1.4.2.2. Hücre Duvarı Öncül Hedeflerinde Değişiklik: Glikopeptid antibiyotikler olan vankomisin ve teikoplanin, peptidoglikan öncülerindeki peptidil D-alanil-D-alenine uç kısmına bağlanıp hücre duvar sentezini engelleyerek etki gösterirler. Enterokoklarda vankomisin direnci klinik uygulamada önemli bir sorundur (43). Enterokoklarda vankomisin direnç seviyesine ve teikoplanine dirençli veya duyarlılığına göre üç farklı fenotipte glikopeptid direnci tanımlanmıştır (Tablo II) (7).

Tablo II : Glikopeptid dirençli enterokokların fenotipik özellikleri

Özellikler	Fenotipler		
	Van A	Van B	Van C
Vankomisin MIC (µg/ml)	64 - >1000	4 - 1024	2 - 32
Teikoplanin MIC (µg/ml)	16 - 512	≤ 0.5	≤ 0.5
En sık görülen enterokok türleri	<i>E. faecium</i> <i>E. faecalis</i>	<i>E. faecium</i> <i>E. faecalis</i>	<i>E. gallinarum</i> <i>E. casseliflavus</i>
Genetik determinantlar	Kazanılmış	Kazanılmış	Yapısal
Aktarılabirlik	Evet	Evet	Hayır

Van A direnç fenotipinde *Enterococcus faecalis* (*E. faecalis*) ve *Enterococcus faecium* (*E. faecium*) vankomisin ve teikoplanin'in her ikisine birden yüksek oranda dirençe sahiptir. Hem vankomisin hem de teikoplanin bu türlerde direnci indükleyebilir. Van A direnç fenotipi genleri plazmidler üzerinde taşınır ve konjugasyonla diğer enterokoklara aktarılabilir (7).

Van B direnç fenotipinde *E.faecalis* ve *E.faecium* vankomisin direnç sınırı yüksek veya düşük (MIC 1024 µg/ml - 4 µg/ml) olabilir, teikoplanine ise duyarlıdır. Bu direnç fenotipinde sadece vankomisin ile hem vankomisin hem de teikoplanine direnç uyarılabilir. VanB direnç fenotipini kodlayan genler çoğunlukla kromozomaldır. Bununla beraber konjugasyonla aktarılabilirler (7).

Van C fenotipinde *Enterococcus casseliflavus* (*E.casseliflavus*), *Enterococcus gallinarum* (*E.gallinarum*) ve *Enterococcus flavescens* (*E. flavescens*) izolatlarının tümü düşük düzeyde vankomisine dirençli ve teikoplanine duyarlıdır. Direnç genleri kromozomaldır ve aktarılamazlar (7).

Son yıllarda Perichon ve arkadaşları tarafından Van B fenotipine benzeyen dördüncü bir fenotip olan Van D direnç fenotipi tanımlanmıştır (Vankomisin MIC, 64 µg/ml, teikoplanin MIC, 4 µg/ml). Bu fenotip az sayıda *E. faecium* türlerinde tanımlanmıştır (43).

Glikopeptid direncinde, direnç fenotipinden sorumlu olan genler diğer düzenleyici genler ile birlikte D-alanil-D-alanine yerine D-alanil-D-laktat ile sonlanan peptidoglikan öncülerini sentezlerler ve yeni öncülün glikopeptid antibiyotiklere bağlanma kapasitesi D-alanine-D-alanin'den bin kat daha azdır (43).

2.1.4.2.3. Hedef Enzimlerde Değişiklik

2.1.4.2.3.1. PBP'de değişiklik: (Bkz. Beta laktam antibiyotiklere karşı dirençte rol oynayan mekanizmalar)

2.1.4.2.3.2. Sulfonamidlere ve Trimetoprim Karşı Direnç Gelişimi: Sulfonamidler ve trimetoprim antibakteriyel etkilerini paraaminobenzoik asid (PABA) ve pteridinden tetrahidrofolik asid (THPA) sentezinde rol oynayan dehidropteroat sentaz (DHPS) ve dihidrofolat redüktaz (DHFR) enzimleri inhibe ederek gösterirler. Sulfonamidlere karşı direnç, mutasyon sonucu antibiyotiğe

bağlanma kapasitesi azalmış DHPS enzim yapımı, aşırı PABA üretilmesi ve sulfonamidlere hücre membran geçirgenliğinin azalması sonucunda oluşur. Sulfonamidlere direnç genleri hem bakteriyal kromozomlar hem de plazmidler üzerinde bulunur ve gram olumsuz enterik basiller arasında direncin aktarılmasına neden olur. *N.gonorrhoeae* ve *S.aureus* kromozomal mutasyon sonucu PABA aşırı yapımı ve *E.coli*' de plazmid aracılıklı antibiyotiğe dirençli DHPS enzim yapımı sulfonamid direncine yol açmaktadır (44).

Trimetoprim direnci hücre geçirgenliğinde azalma, DHFR enziminin yapısındaki değişiklik veya aşırı üretim sonucunda olmaktadır. Klinik açıdan en önemi mekanizma plazmid aracılığı ile oluşan trimetoprime düşük afiniteli DHFR enzim yapımıdır. Son yıllarda *Enterobacteriaceae*, *P.aeruginosa* ve *S.aureus*' da farklı yapıda çok sayıda DHFR enzimi tanımlanmıştır. Bunlar çoğunlukla plazmid aracılıklıdır, oldukça mobil transpozonlar (Tn 7 gibi) üzerinde taşınır ve hızla yayılırlar. Trimetoprime dirençli konjugatif plazmidlerin sebep olduğu infeksiyon salgınları Batı ve Doğu Avrupa' da bildirilmiştir (44).

2.1.4.2.3.3. Kinolonlara Karşı Direnç Gelişimi: Kinolonlar ve nalidiksik asid bakteri hücrelerinde DNA giraz enzimini inhibe ederek etki gösterir. DNA giraz enzimi kromozomal DNA' nın süper kıvrılmasında (super coiling) görev alır. Bu enzim gyr A geni tarafından kodlanan iki A subünitesi ile gyr B geni tarafından kodlanan iki B subünitesinden oluşur. Kinolon grubu antibiyotiklere direnç gyrA lokusunda oluşan spontan mutasyon sonucu oluşur. B subünitesindeki değişiklikler önemsiz derecede kinolon direncine neden olurlar. Birçok kromozom lokusunda oluşan mutasyonlar sonucu farklı yapıda DNA giraz enzimi oluşumu *Enterobacteriaceae* ve *P.aeruginosa*' da yeni kinolonlara dirençten sorumludur. Oluşan mutasyonların çoğu DNA giraz - bakteriyel kompleks oluşumunu sağlayan anahtar enzimatik bölgelerde tek aminoasit ilavesi ile sonuçlanır. *E.coli*, *S.aureus* ve diğer gram olumlu bakterilerde de kinolon direnci benzer mekanizmalarla oluşmaktadır. Klinik izolatlarda plazmid aracılıklı kinolon direnci ve kinolonları parçalayan enzimlere bağlı dirençte tanımlanmıştır (24, 45).

2.1.4.3. Antibiyotiğin Hedefinin Dışında Yeni Bir Metabolik Yolun

Kullanımı: Mutasyon sonucu oluşan yeni mikroorganizma, hedef enzimin normal olarak sentezlediği substrata ihtiyaç duyar ve ortamda bu substrat mevcutsa enzim inhibisyonuna rağmen mikroorganizma çoğalabilir. Örneğin; timidilat sentetaz enzimini kaybetmiş timine bağımlı bakteri normal yollardan timidilat sentezleyemez. Bu nedenle yan yollardan timidilat sentezleyebilmek için dışardan timin desteğine ihtiyaç duyar ve bu nedenle trimetoprim oldukça yüksek oranda dirençlidir (24).

2.1.4.4. Enzim Sentezi

2.1.4.4.1. Beta Laktamaz Enzim Üretimi (Bkz. Beta laktam antibiyotiklere dirençte rol oynayan mekanizmalar)

2.1.4.4.2. Aminoglikozid Yapısını Değiştiren Enzimler (Aminoglycoside - modifying enzyme=AME): Aerobik bakteriler arasında aminoglikozid direncinin en sık sebebi kromozom veya plazmidler üzerindeki genler tarafından kodlanan AME' lerdir. AME' leri kodlayan genler çoğunlukla transpozonlar üzerinde taşınır (42).

İki düzineden fazla tanımlanmış olan AME' ler üç genel enzimatik olayda görev alırlar (24):

- Amino gruplarını asetilleneyen asetil transferazlar (aminoglycoside acetyltransferases=AAC)
- Hidroksil gruplarının adenile eden adenil transferazlar (aminoglycoside adenytransferases=ANT)
- Hidroksil gruplarını fosforile eden fosfotransferazlar (aminoglycoside phosphotransferases=APH).

Bu enzimler etki şekillerine göre üç harfle tanımlanmaktadır. Enzimin aminoglikozid moleküllerindeki etki bölgesi parantez içinde bir rakamla örneğin; AAC (2''), 2''-amino grubunun asetile edildiğini gösterir. Benzer etki eden enzimlerin ayırt edilmesi için buna romen rakamları eklenmektedir. Örneğin AAC (2'')-IV gibi. Ayrıca bir aminoglikozid birden fazla bölgede değişikliğe uğrayabilir ve bunun için birden fazla enzime substrat olabilir. Bu enzimler beta laktamazlardan farklı olarak hücre içi enzimlerdir ve hücre dışında çok az ya da hiç bulunmazlar (46).

AME' lerin yer yüzündeki dağılımları farklılık göstermektedir. Bu kullanılan antibiyotiklerin ülkeler, hatta hastaneler arasında farklı olmasından kaynaklanan antibiyotiklerin seçici baskısıdır. APH (3') ve APH (3'') tüm dünyada gram olumlu ve gram olumsuz bakterilerde yaygın olarak bulunur ve bu enzimler streptomisin ve kanamisin kullanımında azalmaya neden olmuşlardır. Gentamisin ve türevlerinin amikasininden daha sık kullanıldığı ülkelerde örneğin; ABD, Güney Amerika ve Batı Avrupa'da ANT (2'') ve AAC (3) en sık gözlenen enzimdir. Amikasinin daha sık kullanıldığı Uzak Doğu ülkelerinde ise AAC (6') enzimi daha sıktır (42).

AME' ler tüm bakterilerde bulunabilmesine karşın dağılımlarında bir özgünlük söz konusudur. Örneğin; AAC (2') sıklıkla *Proteus* ve *Providencia* türlerinde gözlenirken, ANT (2'') *Klebsiella spp.* ' de daha yaygındır (42).

Son yıllarda enterokoklar arasında plazmid aracılıklı aminoglikozid direncinde belirgin artış olmuştur. Enterokoklarda AME' leri kodlayan genleri taşıyan plazmidler heterojen yapıdadır ve çoğunlukla beta laktamaz üretimiyle birlikte olması nedeniyle kombine antibiyotik tedavilerinde sinerjistik etkinin kaybolmasına yol açarlar (47).

2.1.4.4.3. Kloramfenikol Asetiltransferaz Enzim Üretimi: Kloramfenikol bakteri hücrelerinde 50 S ribozomal alt birimine bağlanıp protein sentezini inhibe ederek etki gösterir. Gram olumlu ve gram olumsuz bakterilerde kloramfenikol direncinin esas mekanizması hücre içi bir enzim olan kloramfenikol asetiltransferazın 3-O-asetilasyonla antibiyotiği inaktive etmesidir. Enzim sentezi çoğunlukla plazmid kontrolündedir ve Güney - Orta Amerika, Vietnam ve Hindistan gibi ülkelerdeki kloramfenikol dirençli tifo ateşi ve *S. dysenteriae* epidemilerinden sorumlu bulunmuştur. ABD' de kloramfenikol dirençli salmonellarda artış gösterilmiş ve bu da kloramfenikol kullanımını sınırlandırmıştır (48).

2.1.4.4.4.Eritromisin Esteraz Enzim Üretimi: Eritromisin ve diğer makrolid antibiyotiklere direnç, sıklıkla ribozomal hedef alanındaki değişiklik sonucu olurken son yıllarda bu antibiyotikleri inaktive eden enzimler tanımlanmıştır. *E.coli'*

den izole edilen eritromisin esteraz, antibiyotiğin lakton halkasını hidrolize eder ve yüksek oranda eritromisin direncine neden olur. Enzimi kodlayan genler plazmidler üzerinde taşınır. MLS grubu antibiyotikleri hidrolize eden plazmid aracılıklı enzimler *S.aureus* ve *Streptococcus hemolyticus* (*S. hemolyticus*)' ta tanımlanmıştır (24).

Tablo III' de ilaç sınıfına göre antibiyotik direnç gelişiminde güncel önem taşıyan mekanizmalar özetlenmiştir (7).

Tablo III : Antimikrobiyal ilaçlara direnç açısından güncel önem taşıyan mekanizmalar

Antibiyotik Sınıfı	Direnç Mekanizması
Sefalosporinler	ESBL; kromozomal ve plazmid kökenli AmpC tipi sefalosporinazlar
Beta laktamaz inhibitörleri	Beta laktamazların fazla miktarda üretimi; inhibitörlere dirençli beta laktamazlar; kromozomal sefalosporinazlar
Karbapenemler	Zn+2 gerektiren metalloenzimler ve diğer karbapenemazlar (Grup 2F)
Glikopeptidler	Düşük afiniteli hücre duvar öncüllerinin sentezi
Kinolonlar	DNA girazda değişiklikler; pompa (efflux sistemleri)
Trimetoprim-sulfonamid	Folat sentez yolunda yeni enzimlerin sentezi (ilaca dirençli dihidrofolat redüktaz (DEHFR) enzimleri)
Eritromisin, yeni makrolidler	Bakteriyel ribozomdaki bağlanma bölgesinin (23 SrRNA) metilasyonu (makrolid, klindamisin ve streptogramin B direncine neden olur)
Aminoglikozidler	Aminoglikozid yapısını değiştiren enzimler

2.2. BETA LAKTAM ANTİBİYOTİKLERE KARŞI DİRENÇTE ROL OYNAYAN MEKANİZMALAR

Beta laktan antibiyotikler, molekülünün antibakteriyel etkinlikten sorumlu çekirdek kısmında beta laktam halkası taşıyan bileşiklerdir. Beta laktam halkası, bir azot molekülü, üç karbon molekülünden oluşan dört üyeli doymuş bir halkadır. Beta laktam antibiyotikler beş grup altında toplanmaktadır (20).

1. Penisilinler
2. Sefalosporinler
3. Monobaktamlar
4. Karbapenemler
5. Beta laktamaz inhibitörleri (Klavamlar)

Beta laktam antibiyotikler bakteri hücre duvarı sentezinde transpeptidasyon evresini katalizleyen PBP' lere bağlanarak enzimin kendi substratına bağlanmasını engellemekte, bunun sonucunda hücre duvar sentezi inhibe olan hücre parçalanmaktadır (20).

Beta laktam antibiyotiklere direnç üç ana mekanizmayla oluşmaktadır (49):

1. PBP'lerdeki değişikliklere bağlı direnç
2. Antibiyotiğin hedef enzimlere ulaşmasındaki yetersizlik
3. Enzim (beta laktamazlar) aracılığı ile antibiyotiğin parçalanması

Bu üç mekanizma içinde en önemlisi beta laktamaz enzimleri ile antibiyotiğin inaktive edilmesidir.

2.2.1. Penisilin Bağlayan Proteinlerde Değişimler

Bakteriler aktif bölgelerinde serin grubu taşıdıkları için, serin proteaz enzim grubundan olan birbirine yapısal olarak benzer dört tip PBP oluştururlar (50). PBP' ler molekül ağırlığına göre en yüksek moleküler ağırlıklı protein PBP 1 olmak üzere numaralandırılır. Benzer moleküler ağırlıkta olan ve sonradan bulunan PBP' ler 2a, 2b, 2x gibi veya PBP 2' gibi adlandırılırlar. Farklı mikroorganizma türlerinde bulunan PBP' ler aynı numara ile adlandırılrsa bile aralarında ilişki ve fonksiyon benzerliği yoktur. Yüksek molekül ağırlıklı PBP (transpeptidazlar, 50 kD ve daha fazla) ve düşük molekül ağırlıklı PBP'ler (karboksipeptidazlar) hücre

duvar sentezinde transpeptidasyon ve karboksipeptidasyon reaksiyonlarını katalize ederler. Beta laktam antibiyotikler enzimlerin aktif alanlarındaki serin gruplarına kovalen bağla bağlanarak PBP' leri inhibe ederler. PBP' ler membran proteinlerinin %1' ini oluştururlar ve beta laktam antibiyotiklerine bağlanma afiniteleri farklıdır. Bu da beta laktam antibiyotiklerin farklı etki spektrumlarına sahip olmalarının bir nedeni olabilir. PBP' lerin her birinin hücre içinde miktarı ve fonksiyonları farklıdır. Tek bir PBP, beta laktam antibiyotikler için hedef değildir. Antibakteriyal etkinin oluşması için çok sayıda PBP' nin aynı anda inhibe edilmesi gereklidir (50).

PBP yapısındaki değişiklikler beta laktam antibiyotik bağlanma afinitesini azaltarak direnç yol açar (51). Gram olumlu bakterilerde beta laktam antibiyotik direnci, hem PBP' lerde antibiyotiklere olan afinite azalması hem de üretilen PBP' nin miktarındaki değişiklik sonucudur. Özellikle *Streptococcus pneumonia* (*S. pneumonia*) ve *S.aureus* gibi türlerde beta laktam antibiyotiklerle tedavide en fazla sorun yaratan direnç mekanizmalarıdır. *S.pneumonia*' da direncin seviyesi direkt olarak sorumlu olan PBP' lerle ilişkilidir. Çünkü pnömokokkal PBP' lerin her biri farklı beta laktam antibiyotiklere bağlanırlar. Penisiline duyarlı pnömokok suşlarında PBP 1a, 1b, 2a, 2b, 2x ve 3 olarak numaralandırılan altı tip PBP tanımlanmıştır. Bunlardan PBP 1a ve 2x' te oluşan değişiklikler üçüncü kuşak sefalosporin direncinden sorumlu iken, PBP 2b' de oluşan değişiklik penisilinlere dirençten sorumludur. PBP 2b ve 2x' de oluşan değişiklik ise pnömokoklarda imipenem direncine neden olur (52). PBP değişikliğini kodlayan genler mozaik yapıdadır ve doğal pnömokokkal DNA ile birlikte; *Streptococcus viridans* (*S. viridans*) gibi penisiline daha dirençli olan bir mikroorganizmadan gelmiş yabancı bir DNA' yı içerir. Bu hibrid genlerin diğer pnömokoklara hatta *Streptococcus oralis* (*S.oralis*) gibi diğer gram olumlu bakterilere aktarılabildiği gösterilmiştir (7).

Bu tip direncin yol açtığı diğer önemli bir sorun da metisiline dirençli *S.aureus* (Methicillin Resistant *S.aureus* = MRSA)' dur. Duyarlı olan *S.aureus* izolatları PBP 1,2,3,4 olmak üzere dört tip PBP üretirler. Bunlardan PBP 1,2 ve 3 beta laktam antibiyotiklerin en önemli hedefleridir. MRSA' lar ise PBP 2a veya 2' olarak adlandırılan 78 kD ağırlığında ve beta laktam antibiyotiklere düşük afiniteye sahip bir protein oluştururlar. Bu yeni PBP kromozom üzerinde bulunan mec A

geni tarafından kodlanır. Mec A geni dizi analizleri bu genlerin *E.coli'* den kazanılmış olabileceğini göstermektedir. Son yıllarda yapılan çalışmalarda *S.sciuri* ve enterokokuslarda beta laktam antibiyotiklere düşük afiniteli PBP'leri kodlayan gen dizilerinin mec A gen dizilerine benzer olduğu gösterilmiştir. Günümüzde halen mec A gen kaynağı tam olarak bilinmemektedir (53). Beta laktamaz oluşturmayan penisilin dirençli *N.gonorrhoeae*, *Neisseria meningitidis* (*N. meningitidis*) ve *H.influenzae'* da PBP' lerin penisilin bağlama kapasitelerinin düşük olmasının dirençten sorumlu olduğu gösterilmiştir. Bu türlerdeki PBP' ler de dirençli türlerden kazanılmış yabancı DNA içeren hibrid genler tarafından kodlanmaktadır (24).

2.2.2.Beta Laktam Antibiyotiklerin Hedef Enzimlerine Ulaşmasındaki Yetersizliğe Bağlı Direnç

Beta laktam antibiyotiğin etkisini gösterebilmesi için gram olumsuz bakterilerde hücre duvarındaki porin kanallarından geçmesi gerekli iken gram olumlu bakterilerde beta laktam antibiyotiklere karşı bir geçirgenlik engeli yoktur. Bu geçiş oranı porin kanallarının sayısı, özelliği, ilacın moleküler elektriksel yükü ve suda çözünürlüğüne bağlıdır. *E.coli* suşlarında OmpF, OmpC proteinlerindeki değişimler ve mutant phoE porininin oluşması beta laktam antibiyotik geçişini azaltır. Aynı şekilde *P.aureginosa'* da imipenem geçişi için özel bir kanal olan OprD veya D₂ porin kaybına bağlı direnç olduğu gösterilmiştir (20). Beta laktamaz üreten *H.influenzae* ve *N.gonorrhoeae* türlerinde oluşan mutasyonlarla dış membran protein kaybının, PBP yapısındaki değişikliklerle beraber beta laktam antibiyotik direncinde rol oynayabileceği gösterilmiştir (24).

2.2.3.BETA LAKTAMAZLAR

Beta laktam antibiyotiklere direnç esas olarak beta laktamaz enzim üretimi ile olmaktadır (24,50,54,55). İlk kez 1929'da Fleming tarafından bazı bakterilerin üremesinin penisilinler tarafından baskılanmadığı gözlenmiş, 1940 yılında Abraham ve Chain ise *E.coli'* den elde ettikleri ekstrenin penisilinin etkisini ortadan kaldırdığını göstermişlerdir. Bu araştırmacılar elde ettikleri bu enzime penisilinaz adını vermişlerdir . 1944 yılında Kirby, stafilokokların penisiline dirençli

izolatlarında bu enzimin varlığını saptamış ve 1960'lı yıllara kadar çalışmalar stafilokokların beta laktamazları üzerinde yoğunlaşmıştır. 1960' lı yıllarda yarı sentetik penisilinlerden metisilin ve ampisilin, sefalosporinlerden sefaloridin ve sefalotin'in geliştirilmesi ile birlikte dikkatler gram olumsuz bakterilerin beta laktamazları üzerine yoğunlaşmıştır (56,57). Bunun nedeni bu antibiyotiklere stafilokokların duyarlı olmasına karşın, gram olumsuz bakterilerin direnç geliştirmesi ve bu direncin plazmid kontrolünde sentezlenen beta laktamazlar nedeni ile kısa sürede yayılmasıdır (56). 1980' li yıllarda beta laktamazlara dayanıklı genişletilmiş spektrumlu sefalosporinlerin geliştirilmesinden kısa bir süre sonra ise hastane infeksiyonlarından izole edilen *Klebsiella pneumoniae* (*K. pneumoniae*) suşlarında plazmid kontrolünde çeşitli genişlemiş spektrumlu beta laktamazlar bulunmuştur (54). Günümüzde ise en son geliştirilen sefalosporinler ve karbapenem grubu antibiyotiklere karşı da mikroorganizmalarda direnç gelişimi gözlenmektedir (7).

Beta laktamazların sayılarının giderek artması bunlar için çeşitli sınıflandırmalar yapılmasına yol açmıştır.

2.2.3.1.Beta Laktamazların Sınıflandırılması

Beta laktamazlar günümüze kadar bir çok kez sınıflandırılmışlardır. Fonksiyonel temeldeki ilk sınıflama penisilinazlardan, sefalosporinleri hidroliz oranı yüksek olan sefalosporinazların ayrılması ile başlamıştır (57). Sawai ve arkadaşları 1968' de tanımladıkları penisilinaz ve sefalosporinazlarda ilave ayırıcı olarak anti serum ile reaksiyonu kullanmışlardır. Richmond ve Sykes ise 1973 yılında yaptıkları sınıflandırmada o güne kadar bilinen tüm gram olumsuz bakteri beta laktamazlarını substrat profillerine göre beş grupta toplamışlardır (57,49). 1976 yılında Matthew özgül beta laktamazların izoelektrik fokuslama ile tanımlanacağını gösterdikten sonra bu şema Sykes ve Matthew tarafından tekrar düzenlenmiştir. 1981'de Mitsuhashi ve Inoue'nin yaptığı sınıflamada sefuroksimi hidrolize eden beta laktamazlar kategorisi de eklenmiştir (57). 1989'da Bush tarafından önerilen gruptamada tüm bakterilerin beta laktamazları yer almış ve ilk kez substrat ve inhibitör özellikleri moleküler yapı ile ilişkilendirilmiştir (57).

Moleküler yapı ile ilgili sınıflandırma ilk kez beta laktamazların sadece dört aminoasit dizisinin bulunduğu 1980 yılında Ambler tarafından yapılmıştır. Bu sınıflama sadece serin içeren enzim grubu olan moleküler sınıf A ve metallo-beta laktamazları içeren moleküler sınıf B'yi içermekte idi. Moleküler sınıf C sefalosporinazlar 1981 yılında Jaurin ve Grundstrom tarafından tanımlanmıştır. Oksasilini hidrolize eden moleküler sınıf D enzimler ise 1980'lerin sonunda diğer serin içeren enzimlerden ayrılmıştır (57,58). Beta laktamazların en son sınıflaması 1989 yılında Karen Bush'un yaptığı sınıflamadan uyarlanarak 1995 yılında yapılmış Bush-Jacoby-Medeiros sınıflandırmasıdır (57).

2.2.3.2. Beta Laktamazların Sınıflandırılmasında Kullanılan Kriterler

Bugüne kadar beta laktamazların sınıflandırılması için daha çok biyokimyasal ve genetik temele dayanan çeşitli parametreler kullanılmıştır. Bunlar arasında en önemli kriterlerden biri substrat profili olmuştur (49,58). Bundan başka inhibisyon profili ve fiziksel özellikleri de sınıflama için kullanılmaktadır. Sınıflandırılacak enzimin tek bir beta laktamaz aktivitesine sahip olması gereklidir. Ancak bakterilerin çoğunda kromozomal enzimler yanında birden fazla beta laktamaz saptanmaktadır. Bu gibi durumlarda enzimlerin önce saflaştırılması gereklidir.

Substrat profili, beta laktamazların sınıflandırılması için kullanılan ilk parametredir ve enzimin çeşitli beta laktam antibiyotikleri hidrolize etme aktivitesini göstermektedir (59). Her beta laktamaz enzimi için V_{max} (maksimum hidroliz hızı) ve K_m (bağlanma afinitesi) değerleri çeşitli yöntemlerle saptanır. V_{max} substrat profillerinde kıyaslama için tercih edilen parametredir (57). Kıyaslamalı substrat profilleri için bazı beta laktam antibiyotikler referans olarak seçilmiştir. Penisilinlerden benzil penisilin, ampisilin, karbenisilin ve kloksasilin çeşitli penisilinazlar ve geniş spektrumlu beta laktamazlar arasında ayırım yapılabilmesi için seçilmiştir. Sefalosporinler için sefaloridin referans olarak seçilmiş ve kıyaslama için buna sefalotin eklenmiştir. Yeni ESBL' lerin saptanmasında sefalosporinler için sefotaksim ve seftazidim, monobaktamlar için aztreonam ve karbapenemler için imipenem referans olarak ilave edilmişlerdir (58).

Enzimlerin substrat profilleri kadar inhibitör etkileri de önemli olduğu için bunu belirlemek amacıyla klavulonik asit, sulbaktam, aztreonam ve kloksasilin kullanılmaktadır. Ayrıca sınıflamada p-kloromerküribenzoat (p-chloromercuribenzoate = PCMB) ve EDTA ile inhibisyonda kullanılmaktadır. PCMB ile inhibisyon katalitik olarak önemli bir sistein yan zinciri olduğunu, EDTA ile inhibisyon ise enzimin aktivitesi için metal iyonuna gereksinmesi olduğunu göstermektedir (58).

2.2.3.3.Moleküler Yapılarına Göre Beta Laktamazlar

İlk kez Ambler tarafından yapılmış olan aminoasit dizilerine dayanan moleküler sınıflamanın, henüz tüm beta laktamazlar için yapılmamış olsa da daha basit ve sabit oluşu nedeniyle gelecekte beta laktamazların sınıflamasında tercih edileceği düşünülmektedir (57). Beta laktamazlar dört moleküler sınıfa ayrılmışlardır (57,58,60):

1. Sınıf A: Serin penisilinazlar
2. Sınıf B: Çinko içeren metalloenzimler
3. Sınıf C: Serin sefalosporinazlar
4. Sınıf D: Oksasilini hidrolize eden serin beta laktamazlar

2.2.3.4.Bush-Jacoby-Medeiros Sınıflandırması

Bu sınıflandırmada 1989 yılında Bush tarafından yapılan sınıflandırmadaki ana hatlar korunarak yeni ilaveler yapılmıştır (**Tablo IV**)(57). Bush sınıflandırmasında olduğu gibi enzimler dört grupta toplanmışlardır:

- Grup 1: Klavulonik asitle inhibe olmayan sefalosporinazlar
- Grup 2: Beta laktamaz inhibitörlerine duyarlı olan moleküler sınıf A ve D içinde yer alan enzimler.
- Grup 3: EDTA ve PCMB dışındaki beta laktamaz inhibitörlerine duyarlı olmayan, yapılarında çinko içeren metallo beta laktamazlar
- Grup 4: Klavulonik asitle inhibe olmayan penisilinazlar.

2.2.3.4.1.Ana Hatları ile Bush-Jacoby-Medeiros Sınıflandırmasındaki Beta Laktamazlar

Grup 1: Klavulanik asit ile inhibe olmayan sefalosporinazlar bu gruptadır. Bunların bir çoğu kromozomal enzimlerdir ve indüklenebilen veya deprese beta laktamazlar olarak ortaya çıkmaktadırlar. Sefaloridin ve sefalotini penisilinden daha hızlı hidroliz ederler, klavulanik asit ve sulbaktamdan etkilenmezler, buna karşın aztreonam ve kloksasilin tarafından inhibe edilirler. Moleküler grup olarak Sınıf C' dedirler. Kromozomal AmpC enzimleri, ayrıca plazmid kontrolündeki FOX-1, LAT-1, MIR-1, BİL1 beta laktamazları da bu grupta yer almaktadır(57).

Grup 2: Substrat profillerindeki farklılık nedeniyle bu grup birkaç alt gruba ayrılmıştır. Tümü moleküler sınıf olarak A 'da yer almaktadır (57).

2a: Bu alt grupta penisilini hidroliz eden, klavulanik asite duyarlı enzimler bulunmaktadır. *S. aureus'* un enzimleri bu gruptadır. Ayrıca *Bacillus cereus'* un kromozomal beta laktamazları, *Citrobacter amalonaticus*, *Eikenella corrodens* ve *Fusobacterium nucleatum'* da tanımlanan enzimler de bu gruptadır.

2b: Hem penisilin hem sefalosporinleri hidroliz eden (geniş spektrum) klavulanik asite duyarlı beta laktamazları içerirler. Plazmid kontrolündeki TEM-1, TEM-2 ve SHV-1 enzimleri bu gruptadır. Ayrıca OHIO-1 ve *H.influenzae'* da saptanan ROB-1 enzimini de içermektedirler. Yeni kuşak sefalosporinler, aztreonam ve imipeneme karşı düşük hidrolitik aktivite göstermektedirler.

2be: Genişletilmiş spektrumlu beta laktamları (seftazidim, sefotaksim gibi) ve monobaktamları (aztreonam) hidroliz edip klavulanik asit ile inhibe olan, daha önceki sınıflamada 2b' de yer alan enzimler bu gruba sokulmuştur. ESBL' lar bu grupta yer almaktadır. TEM-3, TEM-26 ve SHV-2, SHV-6 beta laktamazlar ile birlikte kromozomal K1 enzimleri de aztreonamı hidroliz etmeleri nedeniyle bu grupta yer almaktadır. Bu grupta yer alan enzimlerden biri olan PER-1 enzimi ilk kez bir Türk hastanın izolatlarında saptanmıştır(61,62).

2br: Klavulanik asitten etkilenmeyen, geniş spetrumlu beta laktamazlar bu gruba alınmıştır. TEM-30 dan TEM-36'ya kadar olan TEM enzimleri ve TRC-1 enzimi bu gruptadır.

Tablo IV: Beta-Laktamazların Sınıflandırması

Bush Jacobs Medeiros	1989 Bush grubu	Richmond- Sykes	Mitsuhashi sınıfı*	Molekül sınıfı	Tercih edilen substrat	CA ^φ	EDTA	Enzimler
1	1	Ia,Ib,Id	CSase	C	Sefalosporinler	-	-	Gram negatif bakterilerin AmpC;MIR-1
2a	2a	Yok	PCase V	A	Penisilinler	+	-	Gram pozitif bakterilerin penisilinazları
2b	2b	II	PCase I	A	Penisilinler, Sefalosporinler	+	-	TEM-1, TEM-2, SHV-1
2be	2b'	Yok (sadece IV'deki K1)	CXase	A	Penisilinler, dar ve geniş spektrum sefalosporinler, monobaktamlar	+	-	TEM-3 ile TEM-26, SHV-2 ile SHV-6, Klebsiella oxyfaca K1.
2br	Yok	Yok	Yok	A	Penisilinler	±	-	TEM-30 ile TEM-36, TRC-1
2c	2c	II,V	PCaseIV	A	Penisilinler, karbenisilin	+	-	PSE-1, PSE-3, PSE-4
2d	2d	V	PCaseII PCaseIII	D	Penisilinler, kloksasilin	±	-	OXA-1 ile OXA-11, PSE-2 (OXA-10)
2e	2e	Ic	CXase	A	Sefalosporinler	+	-	Proteus vulgaris'in indüklenbilir sefalosporinazları
2f	Yok	Yok	Yok	A	Penisilinler, sefalosporinler, Karbapenemler	+	-	Enterobacter cloacae'nin NMC-A'sı, Serratia marcescens'in Sme-1'i
3	3	Yok	Yok	B	Birçokβ-laktam, Karbapenemler dahil	-	+	Stenotrophomonas maltophilia'nın L1' Bacteroides Fragilis'in Ccra'sı
4	4	Yok	Yok	ND ^ψ	Penisilinler	-	?	Pseudomonas cepacia'nın penisilinazı

*Csaese: sefalosporinaz, PCase: penisilinaz, Cxaze: sefuroximi hidrolize eden b-laktamaz

^φCA klavulanik asit

^ψND belirlenmemiş

2c: Grup 2c içinde karbenisilini hidroliz eden, klavulanik asite duyarlı enzimler yer almaktadır. *P. Aeruginosa*'nın PSE- 1, PSE-3, PSE-4 beta laktamazları, *Aeromonas hydrophila* (*A. Hydrophila*) 'nın AER-1 enzimi, *Moraxella catarrhalis*'in BRO-1 ve BRO-2 enzimleri, *Vibrio cholerae*'nin SAR-1 enzimi de bu gruptadır.

2d: Bu grup, kloksasilini penisilinden daha hızlı hidroliz eden beta laktamazları içermektedir. OXA enzimleri (OXA-12' den OXA-14' ye kadar) bu gruptadır. Bunlardan OXA-11 enzimi, Türkiye'de izole edilen bir suшта tanımlanmıştır (63). Bu enzimlerin önemi, klavulanik asit ve sulbaktama dirençli olmalarıdır. Sadece bu grup moleküler sınıf D 'de yer almaktadır.

2e: 2e grubunda bulunan beta laktamazlar da sefalosporinaz olmalarına karşın, grup 1' dekilerden farklı olarak klavulanik asit ile inhibe olmaktadırlar. *Bacterioides fragilis*'in CepA enzimi, *Bacterioides uniformis* ve *B. Vulgatus*'un kromozomal CblA ve CfxA enzimleri bu gruptadır. *E.coli*'den izole edilen FEC-1 ile *S. maltophilia*'nın L2 ve *Yersinia enterocolitica*'dan izole edilen Blal enzimleri bu grupta yer alan diğer enzimlerdir. *Proteus vulgaris*'in daha önceden Richmond Sykes sınıflamasında 1. grubda bulunan indüklenebilen sefalosporinazı son sınıflamada bu gruba alınmıştır.

2f: Son sınıflandırmada eklenen bu grupta *E. cloacae*'nin indüklenebilen IMI-1 enzimi, *E.cloacae*'nin kromozomal NMC-A enzimi ve *Serratia marcescens*'in Sme-1 enzimi yer almaktadır. Karbapenemleri hidroliz etmekte, klavulanik asit ile inhibe olmaktadırlar.

Grup 3

Grup 3 beta laktamazları, klavulanik asit ile inhibe olmayan metallo enzimleri içermektedir. Bunlar EDTA ile inhibe olan enzimlerdir. Aktiviteleri için Zn iyonlarına gereksinimleri vardır. Bu gruptaki en önemli enzimler, *S.maltophilia*'nın L 1 enzimi, *A. hydrophilia*'nın CcrA enzimidir. Grup 3 enzimleri molekül sınıfı B'de yer almaktadır ve klavulanik asit ile inhibe olmamaktadırlar(57).

Grup 4

Bu grupta klavulanik asit ile inhibe olmayan penisilanazlar yer almaktadır. bunların molekül sınıfı henüz belirlenmemiştir. *Alcaligenes faecalis*, *B. fragilis*, *Campylobacter jejuni*'den izole edilen enzimler, *Clostridium butyricum*'un

indüklenebilen enzimi, *E.coli*' nin plazmid kontrolündeki SAR-2 beta laktamazı bu gruba sokulmuştur(57).

2.2.3.5.Kromozomal Beta Laktamazlar

Kromozomal beta laktamazlar gram olumsuz bakterilerin birçoğunda yaygın olarak bulunmaktadır. Ancak bunların miktarı, sentez yolu ve dirençteki rolleri farklıdır (55,49). Bazılarında moleküler sınıf A enzimler bulunurken, Enterobacteriaceae'ların büyük çoğunluğunda grup C enzimler bulunur. Bu enzimler sefalosporinaz aktivitesi gösterirler. Kromozomal enzimin ifadesi bakteri türüne göre indüklenebilen ve yüksek düzeyde yapısal veya düşük düzeyde yapısal olabilmektedir. *E.coli* ve *Shigella*' da enzim sentezi yapısal ve sentezlenen enzim miktarının az olması nedeni ile bu bakteriler çoğunlukla ampisiline, sefalotin ve sefaleksine gibi dar spektrumlu sefalosporinlere duyarlıdır. Mutasyon sonucu enzimin aşırı sentezlenmesi mutant suşların antibiyotik baskı altında seçilmesine olanak sağlar. Yapılan bir çalışmada üçüncü kuşak sefalosporin alan hastaların %19' unda sefalosporinlere dirençli enterobakter bakteriyemisinde, mutant suşların aşırı enzim sentezlemesinin sorumlu olduğu gösterilmiştir (24).

Beta laktamazların yapısal genlerine AmpC adı verilmektedir (64). Kromozomal olarak sentezlenen bu enzimler plazmid aracılıklı enzimlerden biyokimyasal olarak farklıdır. İstisna olarak *K.pneumoniae* izolatlarının çoğunda bulunan kromozomal beta laktamazlar SHV-1 beta laktamazlardan ayrılamaz. SHV-1 beta laktamaz geni klebsiellalarda kromozomal gen olarak ortaya çıkıp daha sonra plazmidlere aktarılmış olabilir (24).

Kromozomdaki genlerin plazmidlere geçmesi daha tehlikeli bir durumdur. Yapılan bir çalışmada *K.pneumoniae* ve *E.coli*' nin hastane kaynaklı izolatlarında *Enterobacter cloacae* (*E. cloacae*)' dan kaynaklanan bir AmpC tip beta laktamaz olan MIR-1 beta laktamaz üretimi bulunmuştur (64). Bu enzim oksimin beta laktamlara dirençten sorumludur ve beta laktamaz inhibitörleri ile inhibe olmamaktadır. Son yıllarda *Citrobacter freundii* (*C. freundii*)' de plazmid kaynaklı genlerle belirlenen AmpC tip beta laktamaz olan CMY-2, BIL-1 ve *K. oxytoca*' da MEN-1 enzimi bulunduğu gösterilmiştir (24).

2.2.3.5.1.İndüklenebilen Kromozomal Beta Laktamazlar

P. aeruginosa, *Enterobacter spp.*, *Citrobacter spp.*, *Serratia spp.*, *Morganella morganii*, *Providencia stuarti* de kromozomal grup 1 enzimler indüklenebilir özelliktedir ve beta laktam direncinde önemli bir oynamaktadırlar (49). Ortamda antibiyotik yoksa enzim düşük düzeyde yapılmakta, beta laktam antibiyotik varlığında geçici olarak enzim sentezi artmaktadır. Bu izolatlarda bir mutasyon sonucu beta laktamaz devamlı ve yüksek düzeyde sentezlenmeye başlayabilir. Buna "derepresyon veya stabil derepresyon" denilmektedir (55). Direncin ortaya çıkıp çıkmaması ise ilacın enzim tarafından hidrolize dayanıklılığına, MIC değerinin altında indüksiyon yapma kapasitesine ve indüklenen enzimin özelliklerine bağlıdır. Ampisilin ve dar spektrumlu sefalosporinler güçlü indüksiyon yapmakla birlikte enzime karşı duyarlı oldukları için mikroorganizmalara karşı etkisizdirler. Karbapenemler çok güçlü indükleyicilerdir. Ancak her iki şekilde de enzim üreten bakterilere karşı etkilidirler. Beta laktamaz inhibitörlerinin dereprese beta laktamazlara karşı inhibitör etkileri yoktur. Sadece tozobaktam *M.morganii* tarafından sentezlenen enzimini inhibe edebilmektedir (55). Geniş spektrumlu sefalosporinler, piperasilin, mezlosilin, azlosilin gibi üreidopenisilinler ve aztreonam gibi monobaktamlar grup 1 enzimlere duyarlıdırlar. Ancak çok az oranda indüksiyon yaparlar. Böylece indüklenebilen enzim sentezleyen bakteriler yok olurken, spontan mutasyon sonucu derepresyon gösteren bakteriler canlı kalır ve çoğalırlar. Hem in vivo hem de in vitro yapılan çalışmalarda bu şekilde seleksiyonun daha çok üçüncü kuşak sefalosporinler ve aztreonam ile daha nadir olarak da üreidopenisilinler ile olduğu gösterilmiştir (49).

2.2.3.5.2.Beta Laktamaz İndüksiyonu ve Derepresyonun Genetik

Kontrolü

Beta laktamazların yapısal genlerine AmpC adı verilmektedir. İndüksiyonun olabilmesi ise bu genin bitişiğindeki ampR geninin kontrolü altındadır. İndüklenebilen beta laktamazların oluşması için gerekli olan gen ürünleri ve fonksiyonları Tablo V' de gösterilmiştir (64).

Tablo V : Gram olumsuz bakterilerde beta laktamaz indüksiyonu için gereken proteinler

PROTEİN	ROLÜ
AmpR	Transkripsiyonun düzenlenmesi
AmpG	İndüksiyon sinyalinin geçirilmesi için gerekli olan integral membran
AmpD	Beta laktamaz ifadesinin down-regülasyonu
AmpE	Represyonun artışı; olması şart değil
PBP2	Beta laktamla etkileşime giren protein

Gram olumsuz bakterilerde indüklenebilen beta laktamazların oluşması için önerilen modelde; indükleyici olan beta laktam molekülü hücre duvar sentezinde rol alan PBP ile etkileşime girmekte ve peptidoglikan sentezi sırasında ortaya çıkan bir hücre duvar fragmanı (N-asetilglukozamil-1, 6 anhidro-N asetilmuramiltripeptid) ampG permeaz tarafından stoplazmadan geçirilmektedir. Bu fragmanın şeker rezidüleri stoplazmada bulunan ampD ürünü olan ampD amidaz ile ayrılır ve tekrar döngüye katılır. Eğer ampD inaktive olursa stoplazmada biriken 1, 6 anhidro-N asetilmuramiltripeptidler ampR' yi aktif hale dönüştürmekte ve AmpC' nin transkripsiyonu artmaktadır. amp R beta laktam varlığında aktivatör, yokluğunda baskılayıcı olarak görev yapmaktadır (60,64). Dereprese mutantların ortaya çıkması çoğunlukla ampD' de oluşan mutasyon sonucudur (66). *E.coli* ve *Shiegellae'* da beta laktamaz indüksiyonunun olmaması ampR' nin olmamasına bağlanmıştır (64).

2.2.3.5.3.İndüklenebilir Beta Laktamazların Klinik Önemi

Beta laktamaz üreten dereprese mutantlar indüklenebilen beta laktamaz sentezleyen bakteri toplumlarında zayıf indükleyiciler ile tedavi sırasında ortaya çıkmaktadır. Bunun nedeni bu bileşiklerin indüklenebilen hücreleri öldürmesi, buna karşın 10^{-5} - 10^{-7} sıklıkla ortaya çıkan dereprese mutantların seleksiyona yol açmasıdır (49). Seleksiyon olasılığı infeksiyon yerine, bakteri yoğunluğuna, ilacın ulaşabildiği etki düzeyine ve kullanılan beta laktam antibiyotiğe göre değişmektedir. *P.aeruginosa* ve *E. cloacae'* da invivo seleksiyonun çok sık oluşması ve yapılan enzim miktarının çok fazla olması bu bakterilerdeki yüksek

direnci ve klinik olarak önemlerini açıklamaktadır (49). Dereprese mutantlar bir kez seleksiyona uğradıklarında hastane florasında kalmakta ve hastadan hastaya yayılabilmektedir. Enterobakterilere bağlı bakteriyemilerin %20' sinde seleksiyonun olduğu ve bu oranın pnömonilerde daha yüksek olduğu gösterilmiştir. Direnç gelişimi özellikle yoğun bakım ünitelerinde nötropenik ve immun sistemi baskılanmış hastalarda ciddi sorunlar oluşturmaktadır (66). Dereprese mutantların seçilme riski nedeniyle, genişletilmiş spektrumlu sefalosporinlerin indüklenebilen beta laktamaz sentezlediği bilinen bakterilerin neden olduğu üriner sistemin infeksiyonları dışında kullanılmaması önerilmektedir. Üriner sistem infeksiyonlarında bu risk düşüktür çünkü; antibiyotik idrarda MIC değerinin çok üstüne çıkmaktadır. Bu durumda karbapenemler ve kinolonlar önerilmektedir. Karbapenemler güçlü indükleyiciler olmalarına rağmen, hem indüklenebilen hem de dereprese enzimlere karşı eşit aktivite göstermeleri nedeni ile seleksiyona yol açmamaktadırlar(55).

2.2.3.5.4.Moleküler grup A ve grup B'deki Kromozomal Beta Laktamazlar

Moleküler grup A' da yer alan en önemli kromozomal beta laktamaz *Proteus vulgaris* (*P. vulgaris*), *Klebsiella spp*, *C. diversus*, *Bacteroides* lerde yer alan ve Bush sınıflamasına göre grup 2 b, 2be ve 2e' de yer alan enzimlerdir. Bunların grup C' deki enzimlerden en önemli farkı beta laktamaz inhibitörleri ile inhibe olmalarıdır. Bunlardan *K. oxitoca*' nın ürettiği K 1 enzimi sefotaksim, seftriakson, aztreonam ve sefuroksime karşı direnç oluşturmakta ve beta laktamaz inhibitörleri ile inhibe edilememektedir (8).

Moleküler grup B' deki kromozomal beta laktamazlar *Streptophomonas maltophilia* (*S. maltophilia*), *Bacillus cereus* (*B. cereus*), *Aeromonas hydrophilia* (*A. hydrophilia*), *Legionella gormanii* izolatlarında bulunmaktadır. Bu enzimler monobaktamlar dışında tüm beta laktamları ve karbapenemleri hidrolize etmektedirler (67). Bunların içinde en önemlisi, özellikle yoğun bakım ünitelerinde giderek artan sıklıkla karşımıza çıkan *S.maltophilia*' dır. Bu bakterilerde L1 ve L2 enzimi bulunmaktadır. L1 enzimi karbapenemaz ve sefalosporinaz aktivitesine sahiptir (68).

2.2.3.6.Plazmid Kontrolündeki Beta Laktamazlar

Gram olumsuz bakterilerde yapılan beta laktamazların büyük bir çoğunluğu plazmid kontrolünde yapılmaktadır. Bu beta laktamazlar her dört molekül sınıfında da bildirilmekle beraber en önemli olanlar TEM ve SHV grubu enzimlerdir ve bunlar moleküler grup A sınıfına aittirler (49,57).

2.2.3.6.1.TEM ve SHV Beta Laktamazlar

1960'ların başında metisilin, ampisilin gibi yarı sentetik penisilinler ve geniş spektrumlu beta laktam ajanlar üretilmiş ve kısa sürede geniş bir klinik kullanım alanı bulmuştur. Bunu takiben 1963 yılında ilk kez Atina'da bir *E.coli* izolatında TEM-1 beta laktamaz üretimi tespit edilmiştir(8). TEM-1 enziminden sadece bir aminoasit farklı olan TEM-2 enzimi kısa sürede *Enterobacteriaceae'* lar arasında yayılmıştır(49,69). Başlangıçta *Enterobacteriaceae'* lar arasında kalan bu enzim 1970' li yıllarda *P.aeruginosa*, *H.influenzae*, *N.gonorrhoeae* ve *Vibrio spp'de* gösterilmiştir (49,69,8). TEM-1 enzimine yapısal olarak %65 oranında benzer olan SHV-1 enzimi de aynı dönemde *Klebsiella spp.'* den izole edilmiştir. SHV-1 enzimi *Klebsiella spp.* türlerinde kromozal bir enzimdir. Bush-Jacoby-Medeiros sınıflamasında 2b, 2c ve 2d' grubuna ait olan farklı substrat özelliği gösteren 30' un üzerinde plazmid aracılıklı beta laktamaz gösterilmiştir. Bu enzimler özellikle hastaneden izole edilen *Enterobacteriaceae'* lar ve *Pseudomonas'* lar arasında yaygındırlar (8). TEM-1 enzimini kodlayan plazmidler günümüzde ülkeden ülkeye farklı olmak üzere *E.coli' lerin* % 50-60' ında, enterik bakterilerin % 20-50' sinde, *H.influenzae* ve *N.gonorrhoeae' lerin* % 2-40' ında saptanmaktadır. Psödomonaslarda bu grup enzimler daha nadir bulunmaktadır. Bu bakterilerde plazmid aracılıklı beta laktamaz olarak çoğunlukla PSE-1 enzimi bulunmaktadır(54).

TEM-1, TEM-2 ve SHV-1 enzimleri benzer beta laktam antibiyotiklere karşı etki göstermektedir. Bu enzimler ampisilin, karbenisilin ve tikarsiline karşı yüksek oranda dirençten sorumlu iken birinci kuşak sefalosporinlere, sefoperazona ve ureidopenisilinlere karşı zayıf aktivite gösterirler. Oksiimino beta laktamlara (sefotaksim, seftriakson, seftazidim), sefamisinlere (sefoksitin, sefotetan, sefmetazol), monobaktamlara (aztreonam) ve karbapenemlere (imipenem,

meropenem) karşı etkisizdirler. Beta laktamaz inhibitörleri ile sentezlenen enzim miktarına bağlı olarak inhibe olurlar (70,71). *H.influenzae* ve *N.gonorrhoeae*' de bu enzimlerle oluşan direnç beta laktamaz inhibitör kombinasyonları ile önlenabilir (55).

2.2.4.GENİŞLEMİŞ SPEKTRUMLU BETA LAKTAMAZLAR (ESBL)

İlaç endüstrisinin başarısı sonucunda beta laktamaz hidrolizine dirençli yeni beta laktam antibiyotikler geliştirilmiş 1978' lerde Avrupa' da, 1981' de A.B.D.' de üçüncü kuşak sefalosporinler klinik kullanıma girmişlerdir. Bu antibiyotikler ilk uygulandıkları dönemde bilinen plazmid aracılıklı tüm beta laktamazlara karşı oldukça dirençli idiler. Ancak ilk kez 1983 yılında Almanya' da oksiminio sefalosporinlere dirençli *K. pneumoniae*' nın bulunması ile beta laktam antibiyotiklere direnç tarihinde yeni bir dönem başlamıştır (8,54). Almanya' da üç izolatta bulunan bu enzim SHV-1 beta laktamaz yapısında nokta mutasyonu sonucunda 238' inci pozisyonda glisin yerine serin geçmesi ile oluşmuş SHV-2 olarak adlandırılan enzimdir. Bu değişiklik sonucu enzimin sefotaksime bağlanma afinitesi artmıştır (8,24). Aynı dönemde İngiltere' de yeni doğan ünitesinde, hastane infeksiyonu nedeni olan *K.oxytoca* salgınını kontrol altına almak için seftazidim tedavisini takiben bu bakterinin TEM-1' den nokta mutasyonu sonucu oluşan TEM-12 olarak adlandırılan enzim ürettiği ve bunun seftazidim direncinden sorumlu olduğu gösterilmiştir (69). Takiben seftazidim dirençli *K. pneumoniae* suşlarında CTX-1 (TEM-3) olarak adlandırılan yeni beta laktamaz bulunmuş ve bu enzimin Fransa' da hastane infeksiyon salgınlarında önemli rol oynadığı tespit edilmiştir. Nükleotid dizileri çalışıldığında bu enzimin, TEM-2' den sadece iki aminoasit farklı olduğu gösterilmiştir (). Bundan sonra ESBL sayısında ve tipinde hızlı bir artış olduğu ve bu enzimlerin SHV ve TEM beta laktamazlardan sadece 1-4 aminoasit değişikliği sonucu oluştuğu gösterilmiştir (8,24,54,72). Bu güne kadar 30' dan fazla ESBL tanımlanmıştır. Bunların 25' i TEM-1 ve TEM-2 den, altısı SHV' den köken almışlardır. Daha çok klebsiellalarda olmak üzere diğer enterik bakterilerde bulunmaktadır (8). Enzimlerin dağılımı coğrafi bölgelere göre farklılık göstermektedir. SHV-2, SHV-4, SHV-5, TEM-6 çoğu ülkede bulunurken; TEM -10, TEM-12, TEM-26 A.B.D' de ve İngiltere' de, TEM-3' ün ise Fransa' da

daha sık gözlemlendiği bildirilmiştir. Hastanelerdeki antibiyotik kullanımında farklılıklar bu enzimlerin dağılımındaki farklılığın esas sebebidir(24).

ESBL üreten mikroorganizmalar sefamisinler dışında tüm sefalosporinlere ve monobaktamlara dirençlidirler (49,8). Farklı ESBL enzimlerinin yol açtığı direnç paterni farklıdır. SHV-4, SHV-5, SHV-7 enzimleri SHV-2 ve SHV-3' e göre daha yüksek oranda seftazidim ve aztreonam Vmax değerine sahiptirler. A.B.D. ve Fransa' da seftazidim kullanımının atmasına bağlı olarak hastane salgınlarında izole edilen *K. pneumoniae*' larda dominant ESBL tipinin SHV-4 ve SHV-5 olduğu gösterilmiştir. Sefatoksimin yüksek oranda kullanıldığı bölgelerde TEM-4, TEM-8, TEM-5 ve TEM-25 bu antibiyotiğe karşı dirençten sorumludur(8). TEM-10 ve TEM-26 seftazidim için daha yüksek hidroliz hızına sahiptir. Bazı ESBL' ler MIC değerinde fazla yükselmeye yol açmadığından rutin laboratuvarlarda gözden kaçabilmekte, ancak antibiyogramlarda kullanılan inokulum miktarının artırılması ile MIC değeri direnç sınırının üzerine çıkmaktadır (54,8).

Karbapenemler hem in vivo hem de in vitro ESBL üreten mikroorganizmalara karşı oldukça etkilidirler. Sulbaktam-ampisilin, tazobaktam-piperasilin gibi beta laktamaz inhibitör kombinasyonları ESBL tarafından hidrolize dirençlidirler. Ancak çok fazla miktarda enzim yapılırsa, birden fazla enzim üretilmişse veya porin kaybına bağlı periplazmik aralığa geçiş azalırsa beta laktamaz inhibitör kombinasyonlarına karşı da direnç oluşabilir (4).

2.2.4.1.ESBL Yapımının Klinik Açısından Önemi

ESBL önce Almanya' da saptanmış, ancak ilk klinik sorunlar Fransa' da yaşanmıştır. Paris' de 20 hastanede *Klebsiella* spp. izolatlarında ESBL enzim üretim oranı 1985' de %1 iken, 1989' da %11' e yükselmiştir. Günümüzde bu oranın bazı hastanelerde %35' den daha fazla olduğu bildirilmektedir (73). A.B.D' den bildirilen yayınlarda seftazidim dirençli *K. pneumoniae* sıklığı 1987' de %1.5 iken, 1993' de bazı yoğun bakım ünitelerinde %14.4' e, bazı hastanelerde ise %40' a yükselmiştir (4). ESBL kodlayan genlerin plazmidler ve transpozonlar üzerinde taşınması nedeniyle kısa sürede gram olumsuz bakteriler arasında yayılımını sağlamıştır. Moleküler epidemiyolojik çalışmalar ESBL üreten türlerin

hastane içinde ve hastaneler arasında yayıldığını düşündürmektedir (7). ESBL üreten *Enterobacteriaceae*' lar ile ortaya çıkan nozokomiyal infeksiyon salgınlarına yönelik çalışmalar, bu türlerin geniş spektrumlu sefalosporin kullanımının yarattığı seçici baskı sonucu ortaya çıktığını göstermiştir (74-76). Uzun süreli bakım ünitelerinden ve bakım evlerinden hastaneye yatırılan hastalar, bu özellikteki mikroorganizmaları hastanelere taşımakta, hastanelerde yaygın beta laktam kullanımı sonucunda solunum sistemi ve gastrointestinal sisteminde dirençli mikroorganizma kolonizasyonu artarak sonuçta infeksiyon gelişmesine neden olmaktadır (7,24,77). ESBL üreten mikroorganizmalarla oluşan hastane infeksiyon salgınlarının yetersiz kontrolü aynı üniteye hatta aynı hastada yeni mutant tip ESBL üretimi ile sonuçlanmaktadır. ESBL genlerinin endemik olarak bulunduğu çevrelerde farklı genler arasında nokta mutasyonları ve yeniden düzenlenmeleri sonucu yeni ESBL enzimleri meydana gelmektedir (24).

Başlangıçta ESBL üreten mikroorganizmalar hastane infeksiyonlarından izole edilirken günümüzde ayaktan hastalarda kolonize olan mikroorganizmalarda ESBL üretimi olduğu gösterilmiştir (78).

ESBL üreten mikroorganizmalar önceleri sadece bir tür enzim üretmekte idiler. Üretilen bu enzimin direnç profili her zaman ESBL üretimini desteklememektedir. Sıklıkla seftazidim veya sefotaksim MIC düzeyi klinik duyarlılık sınırları içinde kalmaktaydı. Günümüzde ise ESBL üreten mikroorganizmaların çoğunluğu 3 veya 4 tip beta laktamaz üretmektedir (78). Çok sayıda enzim üreten mikroorganizmaların biyolojik özelliği, farklı enzim kinetiklerini bir arada taşımaktadır. Örneğin; ESBL üreten bir mikroorganizma aynı zamanda grub 1 beta laktamaz da üretiyor ise beta laktamaz inhibitörlerine karşı da dirençli olacaktır. ESBL kodlayan plazmidler aynı zamanda aminoglikozid, kloramfenikol, sulfonamid, trimetoprim, tetrasiklin gibi diğer antibiyotik direnç genlerini taşıdığı için, alternatif tedavi seçenekleri kısıtlanmaktadır (4,79). ESBL üreten *K. pneumoniae* ve *E.coli*' ler arasında kinolon direnci bu enzimi üretmeyenlere göre oldukça yüksektir (80). Çoğul antibiyotik direncinin olası bir diğer nedeni de bu mikroorganizmaların dış membran proteinlerindeki değişikliğe bağlı antibiyotik geçirgenliğinin azalmasıdır. ESBL üreten mikroorganizmalarda bir tedavi seçeneği de sefamisinlerin kullanımıdır. Sefoksitin veya sefotetan ile tedavi

edilen ESBL üreten *K. pneumoniae* infeksiyonlu hastada takiben izole edilen aynı mikroorganizmanın dış membran porin protein kaybı sonucu sefamisinlere ve oksiiimino beta laktamlara daha dirençli ve beta laktamaz inhibitörlerine daha az duyarlı olduğu bulunmuştur (4,78,81,82). ESBL üreten mikroorganizmaların çoğunluğu hastanelerden kazanılmaktadır ve olgulardaki risk faktörleri diğer nozokomiyal infeksiyon risk faktörlerine benzer olarak bulunmaktadır. Bu risk faktörleri şunlardır (4):

- Enfeksiyon öncesinde bir dönemde antibiyotik kullanımı
- Hastanede ve yoğun bakım ünitesinde yatma ve yatış süresinin uzunluğu
- Bakım evlerinde bulunma
- Arteriyal ve santral venöz kateterizasyon
- Acil batin içi cerrahisi
- Gastrostomi ve jejunostomi tüp uygulaması
- Hastalığın şiddeti
- İdrar sondası takılması
- Ventilator tedavisi

Daha ayrıntılı incelemeler infeksiyon öncesinde sıklıkla gastrointestinal sistemin bu mikroorganizmalarla kolonize olduğunu göstermiştir (4,83,84). Hastane personelinin ellerinin dirençli mikroorganizmaların hastadan hastaya taşıyıcılıkta önemli rolü bulunmaktadır(85). Hastane ortamında birçok tip ESBL bulunurken, bir tanesi baskın hale gelebilir. Bazı hastanelerde ESBL kodlayan plazmidler farklı mikroorganizmalar arasında yayılabilir. Başka bir hastane salgınında aynı plazmidi içeren bir tür tüm hastalardan izole edilebilir. Fransa' da Paris çevresinde birbirine yakın olan ve hasta alış verişinde bulunan hastaneler arasında aynı tip SHV-4 üreten *K. pneumoniae* izolatu tespit edilmiştir (4).

ESBL üreten mikroorganizmalarla hastane infeksiyon salgınlarının önlenmesi için infekte veya kolonize hastaların izole edilmesi, el yıkamaya verilen önemin artırılması ve oksiiimino beta laktam antibiyotik kullanımının sınırlandırılması gereklidir (4).

2.3.YENİDOĞAN YOĞUN BAKIM ÜNİTESİNDE NOZOKOMİYAL İNFEKSİYON

Yenidoğan yoğun bakım ünitelerinde (Neonatal Intensive Care Unit-NICU) çok düşük doğum ağırlıklı bebeklerin giderek yaşatılabilme şansının artması ve buna bağlı hastanede kalış süresinin uzaması, monitorizasyon ve hızla gelişen teknoloji ile invazif girişimlerin artması enfeksiyon sıklığını arttırmıştır. NICU' de nozokomiyal enfeksiyonların artması mortalite oranında artmaya, hastane kalış süresinde uzamaya ve sağlık harcamalarında önemli oranda artışa yol açmaktadır (3).

Nozokomiyal sözcüğü Yunanca nosos - hastalık ve komein - bakım kelimelerinden oluşmuştur ve hastanede oluşan anlamına gelmektedir. Tam tanımıyla hastanede doğan infantlarda doğum esnasında (doğum kanalından geçerken) ve doğumdan sonra kazanılan enfeksiyon anlamına gelmektedir. Fakat yaşamın ilk 48 saati içinde gelişen enfeksiyonların çoğu hastaneden kazanılmadığı gibi hastaneden çıktıktan sonra oluşan enfeksiyonların çoğu da hastaneden kazanılmaktadır ve etkili hastane enfeksiyon kontrol programları ile önlenebilmektedir. Bu tanımlama yetersizliği nedeniyle "The Centers for Disease Control and Prevention - CDC" tarafından yapılan standart tanımlamada nozokomiyal enfeksiyon intrapartum ve postpartum kazanılmış hastane enfeksiyonlarını ve hastaneden taburcu olduktan sonraki 48 saat içinde oluşan enfeksiyonları kapsar (86).

Yenidoğan yoğun bakım ünitesindeki enfeksiyonlar pek çok açıdan farklılık göstermektedir:

1. Doğuma kadar endojen floraya sahip olamayan yenidoğan, doğum kanalından geçerken ve doğum sonrasında mikroorganizmalarla karşılaşarak kendi florasını oluşturur. Yenidoğan mukozal ve deri florası annenin genital traktusunu ve hastanenin florasını yansıtır. Yenidoğanların çoğunda temasta bulunduğu bu bakteriler kolonizasyona neden olurlar ve yenidoğan enfeksiyonlarının en büyük kaynağı genellikle infantın kendi florasındaki bu mikroorganizmalardır (6,83).
2. Yenidoğanların özellikle prematüre bebeklerin, immünolojik immatüretesi bunların enfeksiyonlara yatkın olmalarına neden olur. Yenidoğanların hem T hücre fonksiyonları (sitotoksikite, gecikmiş tip hipersensitivite, sitokin üretimi)

hem de B hücre fonksiyonları (polisakkarid antijenlere karşı yetersiz antikor yapımı) yetersizdir. Natural killer hücre sayıları normal olmakla beraber immatürdür ve sitotoksik aktiviteleri azalmıştır. Azalmış nötrofil depo havuzu, fagositlerin endotele yapışma ve migrasyon özelliklerinde azalma, fagositoz ve bakterisidal fonksiyonlarındaki yetersizlik yenidoğan fagositik defansın iyi bilinen yetersizlikleridir. Makrofaj ve monositlerin ayrıca TNF alfa ve IL-6 gibi bazı sitokinleri yapma kapasitesi de azdır. Kompleman komponentlerinin ve fibronektin konsantrasyonlarının daha az olması da yetersiz opsonizasyona yol açar (87).

3. Hastanede kolonizasyon sonucu oluşan infeksiyonlar hastanede veya hastaneden taburcu olduktan sonra oluşabilir. Bu nedenle doğru bir infeksiyon surveyansı için hastaların taburcu olduktan sonra da takibi gerekmektedir (3).
4. Yenidoğanda intrapartum ve pospartum kazanılan patojenlerin kaynağını doğru tespit etmek güçtür. Örneğin; geç başlangıçlı B grubu streptokok infeksiyonu annedeki kolonizasyondan kaynaklanabileceği gibi ünite personelinin elleri aracılığı ile bebekten bebeğe geçişle de kazanılabilir (3).

2.3.1.Epidemiyoloji

Term yenidoğanlarda sıklık daha az olup, yenidoğan yoğun bakım ünitesinde nozokomiyal infeksiyon sıklığı belirgin artmaktadır ve üçüncü düzeyde hizmet veren üniteler arasında da insidans oranları farklılık göstermektedir. Bu farklılıklar; tanımlamadaki standardizasyonun aynı olmamasına, doğum ağırlığı, hastanede kalış süresi ve diğer hastanelerden üniteye hasta kabul etme kriterleri gibi risk faktörlerinin farklı olmasına, infeksiyona zemin hazırlayan medikal girişimlerdeki farklılıklara bağlıdır. NICU'de nozokomiyal infeksiyon oranının erişkin medikal ve cerrahi yoğun bakım üniteleri kadar yüksek olduğu, bu oranın yaklaşık %15-20 arasında değiştiği bildirilmektedir (88).

A.B.D' de 51 merkezin sonuçlarını içeren bir yayında yenidoğan ünitelerinde nozokomiyal infeksiyon oranı %1.4 olarak belirtilmiştir. Oran, %0.9 ile %1.7 arasında değişmektedir. İnfeksiyon oranının bu kadar düşük olması bu ünitelerin çoğunun birinci ve ikinci derecede sağlık hizmeti veren üniteler olmaları ve term yenidoğanları içermelerinden kaynaklanmaktadır (3). Yine A.B.D.'de "The

National Nosocomial Infections Surveillance System (NNIS)" in 44 yenidoğan bakım ünitesinde bildirdiği nozokomiyal infeksiyon oranı %14 iken aynı merkezlerin yenidoğan servislerindeki oran %0.4' dür. Çok düşük doğum ağırlıklı (very low birth weight-VLBW-doğum ağırlığı <1500 g) bebeklerdeki oran %33' e yükselirken, 1500 gramdan büyük doğum ağırlığına sahip bebeklerdeki oran %10' dur (3). Almanya' da yapılan bir araştırmada NICU' de nozokomiyal infeksiyon oranı %20.1, doğum ağırlığı 1000 gramdan düşük olan bebeklerde %44.4, doğum ağırlığı 2500 gramdan büyük olan bebeklerde ise bu oranın %10.1 olduğu bildirilmiştir (89).

Nozokomiyal infeksiyona sahip bebeklerde hastanede kalış süresi 3 kat artarken, mortalite oranının 2 kat arttığı gözlenmiştir (3).

2.3.2.Etiyoloji

NICU' lerde term bebeklerde oluşan infeksiyonların çoğunluğu; deri, ağız ve konjuktivayı tutan yüzeyel infeksiyonlardır (). Ağız ve konjuktiva infeksiyonları çoğunlukla doğum esnasında annenin doğum kanalından kazanılan mikroorganizmalarla oluşurken; omfolit, püstül, abse ve bullöz impetigo şeklinde ortaya çıkan deri infeksiyonlarında etken hastaneden kazanılır ve büyük çoğunlukla *S.aureus*' tur (90).

NICU' de nozokomiyal infeksiyon sonucu en sık gözlenen tablolar; %32.3 bakteriyemi, %17.4 pnömoni, %10.5 cild infeksiyonu, %7.8 gastrointestinal sistem infeksiyonları, %3.2 cerrahi yara ve diğer organ infeksiyonlarıdır (91). Yapılan başka bir çalışmada ise infeksiyon alanları; %32.3 pnömoni, %27.4 bakteriyemi, %11.3 deri ve cerrahi yara infeksiyonları olarak bulunmuştur (89).

En sık rastlanan bakteriyel ajanlar gram olumlu basiller olan *S.aureus* ve koagulaz negatif stafilokokdur (92,93). Gram olumsuz basiller içinde en sık saptanan etkenler; *K.pneumoniae*, *E.coli* ve *Pseudomonas aeruginosa*' dır (92,94).

Koagulaz negatif stafilokok infeksiyonu sıklıkla düşük doğum ağırlıklı, vasküler kateterizasyon ve total paranteral beslenme uygulanan bebeklerde gözlenmektedir. Bu hastalarda diğer önemli bir etken de *Candida albicans* (*C. albicans*)' tır. VLBW infantlarda *C.albicans* %3-4 oranında infeksiyon oluştururken,

kolonizasyon oranının %27 ve infeksiyon oluşan olgularda ise mortalitenin %54 olduğu bildirilmiştir (95,96).

NICU' de giderek görülme sıklığı artan bir diğ r nozokomiyal infeksiyon etkeni de enterokoklardır. Özellikle VLBW infantlarda ve hastanede yatışın yedinci gününden sonra görülme sıklığının arttığı bildirilmektedir (97).

NICU' de hastane infeksiyon salgınlarına neden olan en sık etken ise önceleri *S.aureus* ve *A* grubu streptokoklar olarak bildirilirken, son yıllarda sıklıkla gram olumsuz bakterilerin NICU epidemilerinden sorumlu olduğu görülmektedir (6,3). Bu bakteriler içinde en sık gözlenenler *Klebsiella spp.*, *E.coli*, *Enterobacter*, *Citrobacter*, *Serratia* gibi enterik gram olumsuz basiller ile *Pseudomonas* ve *Acinetobacter* gibi nonenterik gram olumsuz bakterilerdir (6,98,99). Gram olumsuz bakteriler, kullanılan antibiyotik politikalarına bağılı olarak yıllar içinde aminoglikozidlerin çoğu ile geniş spektrumlu sefalosporinler ve monobaktamlara karşı direnç geliştirmişlerdir. İlk kez Avrupa' da ortaya çıkan bu dirençli suşlar daha sonra pek çok ülkede bildirilmiştir (6).

NICU' deki diğ r nozokomiyal infeksiyon ajanları; gastroenteritlerden sorumlu olan *Salmonella*, *Shigella*, *E.coli* ve rotavirüsler ile viral salgınlardan sorumlu olan *respiratory syncytial virus*, *Influenza*, *Parainfluenza*, *Rhinovirüs*, *Adenovirüs* ve *enterovirüsler*dir (3).

2.3.3.Risk Faktörleri

Yenidoğ nlarda nozokomiyal infeksiyon oluşma riskini arttıran pek çok faktör vardır. Bunlar; doğum ağırlığı, immün sistemin durumu, bakteriyel kolonizasyon, hastanede yatış süresi, ünitenin özellikleri (hemşire, hasta oranı, hasta sayısı gibi) yetersiz ve uygun olmayan infeksiyon kontrol önlemleri ve antibiyotik kullanım politikalarıdır (3).

Yenidoğ nlarda nozokomiyal infeksiyon için en önemli risk faktörü, diğ r risk faktörlerinin çoğunun da ilişkili olduğu düşük doğum ağırlığıdır. Düşük doğum ağırlığı özellikle koagulaz negatif stafilokok bakteriyemisi için en önemli risk faktörüdür (100,101). Yapılan bir çalışmada NICU' ya bir yıl içinde kabul edilen 1008 bebekten 130' unda nozokomiyal infeksiyon saptanmıştır. İnfeksiyon oranlarının doğum ağırlığına göre dağılımı: 500-999 g (%89), 1000-1499 g (%34),

1500-2499 g (%6) ve 2500 g 'ın üstündeki bebeklerde (%2) olarak tespit edilmiştir (102). Düşük doğum ağırlığı olan bebeklerin enfeksiyona olan yatkınlığı humoral ve hücrel immun sistemi içeren immatüriteden kaynaklanmaktadır (3). Prematüre doğan bebeklerde hipogamaglobulineminin enfeksiyon riskini arttırdığı gösterilmiş olmasına rağmen profilaktik immunglobulin tedavisiyle ilgili yapılan pek çok çalışmada intravenöz immunglobulin tedavisinin enfeksiyon riskini azalttığı konusunda görüş birliği yoktur (103).

Yoğun bakım ünitesinin özellikleri nozokomiyal enfeksiyon riskini etkilemektedir. NICU' da uzun süreli kalış, infantın üniteden kaynaklanan potansiyel olarak patojen gram olumsuz bakterilerle kolonizasyonuna ve enfeksiyona zemin hazırlar. NICU' da çalışan personel sayısının fazla veya yetersiz olması, yeterli enfeksiyon kontrol önlemlerinin uygulanmaması özellikle el yıkama alışkanlığının sağlanamaması enfeksiyon oluşumuna neden olmaktadır (104,105). Goldman ve arkadaşları üniteye çalışmaya alanının, hasta / hemşire oranının ve ünite düzeninin enfeksiyon oluşması üzerine etkilerini inceledikleri çalışmalarında daha fazla personel ve daha geniş bir çalışma alanı kullanarak iki yıl sonunda nozokomiyal enfeksiyon oranının %5.8'den %1.8'e düştüğünü saptamışlardır (92). Aynı çalışmada üniteye aşırı kalabalığın enfeksiyon riskini beş kat arttırdığı da gösterilmiştir. Yapılan bir başka çalışmada ise yetersiz personelin stafilokokkal enfeksiyon riskini 16 kat, personel ve hasta sayısının fazlalığının ise 7 kat arttığı saptanmıştır (106). Bu nedenle ünitenin yeterli büyüklükte ve personelin yeterli sayıda olması enfeksiyon kontrol önlemlerinin önemli bir parçasıdır.

Santral venöz ve arteriyel kateterler nozokomiyal bakteriyemi için önemli risk faktörü olup, deriden kaynaklanan mikroorganizma kolonizasyonlarının hem damar duvarına hem de kontamine trombuslar ile iç organları enfekte etmesine neden olurlar. Bu kateterlerle bakteriyel ve fungal bakteriyemi riskinin filtre kullanılsa bile %8 oranında olduğu ve kateter 0-7 gün kaldığında kolonizasyon %16 iken 30 güne kadar tutulması halinde bu oranın %77' ye çıktığı bildirilmektedir (107).

Endotrakeal tüp uygulaması, öksürük refleksini baskılayıp, trakeal siliyer aktiviteyi azaltarak üst hava yolları ve orofarengeyal bakteriyel kolonizasyonu alt

hava yollarına indirerek enfeksiyona zemin hazırlar. Entübe hastalarda nozokomiyal pnömoni riski belirgin bir oranda artmaktadır. Mekanik ventilatörlerin tüm aksamı nozokomiyal enfeksiyon için bir risk faktörüdür (3).

Respiratör sıvıları, intravenöz sıvılar, lipid emülsiyonları, kan ürünleri, anne sütü veya formüller hazırlanmaları ve depolanmaları esnasında *P.aeruginosa* ve *K.pneumoniae* gibi gram olumsuz bakterilerle kontamine olup enfeksiyon gelişimine neden olabilirler (3).

Nazogastrik tüp uygulaması üst gastrointestinal sistemin kolonizasyonu ile sonuçlanarak bakteriyemi için zemin hazırlar. Eğer süt ve formüller hazırlanma ve toplanmaları esnasında kontamine olmuşlarsa nazogastrik beslenme riski daha da arttıracaktır (108,109).

Direncin ortaya çıkması ve hastanedeki mikroorganizmalar arasında yayılması ile ilgili pek çok mekanizma ileri sürülmüştür (Tablo VI)(110). Bu direnç gelişim mekanizmalarından üçü antibiyotik kullanımının etkisi ile olmaktadır:

1. Direncin kazanılması
2. Gizli direncin ortaya çıkması
3. Dirençli subpopulasyonların seleksiyonu

Tablo VI : Hastanedeki mikroorganizmalarda direncin ortaya çıkması ve yayılmasında rol oynayan mekanizmalar

-
1. Önceden duyarlı olan popülasyona dirençli organizmanın girmesi
 2. Duyarlı türlerin direnç kazanması
 - a- Spontan mutasyon
 - b- Genetik aktarım
 3. Popülasyonda mevcut olan direncin ortaya çıkması
 4. Dirençli subpopulasyonun seleksiyonu
 5. Dirençli organizmanın yayılması
-

Çoğunlukla dirençli bir mikroorganizmanın ortama girmesi indeks olguya doğru kontakların izlenmesi ile dökümente edilebilir. Bu indeks olgu hastaneye alındığında dirençli mikroorganizma ile kolonize veya enfektedir. Bununla beraber daha sık olarak dirençli mikroorganizmanın kaynağı bulunamaz(110).

Bazı kanıtlar hastanelerde antimikrobiyal ajan kullanımı ile direnç gelişimi arasında bir sebep sonuç ilişkisinin olduğunu düşündürmektedir (110,111):

1. Antibiyotik kullanımındaki değişikliklere paralel direnç prevelansındaki değişiklikler.
2. Antibiyotik direncinin toplumdan kazanılmış infeksiyonlara oranla nozokomiyal bakteri türlerinde daha yaygın olması.
3. Nozokomiyal infeksiyon salgınları sırasında dirençli mikroorganizmalar ile infekte hastaların, kontrol hastalarına göre daha büyük olasılıkla önceden antimikrobiyal tedavi almaları.
4. Hastane içindeki en yüksek antimikrobiyal direnç oranlarına sahip bölgelerin aynı zamanda en yüksek antibiyotik kullanım alanları olması
5. Hastanın antibiyotiklere maruz kalma süresinin artması ile dirençli organizmalarla kolonizasyon oranının artması.

Stuart-Levy adlı araştırmacının hipotezine göre, bir popülasyonda antibiyotik kullanım yoğunluğu dirençli mikroorganizma seleksiyonunda en önemli faktördür. Seleksiyon bir popülasyondan diğerine ve bireyden bireye farklılık gösterir. Bu da yoğun antibiyotik tedavi ve profilaksisinin uygulandığı yoğun bakım ünitelerinde direncin neden daha yaygın, organizmaların çoğunlukla antibiyotik dirençli ve popülasyon içinde yayılımının neden daha fazla olduğunu açıklar(110).

Antibiyotik kullanımındaki değişiklikler de direnci etkileyebilir. Yoğun bakım ünitelerinde sistemik ve gastroentestinal sistem profilaksisi gibi antibiyotik politikaları ve ampirik antibiyotik kullanımı hastanelerdeki organizmalarda antimikrobiyal direnç gelişiminde ilave risk faktörüdür(110).

Tüm bu risk faktörlerinin her bir üniteye nozokomiyal infeksiyon epidemileri üzerine etkisi, ünitelerin kendi özelliklerine ve hastane infeksiyon kontrol programlarını ne derece etkili uyguladıklarına bağlı olarak değişmektedir.

2.3.4.Yenidoğan Yoğun Bakım Ünitesinde Nozokomiyal İnfeksiyonu Önleme Kuralları

Hastanelerdeki infeksiyonların kontrolü için gerekli önlem ve prosedürler hastane infeksiyon kontrol komitelerince American Academy of Pediatrics (AAP) ve CDC' nin yenidoğan bebeklerin bakımı için önerilerine dayandırılmalıdır. Bu

program epidemiyoloji alanında uzmanlaşmış bir infeksiyon kontrol uygulayıcısı tarafından geliştirilmeli ve uygulanmalıdır. Her hastanede infeksiyon önlenmesi için bir sistem kurulmalı ve bunun için de hastane infeksiyon kontrol komiteleri oluşturulmalıdır (3).

Nozokomiyal infeksiyonların önlenmesi için epidemiyolojik çalışmalara dayanılarak pek çok rutin bakım programları geliştirilmiştir. Bu programlar ünitelerin kendi özellikleri göz önüne alınarak ve etkinlikleri sürekli gözden geçirilerek uygulanmalıdır.

2.3.4.1.Göz Bakımı: *N.gonorrhoeae'* nin neden olduğu gonokoksik konjunktivitten korunmak için tek dozluk tüplerde hazırlanmış %1'lik gümüş nitrat, %0.5'lik eritromisin ya da %1'lik tetrasiklin kullanımı önerilmektedir. Son yapılan çalışmalarda %2.5' luk povidon iyodür kullanımının da etkili olduğu gösterilmiştir. Bunlar içinde gümüş nitrat en fazla kimyasal konjunktivite neden olan ajan olmasına karşın penisilinaz üreten *N. gonorrhoeae'* ya karşı en etkili olanıdır (112). *Chylamydia trochomatis* (*C. trochomatis*) ' in neden olduğu neonatal konjunktiviti önlemede bu ajanların hiç birinin etkinliği gösterilememiştir (112).

2.3.4.2.Cilt ve Göbek Bakımı: Doğum sonrası yenidoğan infeksiyonunu önlemede en önemli yaklaşım, yenidoğanın normal patojenik olmayan bakterilerle kolonizasyonunu sağlamaktır. Cilt ve göbek bakımında pek çok yaklaşım kabul görmekle beraber en uygun olanı konusunda kesin bir görüş birliği yoktur. AAP yenidoğan vücut ısısı stabilize olana kadar ilk gözlem ve stabilizasyondan sonra yenidoğanın vücutundaki kan ve mekonyumun kaynamış ılık bir su ve yumuşak steril bir petle sadece silinmesini, banyo yaptırılmasının geciktirilmesini önermektedir. Bebeğin hastanede kaldığı süre içinde temizlik için sadece su veya yumuşak bir sabun kullanılmalı, ayrıca cilt ve göbeğin kuru kalması sağlanmalıdır. Böylece bebeğin ısı kaybı, deri travmaları ve kullanılan topikal ajanların olası yan etkilerinden kaçınılmış olunur (113).

Göbekte bakteriyal kolonizasyon ve hastalığı önlemeye yönelik bakımı için temel prensip güdüğün ucunu kuru tutmaktır (113). Farklı topikal ajanlar bu amaçla kullanılmaktadır. Triple dye (2.29 gr brilant yeşili, 1.14 gr profilavin hemisülfat ve 2.29 gr kristal viyole / lt), basitrasin veya gümüş sülfodiazin kremi bunlardandır. Her üç ajanda özellikle *S.aureus* kolonizasyonunu geciktirir ve

azaltır. İzopropil alkol kuruma ve erken düşmeyi sağlamasına rağmen etkin antibakteriyal özelliği yoktur. İyodlu solusyonlar ciltten emilip tiroid fonksiyonlarını baskılayacağı için kullanımı önerilmemektedir (113,114).

Derideki bakteriyel kolonizasyonu azaltmak için Heksaklorofen banyosu denenmiş, ancak ciltten emilerek nörotoksik etki yaptığı gösterildiği için günümüzde kullanılmamaktadır (115). Aynı amaçla klorheksidin toksik olmadığı ve ciltten emilmediği için Avrupa' da halen kullanılmakta ancak A.B.D.'de yaygın olarak uygulanmamaktadır. Absorbsiyonu daha olası olduğundan prematüre infantlar için ve yoğun bakım koşullarında rutin topikal antibakteriyal ajan kullanılması önerilmemekte bunun yerine el yıkama diğer koruyucu yöntemlerin daha sıkı şekilde uygulanması tercih edilmektedir (114).

2.3.4.3.Yoğun Bakım Personeli: Nozokomiyal enfeksiyon oluşmasında hem fazla hem de yetersiz sayıda personelin risk faktörü olduğu bilinmektedir. AAP düzey I yenidoğan bakım ünitelerinde 6-8 bebeğe bir hemşirenin, düzey II yenidoğan bakım ünitelerinde 3-4 bebeğe bir hemşirenin ve yoğun bakım ünitelerinde (düzey III) ise 1-2 bebeğe bir hemşirenin bakmasını önermektedir. Hemşire sayısı hastaların yeterli ve sürekli gözlenmesini sağlayacak, ayrıca hastalarla temas sonrasında el yıkama için yeterli zaman kalmasına izin verecek şekilde planlanmalıdır (113).

2.3.4.4.Yoğun Bakım Düzeni: Kuvözler ve ekipmanlar arasında kontaminasyon riskini azaltacak yeterli boşluk bırakılmalıdır . Her ünitenin girişinde ayakla veya dirsekle çalışan lavabo olmalı, kapılar otomatik olarak açılıp kapanmalıdır. Tüm zeminler, duvar ve kuvözler düzenli olarak uygun antiseptik solusyonlarla temizlenmelidir (113,3).

2.3.4.5.El Yıkama: NICU' daki yeni doğanlara patojen bakterilerin geçişinin en önemli yolu çalışan personelin elleri olduğu için, el yıkama nozokomiyal enfeksiyonların önlenmesi için esas kuraldır. El yıkama ile geçici flora uzaklaştırılarak, kalıcı florada patojen mikroorganizmaların çoğalması kontrol altına alınır. Ellerin su ve sabunla güçlü bir şekilde 15 sn ovalanarak yıkanması, geçici floranın uzaklaşması için gereklidir. AAP' nin el yıkanması ile ilgili önerileri Tablo VII' de gösterilmiştir (116,117).

Tablo VII : American Academy of Pediatrics (AAP) tarafından yoğun bakım ünitesi personeli için önerilen el yıkama kuralları

1. Giysilerinizin kol ağzını dirsek üzerine kadar sıvayın ve saat, bilezik gibi takılarınızı çıkarın
2. İki dakika süreyle kollarınızı boylu boyunca, tüm parmaklarınızın aralarını sıvı sabun veya temizleyici bir madde ile fırçalayın.
3. Tırnak diplerinizi temizleyin
4. Ellerinizi akan su altında iyice durulayın.
5. Kağıt havlu ile kurulayın
6. İki hasta arasında ellerinizi en az 15 saniye süreyle yıkayın.

Eller yıkanıp kurulandıktan sonra sadece hastaya ve gerekli ekipmana dokunulmalı, saç, deri, kontamine materyal veya giysiye dokunmamalıdır (118).

CDC önerilerinde de ellerin sadece uygun bir sabunla yıkanması yeterli görülürken, bazı ünitelerde ve yüksek infeksiyon riski taşıyan durumlarda antiseptik solusyon ilaveli sabunların kullanılması yararlı olabilir (3). Önceleri heksaklorofenli ve iyod içerikli sabunlar kullanılmışsa da, bunların cilde iritan etkileri olması ve antibakteriyal spektrumlarının daha sınırlı olması nedeniyle, günümüzde klorheksidin kullanılması önerilmektedir (119). Klorheksidinin iritan etkisi diğer antiseptik solusyonlardan daha az ve antibakteriyal spektrumu daha geniştir.

2.3.4.6.Giysi-Önlük Kullanımı: AAP tarafından yoğun bakımlarda rutin olarak önlük giyilmesi önerilmemektedir (113). Bu kural anne ve babalar için de geçerlidir. Koruyucu önlük kullanılmasının bakteriyal geçişi ve ünite de infeksiyon insidansını azaltmadığı gözlenmiştir. CDC, önlük giyilmesini vankomisin dirençli enterokokla kolonize veya infekte hastalarla temas durumlarında önermektedir (118).

Başlık, maske ve uzun kollu steril gömlek giyilmesi kan değişimi, venöz kateterizasyon gibi cerrahi girişimler esnasında önerilmektedir ().

NICU'de infeksiyonun önlenmesi için uyulması gerekli diğer öneriler şunlardır (3):

1. Her bebeğin kendi aspiratör, stetoskop ve termometresi olmalıdır.
2. Kuvözde nemlendirici su özellikle pseudomonas infeksiyonu yönünden risk oluşturacağı için, su konulmasını tercih eden merkezler steril distile su kullanmalı ve her gün mutlaka değiştirmelidirler.
3. Kuvöz temizliği için iyi bir deterjanla silinmesi ve kendi halinde kurumaya bırakılması en uygun yoldur. Sterilizasyon işlemine gerek yoktur.
4. Ventilatör hortumları 24-48 saate bir değiştirilmelidir.
5. Odalar laminar akımla, püskürtme yolu ile filtre edilmiş, ısıtılmış ve nemlendirilmiş hava ile havalandırılmalı, aspiratör kullanılmamalıdır.
6. Doğum kliniklerinde çapraz infeksiyon riskini arttıran bebek odalarının kaldırılması ve yenidoğanın annenin yanında (rooming in) bakılması en uygun bakım şeklidir. Ünitede süt pompası, emzirme odası ve sterilizasyon için otoklav bulundurulmalıdır.
7. Yenidoğan bakımında çok gözlem az manipülasyon prensibine uyulmalıdır.
8. Tanısı kesin konmayan yenidoğan ölümlerinde otopsi yaptırılmalı ve kültür materyali alınmalıdır.
9. Epidemiyolojide tüm çalışan personelden yüzey kültürleri alınarak muhtemel taşıyıcılık ve bulaşma yolları belirlenmelidir.
10. Servis personeline tüberküloz taraması yapılmalıdır.
11. Tüm servis personeli hepatit-B, kızamık, kızamıkçık ve influenza aşısıyla aşılanmalıdır.

2.4.ANTİBİYOTİKLERE DİRENÇLİ GRAM OLUMSUZ BAKTERİLERİN YENİDOĞAN BAKIM ÜNİTESİNDEKİ ÖNEMİ

Son 20 yıl içinde aerobik gram olumsuz bakteriler bir veya birden çok antibiyotiğe direnç kazanmışlar ve bu bakteriler özellikle düzey III yoğun bakım hizmeti veren yenidoğan ünitelerindeki nozokomiyal infeksiyon epidemilerinden sorumlu hale gelmişlerdir (6). Bu epidemilerde sıklıkla izole edilen ajan *K.pneumoniae*' dir (9,120,121,122). Bununla birlikte diğer gram olumsuz enterik bakteriler (*Enterobacter spp.*, *Klebsiella spp.*, *Citrobacter spp.*, *Serratia spp.*) ve nonenterik bakterilerle (*P. aeruginosa* ve *Acinetobacter*) oluşan epidemiler de sıklıkla bildirilmektedir (98,123). Bu bakterilerde direnç gelişimi hem indüksiyon sonucu oluşan kromozomal mutasyonlarla hem de transformasyon, transdüksiyon ve konjugasyon yolu ile direnç genlerinin kazanılmasıyla olmaktadır (37). Direnç oluşumundaki en önemli mekanizma, enzimatik yolla antibiyotiklerin hidrolizi ve özellikle plazmid aracılıklı beta laktamazlarla beta laktam antibiyotiklerin inaktive edilmesidir. Gram olumsuz bakterilerde beta laktam antibiyotik direnci en önemli klinik sorunlardan biridir ve her geçen gün yeni bir beta laktamaz enzim oluşumu tanımlanmaktadır (Tablo VIII) (7,124). Bu bakteriler beta laktamazlar aracılığı ile sefamisinler dışındaki tüm genişlemiş spektrumlu sefalosporinlere direnç kazanmaktadırlar. Ayrıca plazmid üzerinde kodlanan bu direnç genlerini kolayca başka bir mikroorganizmaya aktararak direncin hızla yayılmasına neden olmaktadır (7,37,124).

ESBL üreten gram olumsuz bakteriler önce Avrupa' da ortaya çıkmış ve sonra tüm dünyada yaygın olarak gözlenmiştir. Gram olumsuz bakteriler arasında ESBL üretim sıklığı ülkeden ülkeye ve ülke içinde hastaneler arasında, özellikle antibiyotik kullanım politikalarından dolayı farklılık göstermektedir. ESBL üreten *Enterobacteriaceae* ile ortaya çıkan nozokomiyal infeksiyon salgınlarına yönelik çalışmalar, bu türlerin genişlemiş spektrumlu sefalosporin kullanımının yarattığı seçici baskı sonucu ortaya çıktığını düşündürmektedir (7,74,75,76,125). Fransa' da 12 üniversite hastanesini içeren bir süveyans çalışmasında *Enterobacter spp.* ' nin %28, *Klebsiella spp.* ' nin %7.2, *Citrobacter spp.* ' in %19.1 ve *Serratia spp.* ' nin %38.1 oranında sefotaksim ve diğer beta laktam antibiyotiklere dirençli oldukları

bildirilmiştir (6).CDC' nin A.B.D hastaneleri arasında yaptığı bir s rveyans araştırmasında seftazidim dirençli Klebsiella ve Enterobakter izolatlarının özellikle yoğun bakım ünitelerinde 1987 ile 1991 yılları arasında lineer bir artış gösterdiği saptanmıştır (126).

Tablo VIII: Antibakteriyal ajanlara dirençleri nedeniyle sağıltımda sorun oluşturan mikroorganizmalar

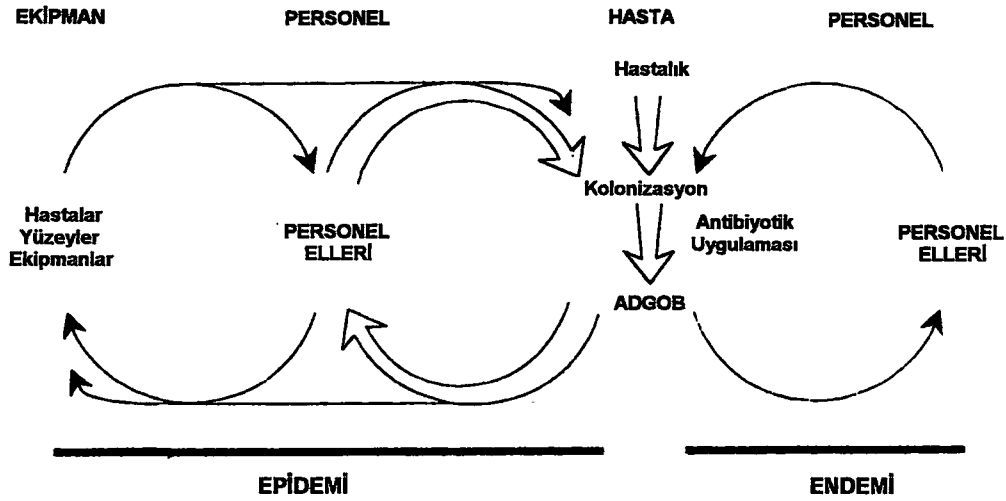
Mikroorganizma	Sorun
Gram (+) kok	– Metisiline dirençli <i>S.aureus</i> ve koagülaz (-) stafilokoklar – Penisiline dirençli pnömokoklar – Makrolidlere dirençli streptokoklar – Vankomisine dirençli enterokoklar – Vankomisine dirençli <i>S.aureus</i>
Gram (-) kok	– Penisiline dirençli meningokoklar – Kinolon dirençli gonokoklar
Gram (-) basiller	– Kromozomal beta laktamazı olan enterobacter ve diğer <i>enterobacteriaceae</i> �yeleri – Multipl antibiyotiklere dirençli <i>P.aeruginosa</i>, <i>S.maltophilia</i> – Yeni beta laktamazları, aminoglikozid değiştiren enzimleri ve diğer direnç mekanizmaları bulunan <i>acinetobacter spp.</i> – ESBL üreten enterobacteriaceae (�zellikle <i>E.coli</i> ve <i>K.pneumoniae</i>) – Diyare etkeni olan dirençli patojenler (<i>Shigella spp</i>, <i>Salmonella spp.</i> <i>E.coli</i>, <i>Campylobacter spp</i>)
Aside dirençli boyanan basiller	– oğul antibiyotik dirençli <i>M.tuberculosis</i> ve <i>M.avium</i> grubu

Epidemiler esnasında diğer nozokomiyal infeksiyon oluşmasındaki risk faktörlerine benzer risk faktörleri taşıyan infantlar daha büyük oranda kolonize ve infekte olmaktadır. Bu risk faktörlerinin başında düşük doğum ağırlığı, santral venöz kateter uygulaması, parenteral beslenme ve mekanik ventilasyon gelmektedir(6,99). ESBL üreten gram olumsuz bakteriler ile kolonize veya infekte olan infantların çoğunluğu genellikle önceden antibiyotik tedavisi almış bebeklerdir. Yoğun bakımda yatan infantların bazı ünitelerde %90' a varan oranlarda antibiyotik kullandıkları bildirilmektedir(127,128). Yine bazı yayınlarda

epidemiler esnasında yüksek oranda antibiyotik dirençli gram olumsuz bakteri ile kolonizasyon saptanan infantların hiç antibiyotik almadıkları halde ünite personeli aracılığı ile kolonize bebeklerden bu bakterileri kazandıkları gösterilmiştir (121). Pek çok ünite ilk basamak antibiyotik tedavisinde aminoglikozid ve penisilin kullanmakta ve bu ünitelerde bildirilen epidemilerin çoğunluğu da kanamisin, gentamisin ve ampisilin dirençli mikroorganizmalarla oluşmaktadır (122,129). 1980' lerden sonra bazı ünitelerde geniş spektrumlu sefalosporinlerin ve amikasinin kullanılmasından sonra bu antibiyotiklere dirençli gram olumsuz bakteriler ile epidemiler bildirilmiştir (98,99,120,123,130).

Pek çok çalışma göstermiştir ki gram olumsuz bakterilerin en önemli kaynağı hastaların kendi floralarıdır (131,132,133,134,135). Erişkin yoğun bakım hastaları arasında yapılan bir çalışmada, üniteye girdikten sonraki ilk 24 saat içinde gram olumsuz bakterilerle nazofarengeyal kolonizasyon oranı % 22 ile % 30 arasında bulunmuştur (35). Goldman ve arkadaşlarının yoğun bakıma alınan yenidoğanlarda yaptıkları bir çalışmada ise farengeyal ve intestinal kolonizasyonun anaerob bakterilerden daha çok *Klebsiella*, *Enterobacter* ve *Citrobacter* ile olduğu ve bu anormal kolonizasyonun yoğun bakımda 10 gün kalındığında %40, 1 ay kalındığında ise %90' lara ulaştığı gösterilmiştir (136,137). Gram olumsuz basil kolonizasyonundaki en önemli predispozan faktör antibiyotik kullanımıdır (134,135,137). Antibiyotik kullanımı normal florayı ortadan kaldırarak, patojen ve dirençli mikroorganizma kolonizasyonunu arttırmaktadır. Kolonizasyondaki diğer önemli bir faktör hastalığın şiddetidir. Johanson ve arkadaşları yaptıkları çalışmada gram olumsuz bakteri kolonizasyonunu orta derecede hasta olan bireylerde %16, ağır hastalığı olan bireylerde ise %57 olarak bulmuşlardır (135). Hastalığın şiddeti ile ilgili olarak endotrakeyal entübasyon, üriner kateterizasyon, inhalasyon tedavisi kolonizasyon oluşmasındaki diğer risk faktörleridir (134,135).

Yoğun bakım ünitesindeki yenidoğanlarda kolonizasyon oluşuktan sonra bu dirençli mikroorganizma ünitenin çalışan personeli ile diğer hastalara yayılabilir. Bu kısır döngü kırılmadığı sürece tekrarlayan kolonizasyon atakları ve yeni hastalarda kolonizasyon oluşacaktır (Şekil 3) (6).



ADGOB: Antibiyotik dirençli gram olumsuz bakteri

Şekil 3: Antibiyotik dirençli gram olumsuz bakterilerin kolonizasyon ve yayılma modeli

ESBL oluşturan *Enterobacteriaceae* salgınları sırasında kolonize olan infantlar çoğunlukla asemptomatik kalırken, bazılarında ise pnömoni, bakteriyemi ve menejit gibi ciddi klinik tablolar oluşmaktadır. Dirençli gram olumsuz bakterilerle enfeksiyon gelişen bu yenidoğanlarda tedavi önemli bir klinik problemdir. ESBL üreten suşlar duyarlılık testlerinde oksimin beta laktamlara duyarlı olsalar bile, bu antibiyotiklerin yüksek MIC değerine ulaştıkları idrar yolu enfeksiyonu dışındaki enfeksiyonlarda kullanılmaması önerilmektedir. Sefamisinler ESBL üreten bakterilere karşı bir tedavi seçeneği oluşturmaktadırlar. Ancak son yıllarda bazı *K. pneumoniae* suşlarında dış membran porin protein kaybına bağlı bu antibiyotiklere karşı da direnç geliştiği bildirilmektedir. Bir diğer tedavi seçeneği de beta laktam / beta laktamaz inhibitör kombinasyonlarının kullanılmasıdır. Ancak bu bakterilerde ESBL üretimi ile birlikte sıklıkla grup 1 beta laktamaz enzim üretiminin birarada bulunması, ayrıca porin kaybı sonucu bu antibiyotiklerin periplazmik aralıkta yeterli düzeye ulaşamaması sonucu etkileri yetersiz kalabilmektedir. ESBL üretimini kodlayan plazmidler üzerinde aminoglikozid, kloramfenikol, sulfonamid, trimetoprim ve tetrasiklin direnç genlerinin de bulunması diğer tedavi seçeneklerini sınırlandırmaktadır. ESBL üreten türlere karşı en etkili antibiyotik grupları karbapenemler ve florakinolonlardır (6). Tedavideki bu önemli sorunlar nedeniyle ESBL üreten

suşlar ile oluşan infeksiyonlarda mortalite oranının %14-100 arasında değiştiği bildirilmektedir (98,122,130). Bu nedenle yoğun bakım ünitesinde antibiyotiğe dirençli gram olumsuz bakteri salgınları esnasında infeksiyon kontrol önlemleri yanında aşağıdaki önlemler de alınmalıdır (6):

1. Ünite epidemi kontrol altına alınıncaya kadar kapatılmalı ve yeni hasta kabul edilmemelidir.
2. El yıkama uygulaması kesinlikle sağlanmalıdır.
3. İnfekte ve kolonize olan hastalar duyarlı olanlardan ayrılmalıdır. Hastaların durumun belirlemek için yüzeysel kültürler alınmalıdır.
4. Direnç gelişimine neden olacak antibiyotiklerin kullanımı kısıtlanmalıdır.

2.5.YENİDOĞAN DÖNEMİNDE İNTESTİNAL FLORANIN GELİŞİMİ VE BUNU ETKİLEYEN FAKTÖRLER

İntestinal floranın oluşmasını etkileyen pek çok faktör vardır. Yenidoğanlar doğumu takip eden birkaç gün içinde annedeki ve çevredeki floranın etkisi ile kendi normal floralarını kazanırlar . Doğum sırasında fetal membranlar yırtılıncaya kadar steril olan infant, doğum sonrasında annenin doğum kanalı ve perianal bölgesinde yüksek oranda bulunan bakteriyel flora ile temas eder. Vaginal doğum sonrası 5-10 dakika içinde yenidoğandan alınan gastrik içerik annenin servikal florasını yansıtır (1). İlk gaitadan sıklıkla *E.coli* ve *Enterococcus spp.* izole edilir ve bunlar çoğu zaman anne florasındakilerle aynı bakterilerdir (2). Bakteroides ve Bifidobakteriumları içeren anaerobik bakteriler ise genellikle ikinci gün gaitada tespit edilirler (138).

Erişkin bağırsaklarında oksidasyon-redüksiyon potansiyeli (-)300 mV' dur ve bu da oksijene oldukça hassas bakteri kolonizasyonuna yol açar. Yenidoğanda ise oksidasyon-redüksiyon potansiyeli 0-(+)200 mV' dur ve bu mikroflorayı daha az çeşitli kılıp, erişkine göre oksijene daha dirençli bakterilerle kolonizasyona olanak sağlar (139). Yenidoğan döneminden itibaren bağırsaklarda anaerobik mikroorganizma kolonizasyonu giderek artmaktadır (Tablo IX)(139).

İntestinal floradaki bakteri hücre metabolizmasının, insan fizyolojisi üzerinde önemli etkilere sahip olduğu bilinmektedir. Bunlar arasında; bilirubin

ürobilinojene dönüşümü, kolesterolün koprostenole dönüşümü, sekonder safra asitlerinin oluşumu, safra asitleri ve steroid hormonların enterohepatik sirkülasyonu, çeşitli vitaminlerin (K vitamini gibi) oluşturulması ve immün sistemin uyarılması sayılabilir (140). İntestinal flora bir yaşına doğru erişkin özelliğini kazandığında mikroorganizmaların %99' u anaerobiktir ve kolonda bu oran daha da yükselir (139).

Yenidoğan döneminde bağırsak florası dört farklı dönemde gelişmektedir (139).

1.Dönem: İlk kolonizasyonun kazanılması

2.Dönem: Anne sütü veya formula ile beslenme döneminde oluşan kolonizasyon.

3.Dönem: Ek gıdalara başlanıldığında oluşan kolonizasyon

4.Dönem: Anne sütünün kesilip, erişkin diyet alınımına başlanıldığında oluşan kolonizasyon

Vaginal yoldan doğan bebeklerin intestinal florası doğum kanalı ve perianal bölge florası ile aynıdır. Çoğunlukla *E.coli* ve *Enterococci*' lerden oluşur. Bunu takiben kısa sürede anaerobik bakteri kolonizasyonu meydana gelir. Sezeryanla doğumlarda ise, kolonizasyon anneden kazanılan floradan çok hastane ortamından alınan mikroorganizmalarla oluşmaktadır. Anaerobik bakteri kolonizasyonunun oluşması gecikmekte ve normal düzeye ulaşması bazen 4-8 hafta kadar sürebilmektedir (139,141). Ayrıca sezeryan doğumlarda oluşan gram olumsuz bakteri kolonizasyonu daha çok *Klebsiella*, *Enterobacter* ve *Citrobacter* (KEC) gibi patojenitesi yüksek bakterilerle oluşmaktadır (139,142).Doğum sonrasında annenin yanına verilmeyip, yenidoğan ünitesine alınan infantlarda geçici olarak yoğun miktarda Enterobacteriaceae kolonizasyonu oluşmakta ve bunlarda anaerobik bakteri kolonizasyonunun oluşması gecikmektedir (139).

Term ve preterm infantlarda aerobik ve anaerobik flora temelde aynıdır. Farklılıklar preterm bebeklerin antibiyotik kullanımı, sezeryan oranının daha yüksek olması, farklı medikal yaklaşımlar ve invaziv girişimler ile beslenme faktörlerinden kaynaklanır (143). Preterm bebeklerin ilk haftalarında çok az miktarda anne sütü almaları anaerobik bakteri kolonizasyonunda gecikmeye neden olmaktadır (144).

Tablo IX: Yenidoğanda vücut bölgelerine göre kolonize olan mikroorganizmaların dağılımı

BÖLGE	MİKROORGANİZMA
Gastrointestinal sistem	Aerobik Bakteriler <i>E. coli</i> <i>Klebsiella</i> <i>Pseudomonas</i> <i>Proteus</i> <i>Citrobakter</i> Grup D streptokok <i>Salmonella</i> <i>Kandida</i> Anaerobik bakteriler <i>Bifidobakteriyum</i> <i>Bakteriodes</i> <i>Laktobasillus</i> <i>Klostridium</i> ve diğer anaerob bakteriler
Deri	<i>S. aureus</i> <i>S. epidermidis</i> Grup A ve B streptokok
Solunum sistemi	Grup A ve B streptokok <i>S. pneumoniae</i> Alfa hemolitik streptokok <i>H. influenzae</i>

Çeşitli antibiyotiklerle tedavi edilen infantların %80-90' ında anaerobik bakteri kolonizasyonu belirlenemeyecek kadar azalmakta, geriye kalan infantların yarısında ise tespit edilen tek anaerobik bakteri *C. difficile* veya *C. perfringens*' tir (145). Aynı zamanda antibiyotik tedavisi ile, duyarlı olan *E.coli* gibi gram olumsuz bakteriler kaybolmakta, *Klebsiella*, *Enterobacter*, *Citrobacter*, *Proteus* ve *Pseudomonas* gibi dirençli gram olumsuz bakteri kolonizasyonu artmaktadır (142,146). Antibiyotik tedavisi kesildikten 2-3 hafta sonra aerobik intestinal flora normale dönmekte, ancak anaerobik floranın normale dönmesi bir aya kadar uzayabilmektedir (139).

Antibiyotik tedavisinin yenidoğan florası üzerindeki etkisi toplumdan topluma ve toplumlardaki antibiyotik direnç oranlarına göre değişmektedir. Toplumda antibiyotik dirençli mikroorganizma kolonizasyonu yaygın ise etki daha az belirgin olmaktadır. Yenidoğanların doğum sonrasında yenidoğan bakım veya

yoğun bakım ünitelerine alınması burada kısa süre kalsalar bile intestinal kolonizasyon paternini değiştirmektedir. Yoğun bakım ünitesine yatan hastalarda kolonizasyon gecikmekte ve sıklıkla antibiyotik dirençli gram olumsuz bakterilerle kolonizasyon oluşmaktadır (139). Yapılan bir çalışmada yoğun bakıma alınan yenidoğanların 1/3'ünde üçüncü günün sonunda bile hiçbir yüzey alanında kolonizasyon saptanmamış ve sonrasında burun, boğaz, göbek kordonu ve gaitada gram olumsuz bakteri kolonizasyonu tespit edilmiştir. Gecikmiş kolonizasyondan ünitelerde yüksek oranda antibiyotik kullanımı ve anneden ayrılma sorumlu tutulmuştur (147). Yenidoğan ünitesinde yatan bebekler antibiyotik kullanılsa bile nozokomiyal patojenlerle kolonize olabilmekte ve bunda en önemli faktör ünite çalışan personelin elleri ile mikroorganizmaları taşımalarıdır. Nozokomiyal patojenlerle kolonize olan bu infantlar infeksiyon açısından büyük risk altındadırlar. Gram olumsuz bakterilerle oluşan hastane infeksiyonlarında bu mikroorganizmalarla intestinal kolonizasyon %90 gibi yüksek bir oranda bulunmuştur (3,4). Yoğun bakım ünitesinde kalış süresi ile aerobik gram olumsuz mikroorganizma kolonizasyonu arasında pozitif bir korelasyon vardır. Yenidoğanlar üniteye kabul edildiklerinde sadece %2' si KEC ile kolonize iken 15' inci günde %60' ı ve 30. uncu günde ise %91' i KEC ile kolonize olmaktadır (132).

Bakteriyal kolonizasyonu etkileyen önemli bir faktör de bakteriyal interferanstır. Göbek kordonuna patojen olmayan *S.aureus* faj tip 502 A implante edilmesi virülan *S.aureus* kolonizasyonunu; boğazda alfa streptokok kolonizasyonu ise daha patojen mikroorganizmalarla kolonizasyonu engellemektedir (148,149). Bu gözlemlere dayanılarak yapılan bir çalışmada beş günlük antibiyotik tedavisi sonrası oral bifidobakteriyum ve laktobasillus verildiğinde çoğu yenidoğanda normal anaerobik bakteriyal kolonizasyonunun daha erken oluştuğu gözlenmiştir (150).

Yenidoğanda intestinal kolonizasyonun ikinci döneminde, anne sütü veya formula ile beslenmeye bağlı olarak fekal flora içeriği değişiklikler göstermektedir.

2.5.1. Anne Sütünün İntestinal Kolonizasyon Üzerine Etkisi

Anne sütü bebek için sadece ideal bir besleyici değil, aynı zamanda süt çocuğunun kendi immun sistemi gelişinceye kadar onu infeksiyonlara karşı

koruma özelliği gösteren bir besindir (151). Anne sütünde bu özellikleri sağlayan faktörler üç kategoride toplanabilir.

1. Antimikrobiyal etki gösteren faktörler
2. Antiinflamatuvar etki gösteren faktörler
3. İmmun sistemi düzenleyen faktörler

Anne geçirdiği infeksiyonlara karşı oluşturduğu antikorları sütündeki salgısal IgA (SIgA) ile bebeğe geçirir. Annedeki mukozal antijenik uyarı, payer plaklarındaki mononükleer hücrelerden sitokinlerin salgılanmasını, sitokinlerde lokal IgM B lenfositlerinin IgA B hücrelerine dönüşümünü sağlar. Meme bezlerinin lamina propriyasına taşınan bu hücreler IgA salgılayan plazma hücrelerine dönüşür. Enteromammarik bu bağlantılarla anne ve bebeğin çevresinde bulunan patojenlere karşı SIgA oluşturulur (151). Benzer bir yol akciğer bronşial lenfoid dokusu ile meme bezlerinin lamina propriyası arasında değişime uğramış B hücrelerinin taşınmasını sağlayan bronkomammarik yollarda vardır. Oluşturulan SIgA, infeksiyonların başlaması ve kolonizasyonu için gerekli olan bakteri ve virüslerin mukozaya yapışmasını önlerler (Tablo X)(152).

Tablo X: SIgA'nın Etkili Olduğu Mikrobiyal Patojenler

Bakteri, Toksin	Virus	Diğer
<i>E. coli</i>	Rotavirus	Giardia
<i>Shigella</i>	RSV	<i>C. albicans</i>
<i>Salmonella</i>	Poliovirus	
<i>Campylobacter</i>	Diğer entero viruslar	
<i>Vibrio cholerae</i>	İnfluenza virus	
<i>H. influenzae</i>	Cytomegalovirus	
<i>S. pneumoniae</i>	HIV	
<i>C. difficile</i>		
<i>C. botulinum</i>		
<i>K. pneumoniae</i>		

Anne sütünde T ve B hücreleri, lenfositler, makrofajlar, doğal öldürücü hücreler, memory T hücreleri gibi çok sayıda hücresel savunma elemanı da

bulunmaktadır. Anne sütünde bulunan direkt etkili antimikrobiyal faktörler ve fonksiyonları Tablo XI' de gösterilmiştir (152).

Tablo XI: Anne Sütünde Antimikrobiyal Faktörler ve Fonksiyonları

FAKTÖR	FONKSİYONU
Proteinler	
Laktoferrin	Fe ³⁺ şelasyonu
Lizozim	Peptidoglikan yıkımı
Fibronektin	Opsoninler
Slg A	Antijen bağlanması
Musin	Anti-rotavirüs, reseptör analogu
C3	Opsonin
Oligosakkaritler	Reseptör analogu
Lipidler	Virüsleri parçalama

Anne sütünde hücre koruyucu ajanlar, epitelyal büyüme faktörleri, askorbik asit, alfa-tokoferol, beta-karoten gibi antioksidanlar; lökosit fonksiyonlarını düzenleyen modülatörler; mediatörleri parçalayan enzimler gibi antienflamatuvar etki gösteren faktörler vardır (152).

Epitelyal büyüme faktörleri, gastrointestinal sistem infeksiyonları sonrasında mukozal yüzeyi hızla tamir ederler ve bu mekanizma anne sütü ile beslenen infantların formula ile beslenen infantlara göre gastrointestinal sistem infeksiyonu sonrası ölüm oranının neden daha düşük olduğunu açıklayabilir (151).

Anne sütünde bulunan sitokinler, alfa-tokoferol, beta-kaso-morfinler ve prolaktin gibi immünomodülatör faktörler, bebeği infeksiyonlara karşı koruduğu gibi, Crohn hastalığı, tip II diyabetes mellitus ve lenfoma oluşumunu da baskırlar. Ayrıca sitokinler T hücre aktivasyonu ve IgA yapımını hızlandırır (151).

Anne sütü ile beslenen bebeklerin fekal floralarında baskın olarak gram olumlu anaerobik basillerden *Bifidobakteriyum* bulunur (153,154). Formula ile beslenen bebeklerde ise daha büyük oranda potansiyel patojen olan *E.coli* ve gram olumsuz anaerobik basiller (çoğunlukla *Bakteroidesler*) bulunur (153-155).

İnfant fekal florasında Bifidobakteriyum türlerinin kolonize olması pek çok dışsal ve içsel faktörlere bağlıdır. İntestinal flora nutrisyonel ve çevresel faktörlerin birbirini dengelemesi sonucu oluşur. Bağırsakların intestinal kolonizasyon paterni pek çok faktörden etkilenir ve oldukça karışıktır. Bazı yayınlarda anne sütüyle beslenen infanlarda bile bifidus flora baskınlığının gösterilememiş olması bu görüşü desteklemektedir (156-158).

Beslenme tipi yenidoğan bağırsaklarının erken kolonizasyonunda tek faktör olmasa bile, anne sütü ile beslenme ile bifidus flora gelişmesi arasında güçlü bir ilişki vardır (159). İlk kez bu yüzyılın başlarında Tissier ve Moro tarafından anne sütü alan bebeklerde formula ile beslenenlere göre Bifidobakteriyumların dominant bakteri olduğu gösterilmiş ve takip eden bir çok çalışma ile desteklenmiştir (160). Anne sütü alan bebeklerde bifidus floranın baskın olmasını sağlayan bir büyüme faktörünün rolü olabileceği ileri sürülmüştür. Bu amaçla anne sütünde whey / kazein protein oranının, laktoferrinin, demir + laktoferrinin ve nükleotidlerin rolü araştırılmıştır. Bunlardan sadece formulalara sığır laktoferrini ilavesi ile geç dönemde Bifidobakteri kolonizasyonunun anne sütü ile beslenmeye benzer şekilde olduğu gözlemlenmiştir (161-163). Günümüzde ise N-acetylglucosamine içeren oligosakkaridlerin bifidus faktörü olarak rol oynadıkları bilinmektedir (160).

Bifidus floranın yararlı etkileri, pek çok patojenik mikroorganizmanın kolonizasyonu için uygun olmayan asidik bir çevre yaratmasıdır. Anne sütü alan infantların gaita pH'sı 5-5.5 ve oksidasyon-redüksiyon potansiyeli +100 mV iken formula ile beslenen infanların gaita pH'sı 6-7 ve oksidasyon-redüksiyon potansiyeli -50 mV civarındadır. Anne sütü alan infantların gaitasında asetik asit ve laktik asit dominant iken, formula ile beslenen infantlarda bunların yerine propionik asit baskın olarak bulunur (139). Anne sütünün, yüksek fosfat içerikli infant formula ve inek sütüne göre düşük tamponlama kapasitesi ve bifidobakteriyumların oluşturduğu asidik ortam patojen mikroorganizmaların kolonizasyonunu önleyen bir faktördür. Ayrıca bifidobakteriyumların, konakçının doğal direnç mekanizmalarını arttırdığı da bilinmektedir (164).

Gastrointestinal sistemde patojen mikroorganizmaların kolonizasyonu ve infeksiyon oluşturmaları için mukozal yüzeylere yapışmaları gereklidir (165).

Bakteriyal adezyon çoğunlukla bakteri yüzeyindeki fimbriyalar ile mukozal yüzeydeki reseptör arasında oluşan ligand-reseptör etkileşimi sonucu olmaktadır. Anne sütünde bulunan çok sayıda serbest oligosakkaridler reseptör analogu olarak görev yaparak bakterinin ve toksinlerinin gastrointestinal sistem mukoza yüzeylerine bağlanmalarını ve kolonizasyonunu önleyerek infeksiyon riskini azaltırlar. Anne sütünde total oligosakkarid miktarı 3-6 gr /lt iken, inek sütünde eser miktarda bulunmaktadır (160).

İntestinal flora gelişiminin üçüncü evresinde anne sütüne ilaveten ek gıdaların verilmesi ile fekal flora daha da çeşitlenmekte, klostridiya ve anaerobik koklar görülmeye başlanmaktadır. Gaita' da butirik ve propionik asit oranı artmakta, gaita pH'sı 6-7 ve oksidasyon-redüksiyon potansiyeli -100 mV olmaktadır (139).

Dördüncü evrede kademeli olarak erişkin florası oluşmakta ve bu yaklaşık bir yaşında tamamlanmaktadır. Anaerobik kok ve basillerin oranı belirgin olarak artmakta, kısa zincirli yağ asitleri arasında butirik, izobutirik, izovalerik ve propinoik asit artmakta, oksidasyon-redüksiyon potansiyeli yaklaşık -300 mV olmaktadır (139).

Sonuç olarak; doğuma kadar endojen floraya sahip olmayan yenidoğan, doğum kanalından geçerken ve doğum sonrasında mikroorganizmalarla karşılaşarak kendi florasını oluşturur. Yenidoğanların çoğunda temasta bulunduğu bu bakteriler kolonizasyona neden olurlar ve yenidoğan infeksiyonlarının en büyük kaynağı genellikle infantın kendi florasındaki bu mikroorganizmalardır (1,2). Gram olumsuz bakterilerle oluşan hastane infeksiyonlarında bu mikroorganizmalarla intestinal kolonizasyon %90 gibi yüksek bir oranda bulunmuştur (3,4). Son 20 yıl içinde bu bakteriler bir veya birden çok antibiyotiğe direnç kazanmışlar ve özellikle düzey III yoğun bakım hizmeti veren yenidoğan ünitelerindeki nozokomiyal infeksiyon epidemilerinden sorumlu hale gelmişlerdir (4-6). Gram olumsuz bakterilerde beta laktamaz enzimlerine bağlı beta laktam antibiyotik direnci önemli bir klinik sorun oluşturmaktadır. Son yıllarda, plazmidlerce kodlanan ve oksimin beta laktamlar ile monobaktamlara karşı dirençte sorumlu olan ESBL enzim üretimi bu bakteriler arasında hızla yayılmıştır (9). Dirençli bakterilerle kolonizasyonun saptanması özellikle nozokomiyal

enfeksiyonlara bağlı mortalitenin yüksek olduğu prematüre ve yenidoğanlarda büyük önem taşıtmaktadır. Bu dirençli suşlarla intestinal kolonizasyonun hastaneden ayrıldıktan sonra da devam etmesi, hem bu bakterilerin toplumda hızla yayılmasına hem de bu direnç belirleyicilerinin başka bir patojen bakteriye aktarılmasıyla oluşacak yeni infeksiyonların tedavisinde önemli problemlere yol açacaktır (4,5,9,17,18).

Bu prospektif çalışma yenidoğan ve prematürelerin aerobik normal fekal floralarında beta laktamlara dirençli bakteri kolonizasyonunun ve bu kolonizasyonun oluşmasındaki risk faktörlerinin belirlenmesine yönelik olarak düzenlenmiştir.



3.GEREÇ VE YÖNTEM

3.1.Çalışma Gruplarının Oluşturulması

Dokuz Eylül Üniversitesi Tıp Fakültesinde 1 Haziran 1997 ile 31 Mart 1998 tarihleri arasında yenidoğan ve prematürelerin aerobik komensal fekal floralarında β -laktam antibiyotiklere dirençli bakterilerin kolonizasyonundaki risk faktörlerinin belirlenmesi için üç grup oluşturulmuştur.

Çalışma grubu: Yenidoğan Yoğun Bakım Ünitesine yatan tüm yenidoğan ve prematüre bebekler alınmıştır (Ek 1).

Yenidoğan servis grubu: Yenidoğan servisine indirekt hiperbilirubinemi tanısıyla yatırılan, fototerapi uygulanan ve ailesi çalışmaya katılmayı kabul eden bebekler alınmıştır. Bu olgulardan exchange transfüzyon uygulananlara kültür sonucu çıkıncaya kadar ampirik antibiyotik tedavisi başlanılmıştır (Ek 2).

Kontrol grubu: Kadın Hastalıkları ve Doğum Servisinde doğan olgulardan, ailesi çalışmaya katılmayı kabul eden sağlıklı yenidoğanlar alınmıştır (Ek 3).

Tüm olgular infeksiyon gelişimi açısından takip edilmişlerdir.

3.2.Örnek toplanması: Çalışma grubu ve yenidoğan servis grubundaki olgulardan hastaneye yatışlarını takiben, kontrol grubundaki olgulardan ise hastaneden taburcu olmadan önce elde edilebilen ilk gaita örnekleri alınmıştır. Takiben, kontrol grubundaki olgulardan iki hafta ara ile toplam dört örnek, çalışma ve yenidoğan servis grubundaki olgulardan hastanede yattıkları sürece iki hafta ara ile ve taburcu olduktan iki hafta sonra olmak üzere toplam dört örnek alınması planlanmıştır. Örnekler hastanede yatan olgulardan hemşire veya doktor tarafından alınmıştır. Kontrol grubundaki olgulardan ise ilk örnek doktor tarafından, daha sonraki örnekler ya kontrollerde doktor tarafından ya da aileye bilgi verildikten sonra anne tarafından alınmıştır. Gaita örnekleri steril dışkı kaplarına alınarak hemen veya en geç üç saat içinde buz içinde saklanarak mikrobiyoloji laboratuvarına ulaştırılmıştır.

3.3.Örneklerin işlemlenmesi:

Gaita örnekleri steril yağlı kağıtlar üzerinde 0.2 g tartılıp 10 ml steril serum fizyolojik içinde 10 saniye vortekslenmiştir. Buradan 10 kat sulandırım yapılarak, her bir sulandırımdan 10 μ l alınıp Eozin Methylen Blue agar (EMB)

(Lexine, Oxoid CM 69) ve EMB + 10 µg ampisilin içeren besiyerlerine ekim yapılmıştır.

Plaklar 37 °C'de 24 saat inkübe edildikten sonra koloni sayımı yapılmış ve her iki besiyerinde üreyen bakteriler klasik yöntemlerle identifiye edilmiştir (166). EMB agar + 10 µg ampisilin besiyerinde üreyen bakteriler ampisilin dirençli bakteri olarak kabul edilmiş ve ileri incelemeye alınmışlardır.

3.4.Direnç fenotipinin belirlenmesi:

Direnç fenotipi ampisilin dirençli bakterilerde belirlenmiştir. Antibiyogramlar Müller- Hinton Agarda (Oxoid CM 337) ve Mc Farland 0,5'e uygun bakteri süspansiyonu kullanılarak disk-diffüzyon yöntemi ile yapılmıştır. Disk-diffüzyon yönteminde kullanılan antibiyotikler şunlardır: ampisilin (AMP) (10 µg, oxoid), amoksisilin / klavulanik asit (AMC) (20/10 µg, oxoid), sefuroksim aksetil (CXM) (30µg, oxoid), sefotaksim (CTX) (30µg, oxoid), seftazidim (CAZ) ((30µg, oxoid), aztreonam (ATM) (30µg, oxoid), ampisilin / sulbaktam (SAM) (10/10 µg, oxoid), imipenem (IMP) (10µg, oxoid), meropenem (MEM) (10µg, oxoid).

3.5.Minimum inhibitör konsantrasyon (Minimum inhibitory concentration-MIC) belirlenmesi:

Farklı direnç fenotipi gösteren bu bakteriler için AMP, CTX, CAZ duyarlılıkları NCCLS (National Committee for Clinical Laboratory Standards)) kriterlerine uygun olarak agar dilüsyon yöntemi ile yapılmıştır.

Disk-diffüzyon ve MIC sonuçları NCCLS kriterlerine uygun olarak yorumlanmıştır (Ek 4)(167).

Orta derecede duyarlılar dirençli olarak kabul edilmiştir.

3.6.Genişlemiş spektrumlu beta-laktamaz saptanması:

Direnç fenotipi belirlenen mikroorganizmalardan oksiiimino beta-laktamlar (seftazidim ve sefotaksim) ile monobaktamlara (aztreonam) dirençli olanlarda ESBL yapımı pozitif olarak kabul edilmiştir (167).

Örneklerin işlemlenme basamakları Şekil 4'de özetlenmiştir.



Şekil 4 : Yenidoğarlardan alınan gaita örneklerinin işlemlenme basamakları

3.7.İstatistiksel Değerlendirme: Çoklu grup ortalamalarının karşılaştırılması için non-parametrik istatistik yöntemlerinden Kruskal-Wallis -one-way Anova, ikili grup ortalamalarının karşılaştırılması için Mann-Whitney U testi kullanılmıştır. Grup oranlarının karşılaştırılması Pearson kare testi veya beklenen değerler küçük ise Fisher kesin kare testi ile yapılmıştır. Kolonizasyon risk faktörlerinin belirlenmesinde multivariate lojistik regresyon analizi kullanılmıştır. İstatistiksel anlamlılık için $p < 0.05$ alınmıştır. Tüm istatistiksel analizler SPSS 6.0 istatistik programında yapılmıştır.

4.BULGULAR

Çalışmaya 38' i çalışma grubu, 36'sı yenidoğan servis grubu, 44'ü kontrol grubu olmak üzere toplam 118 yenidoğan alındı. Olguların kültür alınma zamanları Tablo XII' de, klinik özellikleri ise Tablo XIII' de verilmiştir.

Tablo XII : Çalışmaya alınan olguların gaita kültürü alınma zamanları

Kültür	Çalışma grubu	Yenidoğan servis grubu	Kontrol grubu
1.Kültür zamanı (gün)#	3.1 ± 2.2 (1-9)	6.1 ± 2.4 (1-11)	1.5 ± 0.8 (1-4)
2.Kültür zamanı (gün)#	14.3 ± 2.7 (8-20)	17.0 ± 1.6 (14-20)	15.8 ± 1.5 (13-18)
3.Kültür zamanı (gün)#	30.0 ± 2.6 (24-36)	31.6 ± 1.9 (26-35)	30.6 ± 2.4 (26-37)
4.Kültür zamanı (gün)#	45.3 ± 2.4 (42-49)	47.0 ± 2.2 (41-49)	45.3 ± 2.6 (40-49)

Değerler ortalama ± standart sapma (alt-üst sınır) olarak verilmiştir

4.1.Ampisiline Dirençli Bakteri Kolonizasyonu:

Toplam 118 yenidoğandan 367 gaita örneği alındı ve kültürü yapıldı. Antibiyotiksiz besiyerine ekim yapılan örneklerin 298 (%81.2)' sinde üreme saptanmıştır ve bu mikroorganizmaların 172 (%57.7)' inin *Klebsiella spp.* ve 126 (%42.3)' inin *E. coli* olduğu bulunmuştur. Ampisilinli besiyerinde ise örneklerin 276 (%75.2)' sinda üreme saptanmıştır. Bu mikroorganizmaların 163 (%59)' ünün *Klebsiella spp.* ve 113 (%41)' ünün *E. coli* olduğu tesbit edilmiştir. İntestinal florada kolonize olan *E. coli* de ampisilin direnci %89.7, *Klebsiella spp.*' de ise %94.8 olarak bulunmuştur.

Çalışma gruplarına ve kültür alınma zamanına göre ampisiline dirençli komensal fekal flora mikroorganizmalarıyla kolonizasyon oranları Tablo XIV, XV ve XVI'da verilmiştir.

Çalışma grupları arasında en yüksek ampisiline dirençli bakteri kolonizasyonu yenidoğan servis grubunda saptanmıştır ($p=0.004$).

Çalışma ve kontrol grubunda kültür alınma zamanı ile ampisiline dirençli bakteri kolonizasyonunda belirgin artış saptanırken ($p=0.0001$, $p:0.0001$), yenidoğan servis grubunda ilk kültürden itibaren yüksek oranda kolonizasyon

gözlenmiş ve kültürler arasında ampisiline dirençli bakteri kolonizasyonu oranı açısından fark saptanmamıştır ($p=0.223$).

İlk kültürlerde çalışma ve kontrol grubu arasında ampisiline dirençli bakteri kolonizasyonu açısından fark saptanmazken ($p= 0.409$), yenidoğan servis grubunda kolonizasyon oranı diğer iki gruptan daha yüksek bulunmuştur ($p=0.002$, $p=0.0001$).

Tablo XIII : Çalışmaya alınan olguların klinik özellikleri

Klinik Özellikler	Çalışma grubu (n:38)	Yenidoğan servis grubu (n:36)	Kontrol grubu (n:44)
Gestasyonel yaş (hafta)#	33.2 ± 2.7 (27-37)	38.7 ± 0.8 (38-40)	39.1 ± 0.8 (38-41)
Doğum ağırlığı (g)	1742 ± 403 (930-2450)	3174 ± 525 (2100-4300)	3328 ± 398 (2400-4000)
Doğum şekli (NsVd)*	7 (18.4)	17 (47.2)	21 (47.7)
Cinsiyet(Erkek)*	15 (39.5)	20 (55.6)	20 (45.5)
Anne sütü ile beslenme*	30 (78.9)	36 (100)	42 (95.5)
*Anne sütüne başlanma zamanı (gün) #	2.7 ± 2.4 (1-12)	1.0 ± 0.2 (1-2)	1.0 ± 0.0 (1-1)
Antibiyotik kullanımı *	27 (71.1)	10 (27.8)	-
Antibiyotik kullanım süresi (gün) #	9.4 ± 4.1 (3-22)	4.4 ± 0.1 (3-5)	-
İntravenöz girişim*	38 (100)	10 (27.8)	-
İntravenöz girişim süresi (gün) #	11.4 ± 6.0 (2-23)	3.8 ± 1.3 (2-5)	-
Total parenteral beslenme *	17 (44.7)	-	-
Total parenteral beslenme süresi (gün) #	6.8 ± 4.3 (1-14)	-	-
Nasogastrik yolla beslenme *	23 (60.5)	-	-
Nasogastrik beslenme süresi (gün) #	15.4 ± 11.8 (3-36)	-	-
Ventilatör tedavisi*	12 (31.6)	-	-
Ventilatör tedavi süresi (saat)#	59.9 ± 54.7 (23-192)	-	-
Surfaktan tedavisi*	7 (18.4)	-	-
Fototerapi uygulaması*	25 (65.9)	36 (100)	-
Fototerapi süresi (gün)	4.6 ± 3.4 (1-15)	2.7 ± 1.0 (1-5)	-
Maternal antibiyotik kullanımı	10 (26.3)	5 (13.9)	12 (27.3)
Erken membran rüptürü*	10 (23.6)	1 (2.8)	3 (6.8)
Doğum yeri (D.E.Ü.T.F)*	23 (60.5)	13 (33.3)	44 (100)
Hastaneye yatış zamanı (gün) #	1.0 ± 0.3 (1-3)	5.1 ± 2.5 (1-11)	1.0 ± 0.0 (1-1)
Hastanede kalış süresi (gün) #	21.6 ± 16.5 (3-70)	3.8 ± 1.1 (1-10)	3.1 ± 1.1 (1-5)

* Değerler olgu sayısı (% oranı) olarak verilmiştir.

Değerler ortalama ± standart sapma (alt-üst sınır) olarak verilmiştir.

* İlk 24 saat içinde anne sütüne başlama 0. gün olarak değil 1. gün olarak alınmıştır.

* Olguların tamamında ampisilin veya amoksisilin kullanılmıştır.

Tablo XIV: Çalışma grubundaki olguların zamana bağlı komensal fekal floralarında ampisilin dirençli bakteri kolonizasyon oranı ve kolonize olan mikroorganizmaların dağılımı

KÜLTÜR	Örnek sayısı n	Kolonizasyon saptanan örnek		
		<i>E. coli</i> n (%)	<i>Klebsiella spp.</i> n (%)	TOPLAM n (%)
1. kültür	38	6 (15.8)	5 (13.2)	11 (29.0)
2. kültür	38	14 (36.8)	12 (31.6)	26 (68.4)
3. kültür	33	18 (54.5)	14 (42.4)	32 (96.9)
4. kültür	20	10 (50.0)	9 (45.0)	19 (95.0)
Toplam	129	48 (37.2)	40 (31.0)	88 (68.2)

Tablo XV: Yenidoğan servisinde yatan olguların zamana bağlı komensal fekal floralarında ampisilin dirençli bakteri kolonizasyon oranı ve kolonize olan mikroorganizmaların dağılımı

KÜLTÜR	Örnek sayısı n	Kolonizasyon saptanan örnek		
		<i>E. coli</i> n (%)	<i>Klebsiella spp.</i> n (%)	TOPLAM n (%)
1. kültür	36	10 (27.8)	18 (50.0)	28 (77.8)
2. kültür	29	6 (20.7)	20 (69.0)	26 (89.7)
3. kültür	24	8 (33.3)	15 (62.5)	23 (95.8)
4. kültür	15	4 (26.7)	9 (60.0)	13 (86.7)
Toplam	104	28 (26.9)	62 (59.6)	90 (86.5)

Tablo XVI: Kontrol grubundaki olguların zamana bağlı komensal fekal floralarında ampisilin dirençli bakteri kolonizasyon oranı ve kolonize olan mikroorganizmaların dağılımı

KÜLTÜR	Örnek sayısı n	Kolonizasyon saptanan örnek		
		<i>E. coli</i> n (%)	<i>Klebsiella spp.</i> n (%)	TOPLAM n (%)
1. kültür	44	11 (25.0)	8 (18.2)	19 (43.2)
2. kültür	41	12 (29.3)	23 (56.1)	35 (85.4)
3. kültür	33	10 (30.3)	19 (57.6)	29 (87.9)
4. kültür	16	4 (25.0)	11 (68.8)	15 (93.8)
Toplam	134	37 (27.6)	61 (45.5)	98 (73.1)

İkinci kültürlerde yenidoğan servis grubunda ampisiline dirençli bakteri kolonizasyonu oranı çalışma grubuna göre yüksek bulunurken ($p=0.008$), kontrol grubuyla aralarında fark saptanmamış ($p=0.552$), aynı şekilde çalışma grubu ile kontrol grubu arasında da fark bulunmamıştır ($p=0.063$).

4.2.Beta-Laktam Antibiyotiklere Duyarlılık:

Yenidoğanların komensal floralarında izole edilen ampisiline dirençli *E.coli* ve *Klebsiella spp.* izolatlarının sekiz beta-laktam antibiyotiğe dirençlilik fenotipi disk-diffüzyon yöntemi ile çalışılmıştır. Ayrıca ampisilin, seftazidim ve sefotaksim için MIC değerleri tespit edilmiştir.

Ampisiline dirençli mikroorganizmaların beta-laktam antibiyotiklere direnç oranlarının karşılaştırılması:

E. coli için;

E. coli' de en yüksek direnç sefuroksime karşı bulunmuştur (%51.3). Diğer beta-laktam antibiyotiklere direnç oranı; amoksisilin / klavulanik asit %21.4, aztreonam %22.1, sefotaksim %29.2, seftazidim %24.8, ampisilin / sulbaktam %36.3 olarak bulunmuştur. Bir izolat meropeneme dirençli bulunurken, imipeneme dirençli izolat tespit edilmemiştir (Tablo XVII).

Klebsiella spp. için;

Klebsiella spp. izolatları arasında da sefuroksime karşı direnç en yüksek saptanmıştır (% 58.3). Diğer beta-laktam antibiyotiklere direnç oranı amoksisilin / klavulanik asit %19.0, aztreonam %28.2, sefotaksim %25.2, seftazidim %26.4, ampisilin / sulbaktam %23.9 olarak bulunurken, bir izolat imipeneme ve dört izolat meropeneme karşı dirençli saptanmıştır (Tablo XVII).

İki mikroorganizmanın beta-laktam antibiyotiklere direnç oranı karşılaştırıldığında *E. coli*' de amoksisilin / klavulanik asit ve ampisilin / sulbaktam direncinin *Klebsiella spp.*'den daha yüksek olduğu görülmüştür (Tablo XVII).

Mikroorganizmaların izole edildikleri çalışma gruplarına göre beta-laktam antibiyotik direnç oranlarının karşılaştırılması:

E. coli için;

Kontrol grubunda aztreonama ve sefuroksime dirençli *E. coli* kolonizasyonu, diğer iki gruptan anlamlı oranda yüksek bulunurken ($p=0.000$,

p=0.000). çalışma grubu ve yenidoğan servis grubu arasında aztreonama ve sefuroksime dirençli *E. coli* kolonizasyonu açısından fark bulunmamıştır (p=1.00, p=0.071).

Tablo XVII: *E. coli* ve *Klebsiella spp.*'nin beta-laktam antibiyotiklere direnç oranının karşılaştırılması

Beta-laktam Antibiyotikler	<i>E. coli</i> n:113 (%)	<i>Klebsiella spp.</i> n:163 (%)	p
AMC	40 (21.4)	31 (19.0)	0.002
ATM	25 (22.1)	47 (28.2)	0.211
CTX	33 (29.2)	41 (25.2)	0.455
CAZ	28 (24.8)	43 (26.4)	0.764
CXM	58 (51.3)	95 (58.3)	0.253
IMP	-	1 (0.6)	1.000
MEM	1 (0.9)	4 (2.5)	0.651
SAM	41 (36.3)	39 (23.9)	0.026

AMC: amoksisilin / klavulanik asit, CXM: sefuroksim aksetil, CTX: sefotaksim, CAZ: seftazidim, ATM: aztreonam, SAM: ampisilin / sulbaktam, IMP: imipenem, MEM: meropenem

Çalışma ve yenidoğan servis grubundan izole edilen *E. coli* izolatlarının seftazidim ve sefotaksim direnci, kontrol grubundan izole edilenlere göre anlamlı oranda yüksek bulunurken (p= 0.007, p= 0.007), iki grup arasında seftazidim ve sefotaksim direnci açısından fark tespit edilmemiştir (p=0.263, p=0.409).

Diğer beta-laktam antibiyotiklere dirençli *E.coli* kolonizasyonunda gruplar arasında fark bulunmamıştır (Tablo XVIII).

***Klebsiella spp.* için;**

Kontrol grubunda aztreonama, sefuroksime ve ampisilin / sulbaktama dirençli *Klebsiella spp* kolonizasyonu, çalışma ve yenidoğan servis grubuna göre yüksek bulunurken (p=0.003, p=0.0001, p=0.048), çalışma grubu ve yenidoğan

servis grubu arasında aztreonama, sefuroksime ve ampisilin / sulbaktama dirençli *Klebsiella spp* kolonizasyonunda fark bulunmamıştır ($p=0.666$, $p=0.052$, $p=0.975$). Yenidoğan servis grubunda seftazidim dirençli *Klebsiella spp.* kolonizasyonu, kontrol grubuna göre anlamlı oranda yüksek bulunurken ($p=0.009$), çalışma grubuyla aralarında istatistiksel farklılık saptanmamıştır ($p=0.202$) (Tablo XIX).

Tablo XVIII: Komensal fekal florada kolonize *E. coli*' nin beta-laktam antibiyotiklere direnç oranı

Beta-laktam Antibiyotikler	Çalışma grubu n:48 (%)	Yenidoğan servis grubu n:28 (%)	Kontrol grubu n:37 (%)	Toplam n:113 (%)	p
AMC	22 (45.8)	6 (21.4)	12 (32.4)	40 (21.4)	0.089
ATM	5 (10.04)	2 (7.1)	18 (48.6)	25 (22.1)	0.000
CTX	20 (41.7)	9 (32.1)	4 (10.8)	33 (29.2)	0.007
CAZ	18 (37.5)	7 (25.0)	3 (8.1)	28 (24.8)	0.007
CXM	22 (45.8)	7 (25.0)	29 (78.4)	58 (51.3)	0.000
IMP	-	-	-	-	-
MEM	1 (2.1)	-	-	1 (0.9)	0.505
SAM	20 (41.7)	6 (21.4)	15 (40.5)	41 (36.3)	0.168

Hastanede yatarken ve taburcu olduktan sonra alınan örneklerden izole edilen ampisilin dirençli mikroorganizmaların beta-laktam antibiyotiklere direnç oranlarının karşılaştırılması:

E. coli ve *Klebsiella spp.* izolatları için, hastanede alınan örneklerde seftazidim ve sefotaksim direnç oranı, hastane dışında alınan örneklere oranla belirgin olarak yüksek bulunmuştur (*E. coli*: $p=0.0001$, $p=0.0001$; *Klebsiella spp.*: $p=0.001$, $p=0.029$) (Tablo XX).

Sefuroksime dirençli *E. coli* ve *Klebsiella spp.* kolonizasyonunda hastanede ve hastane dışında alınan örneklerde fark olmamasına karşın ($p=0.065$, $p=0.139$), total sefuroksime dirençli bakteri kolonizasyonu hastanede alınan örneklerde

%64.2, hastane dışında alınan örneklerde %50.8 bulunmuş ve aralarında istatistiksel olarak anlamlı fark tespit edilmiştir ($p=0.033$).

Tablo XIX: Komensal fekal florada kolonize *Klebsiella spp.*' nin beta-laktam antibiyotiklere direnç oranı

Beta-laktam Antibiyotikler	Çalışma grubu n:40 (%)	Yenidoğan servis grubu n:62 (%)	Kontrol grubu n:61 (%)	Toplam n:163 (%)	p
AMC	7 (17.5)	7 (11.3)	17 (27.9)	31 (19.0)	0.061
ATM	7 (17.5)	13 (21.0)	27 (44.3)	47 (28.2)	0.003
CTX	12 (30.0)	19 (30.6)	10 (16.4)	41 (25.2)	0.136
CAZ	10 (25.0)	23 (37.1)	10 (16.4)	43 (26.4)	0.032
CXM	22 (55.0)	22 (35.5)	51 (83.6)	95 (58.3)	0.000
IMP	-	1 (1.6)	-	1 (0.6)	0.440
MEM	3 (7.5)	-	1 (1.6)	4 (2.5)	0.050
SAM	7 (17.5)	11 (17.7)	21 (34.3)	39 (23.9)	0.048

Hastanede ve hastane dışında alınan örneklerde diğer beta-laktam antibiyotiklere dirençli mikroorganizma kolonizasyonu açısından fark bulunmamıştır (Tablo XX).

Ampisilin dirençli mikroorganizmaların ampisilin, sefotaksim, seftazidim MIC değerlendirmesinde tüm gruplarda dirençlilik düzeyinin yüksek olduğu görülmektedir. Yenidoğan servis ve çalışma grubunda saptanan mikroorganizmaların seftazidim direnç düzeyinin ise kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı düzeyde yüksek olduğu görülmektedir (Tablo XXI)

Tablo XX: Hastanede ve hastane dışında alınan örneklerde kolonize olan ampisiline dirençli flora bakterilerinin β -laktam antibiyotiklere direnç oranının karşılaştırması

	<i>E. coli</i>			<i>Klepsiella spp.</i>		
Beta-laktam Antibiyotikler	Hastanede n:49*	Hastane dışında n :64*	p	Hastanede n:46*	Hastane dışında n:117*	p
AMC	21 (42.9)	19 (29.7)	0.146	9 (19.6)	22 (18.8)	0.911
ATM	15 (30.6)	10 (15.6)	0.057	16 (34.8)	31 (26.5)	0.293
CTX	24 (49.0)	9 (14.1)	0.0001	17 (37.0)	24 (20.5)	0.029
CAZ	21 (42.9)	7 (10.9)	0.0001	20 (43.5)	23 (19.7)	0.001
CXM	30 (61.2)	28 (43.8)	0.065	31 (67.4)	64 (54.7)	0.139
IMP	-	-	-	1 (2.2)	-	0.282
MEM	-	1 (1.6)	0.379	2 (4.3)	2 (1.7)	0.316
SAM	21 (42.9)	20 (31.3)	0.203	12 (26.1)	27 (23.1)	0.685

* Parentez içinde yüzde (%) oranları verilmiştir.

Tablo XXI: Çalışma grupları arasında olguların komensal floralarında kolonize olan bakterilerin beta-laktam antibiyotiklere dirençlilik düzeyinin karşılaştırılması

Beta-laktam Antibiyotikler	Direnç düzeyi MIC (μm/ml)	Çalışma grubu (%)	Yenidoğan servis grubu (%)	Kontrol grubu (%)	p
AMP	< 256	26/72 (36.1)	20/72 (27.8)	25/84 (29.8)	0.526
	$\geq$ 256	46/72 (63.9)	52/72 (72.2)	59/84 (70.2)	
CTX	< 256	12/28 (42.9)	9/26 (34.6)	4/11 (36.4)	0.814
	$\geq$ 256	16/28 (57.1)	17/26 (65.4)	7/11 (63.6)	
CAZ	< 256	6/21 (22.2)	3/27 (11.1)	7/13 (53.8)	0.011
	$\geq$ 256	21/27 (77.8)	24/27 (88.9)	6/13 (46.2)	

4.3.ESBL Yapımı:

Alınan 367 örnekten 124 (%33.7)' ünde ESBL üreten mikroorganizma kolonizasyonu tespit edilmiştir. ESBL üreten mikroorganizmaların 51 (%41.1)' i *E. coli*, 73 (%58.9)'ü *Klebsiella spp.* olarak bulunmuştur. Başka bir ifade ile ampisilin dirençli *E. coli* izolatlarının 51 (%45.1)' inde, *Klebsiella spp.* izolatlarının 73 (%44.8)' ünde ESBL üretimi tespit edilmiştir. İki mikroorganizma arasında ESBL üretimi açısından fark bulunmamıştır ($p=0.954$) (Tablo XXII).

Tablo XXII: Komensal fekal florada kolonize bakterilerde ESBL üretimi

MIKROORGANİZMA	ESBL üretimi n (%)	<i>p</i>
<i>E. coli</i> n:113	51 (45.1)	0.954
<i>Klebsiella spp.</i> n:163	73 (44.8)	

Kültür alınma zamanına göre ESBL üreten mikroorganizma kolonizasyonu ve çalışma gruplarına göre dağılımı:

Her üç grup arasında ESBL üreten mikroorganizma kolonizasyonu açısından fark bulunmamıştır ($p=0.056$) (Tablo XXIII-XXV).

İlk örneklerde ESBL üreten mikroorganizma kolonizasyonu yenidoğan servis grubunda, çalışma grubuna oranla yüksek bulunurken ($p=0.0001$), kontrol grubu ile aralarında fark bulunmamıştır ($p=0.140$).

İkinci örneklerde kontrol grubunda ESBL üreten mikroorganizma kolonizasyonu, çalışma ve yenidoğan servis grubu'na göre anlamlı oranda yüksek bulunmuş ($p=0.030$, $p=0.023$), çalışma grubu ve yenidoğan servis grubu arasında anlamlı fark tespit edilmemiştir ($p=0.783$).

Üçüncü ve dördüncü örneklerde ESBL üreten mikroorganizma kolonizasyonu açısından üç grup arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunmamıştır ($p=0.817$, $p=0.517$).

Tablo XXIII: Çalışma grubundaki olguların zamana bağlı komensal fekal floralarında ESBL üreten bakteri kolonizasyonu oranının değişimi

		ESBL üreten bakteri kolonizasyonu		
KÜLTÜR	Örnek sayısı n	<i>E. coli</i> n (%)	<i>Klepsiella spp.</i> n (%)	TOPLAM n (%)
1. kültür	38	4 (10.6)	1 (2.6)	5 (13.2)
2. kültür	38	9 (23.6)	4 (10.6)	13 (34.2)
3. kültür	33	7 (21.2)	5 (15.2)	12 (36.4)
4. kültür	20	1 (5.0)	3 (15.0)	4 (20.0)
Toplam	129	21 (16.3)	13 (10.1)	34 (26.4)

Tablo XXIV: Yenidoğan servis grubundaki olguların zamana bağlı komensal fekal floralarında ESBL üreten bakteri kolonizasyon oranının değişimi

		ESBL üreten bakteri kolonizasyonu		
KÜLTÜR	Örnek sayısı n	<i>E. coli</i> n (%)	<i>Klepsiella spp.</i> n (%)	TOPLAM n (%)
1. kültür	36	6 (16.7)	13 (36.1)	19 (52.8)
2. kültür	29	2 (6.9)	7 (24.1)	9 (31.0)
3. kültür	24	2 (8.3)	5 (20.9)	7 (29.2)
4. kültür	15	-	1 (6.7)	1 (6.7)
Toplam	104	10 (9.6)	26 (26.8)	36 (36.4)

Tablo XXV: Kontrol grubundaki olguların zamana bağlı komensal fekal floralarında ESBL üreten bakteri kolonizasyon oranının değişimi

		ESBL üreten bakteri kolonizasyonu		
KÜLTÜR	Örnek sayısı n	<i>E. coli</i> n (%)	<i>Klepsiella spp.</i> n (%)	TOPLAM n (%)
1. kültür	44	11 (25)	5 (11.4)	16 (36.4)
2. kültür	41	5 (12.2)	19 (46.3)	24 (58.5)
3. kültür	33	4 (12.1)	8 (24.3)	12 (36.4)
4. kültür	16	-	2 (12.5)	2 (12.5)
Toplam	134	20 (15.0)	34 (25.3)	54 (40.3)

Çalışma grubunda her dört kültürde ESBL üreten mikroorganizma kolonizasyonu açısından fark bulunmazken ($p=0.080$), yenidoğan servis grubunda ilk kültürde yüksek oranda ESBL üreten mikroorganizma kolonizasyonunda sonraki kültürlerde anlamlı azalma saptanmıştır ($p=0.012$). Kontrol grubunda ise en yüksek ESBL üreten mikroorganizma kolonizasyon ikinci kültürde tesbit edilmiş ve sonraki kültürlerde anlamlı oranda azalmıştır ($p=0.010$).

Hastanede ve hastane dışında izole edilen ampisilin dirençli mikroorganizmalarda ESBL üretiminin karşılaştırılması:

Her üç grupta hastanede yatarken alınan örneklerden izole edilen komensal bakterilerde ESBL yapımı, hastane dışında alınan örneklerden izole edilenlere göre anlamlı oranda yüksek bulunmuştur (çalışma grubu: %53.2-%22.0, $p=0.002$; yenidoğan servis grubu: %69.0-%26.2, $p=0.0001$; kontrol grubu: %84.2 - %48.1 $p=0.004$) (Tablo XXVI)

Hastanede yatarken alınan örneklerden izole edilen 95 bakterinin 61 (%64.2)'i, hastane dışında alınan örneklerden izole edilen 181 bakterini 63 (%34.8)'inde ESBL üretimi tespit edilmiş ve aradaki fark anlamlı bulunmuştur ($p=0.0001$).

Tablo XXVI: Örneklerin alındığı yere göre komensal fekal florada ESBL üreten bakterilerin saptanma oranı

Çalışma grupları	Örneğin alındığı yer	ESBL pozitif bakteri kolonizasyonu n (%)	ESBL negatif bakteri kolonizasyonu n(%)	p
Çalışma grubu	Hastane n:47	25 (53.2)	22 (46.8)	0.002
	Hastane dışı n:41	9 (22.0)	32 (78.0)	
Yenidoğan servis grubu	Hastane n:29	20 (69.0)	9 (31.0)	0.0001
	Hastane dışı n:61	16 (26.2)	45 (73.8)	
Kontrol grubu	Hastane n:19	16 (84.2)	3 (15.8)	0.004
	Hastane dışı n:79	38 (48.1)	41 (51.9)	
TOPLAM	Hastane n:95	61 (64.2)	34 (35.8)	0.000
	Hastane dışı n:181	63 (34.8)	118 (65.2)	

ESBL üreten mikroorganizmaların çalışma gruplarına dağılımı:

ESBL üreten *E. coli* ve *Klebsiella spp.*'nin gruplar arasında dağılımında istatistiksel farklılık tesbit edilmemiştir ($p=0.328$, $p=0.060$) (Tablo XXVII).

Tablo XXVII: ESBL üreten bakterilerin gruplara göre dağılımı

ESBL pozitif mikroorganizma	Çalışma grubu n (%)	Yenidoğan servis grubu n (%)	Kontrol grubu n: (%)	p
<i>E. coli</i> n:51	21 (41.2)	10 (19.6)	20 (39.2)	0.328
<i>Klebsiella spp.</i> n:73	13 (17.8)	26 (35.6)	34 (46.6)	0.060

4.4.Komensal Fekal Floralarında ESBL Üreten Bakteri Kolonizasyonu Tesbit Edilen Olguların Değerlendirilmesi

Çalışmaya alınan 118 olgudan, 124 ESBL üreten komensal fekal flora bakterisi izole edilmiştir.

Olguların ESBL üreten bakterilerle kolonizasyonu üç şekilde değerlendirmeye alınarak kolonizasyondaki risk faktörleri araştırılmıştır.

1- Tüm çalışma süresince, en az bir kez komensal fekal floralarında ESBL üreten mikroorganizma kolonizasyonu tespit edilen olgulardaki risk faktörlerinin değerlendirilmesi:

Bu değerlendirmede 85 yenidoğanda, alınan gaita örneklerinden en az birinde ESBL üreten mikroorganizma kolonizasyonu tespit edilmiş ve bu olgular hiç bir örneğinde ESBL üreten mikroorganizma kolonizasyonu saptanmayan 33 olguyla karşılaştırılarak ESBL üreten mikroorganizma kolonizasyonundaki risk faktörleri araştırılmıştır.

Olguların klinik özellikleri Tablo XXVIII, XXIXa ve XXIXb'de verilmiştir. Seksen beş olgunun 25 (%29.4)'i çalışma grubu, 25 (%29.4)'i yenidoğan servis grubu ve 35 (%41.2)'i kontrol grubundan çalışmaya alınmışlardır. Kolonize olan grupta vaginal yol ile doğum daha fazla ve nasogastrikle beslenme süresi daha uzun bulunmuştur ($p=0.018$, $p=0.002$).

Multivariate lojistik regresyon analizi ile ESBL üreten mikroorganizma kolonizasyonundaki risk faktörleri değerlendirildiğinde;

- Çok düşük doğum ağırlığı (<1500 g) (RR=22.02, p=0.021)
- Vaginal yolla doğum (RR=3.52, p=0.017)
- Olguda antibiyotik kullanımı (RR=14.05, p=0.035)
- Maternal antibiyotik kullanımı (RR=3.8, p=0.038) risk faktörleri olarak bulunurken; nasogastrikle beslenme (RR=0.05, p=0.021) koruyucu risk faktörü olarak bulunmuştur (Tablo XXX).

2- Hastanede yattığı süre içinde, en az bir kez komensal fekal floralarında ESBL üreten mikroorganizma kolonizasyonu tespit edilen olgulardaki risk faktörlerinin değerlendirilmesi:

Bu değerlendirmede 53 olguda ESBL üreten mikroorganizma kolonizasyonu tespit edilmiş ve hastanede yatış süresince kolonizasyon saptanmayan 65 olguyla karşılaştırılarak, kolonizasyondaki risk faktörleri araştırılmıştır.

Elli üç olgunun 18 (%34.0)'i çalışma grubu, 16 (%30.2)'si yenidoğan servis grubu ve 19 (%35.8)'u kontrol grubundan çalışmaya alınmışlardır.

Kolonizasyon saptanan grupta vaginal yolla doğum (p=0.022), erken membran rüptürü (p=0.032) oranı daha fazla ve TPN süresi (p=0.012), nazogastrik tüp uygulama süresi (p=0.002) ile fototerapi uygulama süresi (p=0.005) daha uzun bulunmuştur (Tablo XXXI).

Multivariate lojistik regresyon analizi ile ESBL üreten mikroorganizma kolonizasyonundaki risk faktörleri değerlendirildiğinde;

- Çok düşük doğum ağırlığı (<1500 g) (RR=15.25, p=0.042)
- Vaginal yolla doğum (RR=3.82, p=0.003)
- Erkek cinsiyet (RR=2.61, p=0.031)
- Erken membran rüptürü (RR=7.41, p=0.031) risk faktörleri olarak tespit edilirken, nasogastrikle beslenme (RR=0.07, p=0.020) koruyucu risk faktörü olarak bulunmuştur. Olguda antibiyotik kullanımı ve maternal antibiyotik kullanımı ESBL üreten mikroorganizma kolonizasyon riskini sırasıyla 3.03 ve 2.70 kat artırırken anlamlılık istatistiksel düzey sınırları içinde saptanmamıştır (Tablo XXXII).

Tablo XXVIII: Tüm çalışma süresince (hastane ve hastaneden taburcu olduktan sonra) komensal fekal floralarında ESBL üreten mikroorganizma kolonizasyonu olan ve olmayan olguların özellikleri

	Kolonize olan (n: 85)	Kolonize olmayan (n: 33)	p *
Gestasyonel yaş (hf)#	37.0 ± 3.5 (27-41)	37.0 ± 2.5 (32-40)	0.336
Doğum ağırlığı (g)#	2764 ± 862 (930-4100)	2786 ± 786 (1475-4300)	0.793
>2500 g*	58 (68.2)	20 (60.6)	0.065
1501-2499 g*	16 (18.8)	12 (36.4)	
<1500 g*	11 (12.9)	1 (3.0)	
Doğum şekli (NsVd)*	38 (44.7)	7 (21.2)	0.018
Cinsiyet(Erkek)*	40 (47.1)	15 (45.5)	0.872
Anne sütü ile beslenme*	77 (90.6)	31 (93.9)	0.435
*Anne sütüne başlanma zamanı (gün) #	1.3 ± 0.9 (1-6)	1.9 ± 2.3 (1-12)	0.271
Antibiyotik kullanımı *	26 (30.6)	11(33.3)	0.771
Antibiyotik kullanım süresi (gün) #	8.1 ± 4.8 (3-22)	7.9 ± 2.5 (5.10)	0.578
İntravenöz girişim*	32 (37.6)	16 (48.5)	0.282
İntravenöz girişim süresi (gün) #	10.5 ± 6.6 (2-22)	8.5 ± 5.2 (2-23)	0.578
Total parenteral beslenme *	12 (14.1)	5 (15.2)	0.543
Total parenteral beslenme süresi (gün) #	7.6 ± 4.5 (1-14)	4.8 ± 3.4 (1-9)	0.205
Nasogastrik yolla beslenme *	15 (17.6)	8 (24.2)	0.416
Nasogastrikle beslenme süresi (gün) #	19.7 ± 11.9 (5-36)	7.3 ± 6.6 (3-23)	0.002
Ventilatör tedavisi*	8 (9.4)	4 (12.1)	0.444
Ventilatör tedavi süresi (saat)#	57.0 ± 60.0 (24-192)	65.8 ± 49.8 (23-120)	1.000
Fototerapi uygulaması*	42 (49.4)	18 (54.5)	0.612
Fototerapi uygulama süresi#	3.7 ± 2.6 (1-15)	2.9 ± 2.4 (1-11)	0.065
Maternal antibiotik kullanımı*	22 (25.9)	5 (15.2)	0.216
Erken membran rüptürü	10 (11.8)	4 (12.1)	0.583
Doğum yeri (D.E.Ü.T.F.)*	56 (65.9)	23 (69.7)	0.692
Hastaneye yatış zamanı (gün) #	2.4 ± 2.5 (1-11)	2.1 ± 1.9 (1-7)	0.935
Hastanede yatış süresi (gün) #	10.3 ± 14.7 (1-70)	7.7 ± 6.8 (1-28)	0.736
Çalışmaya alındığı grup			0.354
Çalışma grubu	25 (29.4)	13 (39.4)	
Yenidoğan servisi	25 (29.4)	11 (33.3)	
Kontrol grubu	35 (41.2)	9 (27.3)	

* Değerler olgu sayısı (%oranı) olarak verilmiştir

Değerler ortalama ± standart sapma (alt-üst sınır) olarak verilmiştir

* İlk 24 saat içinde anne sütüne başlama 0. gün olarak değil 1. gün olarak alınmıştır

* Grup oranlarının karşılaştırılması için Pearson ki-kare ve Fisher kesin ki-kare testi, grup ortalamaları ise Mann-Whitney U testi karşılaştırılmıştır. İstatistiksel anlamlılık için $p < 0.05$ alınmıştır.

Tablo XXIXa: Çalışmaya alınan gruplarda komensal fekal floralarında ESBL üreten mikroorganizma kolonizasyonu olan ve olmayan olguların karşılaştırılması

Klinik özellikler	Çalışma grubu(n:38)			Yenidoğan servisi (n:36)			Kontrol grubu (n:44)		
	Kolonize olan n: 25 (65.8)*	Kolonize olmayan n: 13 (34.2)*	p	Kolonize olan n: 25 (69.4)*	Kolonize olmayan n: 11 (30.6)*	p	Kolonize olan n: 35 (79.5)*	Kolonize olmayan n: 9 (20.5)*	p
Gestasyonel yaş (hft)*	32.4 ± 2.8 (27-37)	34.4 ± 1.7 (32-37)	0.022	38.6 ± 0.8 (38-40)	38.8 ± 0.7 (38-40)	0.552	39.2 ± 0.8 (38-41)	38.6 ± 0.7 (38-40)	0.075
Doğum ağırlığı (g)*	1607 ± 366 (930 - 2450)	2004 ± 347 (1475-2450)	0.002	3099 ± 454 (2100-4000)	3342 ± 652 (2500-4300)	0.356	3351 ± 415 (2400-4100)	3239 ± 327 (2900-3950)	0.323
≤ 1500 g*	11 (44)	1 (7.7)	0.036	-	-	1.000	-	-	1.000
1501-2499 g*	14 (56)	12 (92.3)		1 (4)	-		1 (2.9)	-	
≥ 2500*	-	-		24 (96)	11 (100)		34 (97.1)	9 (100)	
Doğum şekli (NsVd)*	7 (28)	-	0.032	12 (48)	5 (45.4)	0.885	19 (54.2)	2 (22.2)	0.138
Cinsiyet(Erkek)*	11 (44)	4 (30.8)	0.422	13 (52)	7 (63.6)	0.712	16 (45.7)	4 (44.4)	1.000
Doğum yeri (Hastane içi)*	12 (48)	11 (84.6)	0.026	6 (24)	3 (27.3)	0.719	35 (100)	9 (100)	-
Hastaneye yatış zamanı(gün)*	1.1 ± 0.4 (1-3)	1.0 ± 0.0 (1-1)	0.305	5.4 ± 2.6 (1-11)	4.3 ± 1.8 (1-7)	0.245	1.0 ± 0.0 (1-1)	1.0 ± 0.0 (1-1)	-
Hastanade yatış süresi (gün)*	27.1 ± 18.3 (7-70)	13.9 ± 6.7 (3-28)	0.044	3.8 ± 1.5 (2-7)	3.4 ± 2.7 (1-10)	0.133	2.9 ± 1.1 (1-5)	3.7 ± 0.9 (2-5)	0.052
1-5 gün yatanlar*	-	2 (15.4)		21 (84)	8 (72.2)		35 (100)	9 (100)	
> 5 gün yatanlar*	25 (100)	11 (84.6)		4 (16)	3 (27.3)		-	-	

* Değerler olgu sayısı (% oranı) olarak verilmiştir # Değerler ortalama ± standart sapma (alt-üst sınır) olarak verilmiştir

Tablo XXIXb: Çalışmaya alınan gruplarda komensal fekal floralarında ESBL üreten mikroorganizma kolonizasyonu olan ve olmayan olguların karşılaştırılması

Klinik özellikler	Çalışma grubu(n:38)			Yenidoğan servisi (n:36)			Kontrol grubu (n:44)		
	Kolonize olan n: 25 (65.8)*	Kolonize olmayan n: 13 (34.2)*	p	Kolonize olan n: 25 (69.4)*	Kolonize olmayan n: 11 (30.6)*	p	Kolonize olan n: 35 (79.5)*	Kolonize olmayan n: 9 (20.5)*	p
Anne sütü ile beslenme*	19 (76)	11 (84.6)	0.682	25 (100)	11 (100)	-	33 (94.3)	9 (100)	1.00
Anne sütüne başlanma zamanı(gün)*	2.3 ± 1.4 (1-6)	3.0 ± 3.4 (1-12)	0.856	1.0 ± 0.0 (1-1)	1.0 ± 0.3 (1-2)	0.133	1.0 ± 0.0 (1-1)	1.0 ± 0.0 (1-1)	-
Antibiyotik kullanımı *	19 (76)	8 (61.5)	0.456	7 (28)	3 (27.3)	1.000	-	-	-
Antibiyotik kullanım süresi (gün) *	9.5 ± 4.7 (3-22)	9.8 ± 1.9 (5-10)	0.586	4.1 ± 1.0 (3-5)	5.0 ± 0.0 (5-5)	0.625	-	-	-
1-7 gün kullanılanlar*	11 (44)	2 (15.4)	0.204	7 (28)	3 (27.2)	1.000	-	-	-
> 7 gün kullanılanlar*	8 (32)	6 (46.2)		-	-		-	-	-
Intravenöz girişim*	25 (100)	13 (100)	1.000	7 (28)	3 (27.3)	1.000	-	-	-
Intravenöz girişim süresi (gün) *	12.3 ± 6.2 (4-22)	9.5 ± 5.2 (2-23)	0.386	3.7 ± 1.2 (2-5)	4.0 ± 1.7 (2-5)	0.804	-	-	-
Total perantral beslenme *	12 (48)	5 (38.6)	0.574	-	-		-	-	-
TPN süresi (gün) *	7.5 ± 4.5 (1-14)	4.8 ± 3.3 (1-9)	0.236	-	-		-	-	-
Nasogastrik yolla beslenme *	15 (60)	8 (61.5)	0.928	-	-		-	-	-
Nasogastrikle beslenme süresi (gün) *	19.6 ± 11.8 (5-36)	7.2 ± 6.6 (3-23)	0.023	-	-		-	-	-
Ventilatör tedavisi*	8 (32)	4 (30.8)	1.000	-	-		-	-	-
Ventilatör tedavi süresi (saat) *	57.6 ± 60.0 (24-192)	65.7 ± 44.7 (23-120)	1.000	-	-		-	-	-
Maternal antibiyotik kullanımı*	7 (28)	3 (23.1)	1.000	4 (16)	1 (9.1)	1.000	11 (31.4)	1 (11.1)	0.406
Erken membran rüptürü*	7 (28)	3 (23.1)	1.000	1 (4)	-	1.000	2 (5.7)	1 (11.1)	0.502

* Değerler olgu sayısı (% oranı) olarak verilmiştir # Değerler ortalama ± standart sapma (alt-üst sınır) olarak verilmiştir.

Tablo XXX: Tüm çalışma süresince olguların komensal fekal floralarında ESBL üreten bakterilerle kolonizasyondaki risk faktörlerinin multivariate lojistik regresyonla analizi

	Kolonize olan ve kolonize olmayan grup		
	Relative risk*	% 95 güven aralığı*	p
Gestasyonel yaş (hf)	-	-	0.750
Doğum ağırlığı (g)	referans		
>2500 g			
1501-2499 g	0.81	0.27 - 2.49	0.726
<1500 g	22.02	1.6 - 309.9	0.021
Doğum şekli (NsVd)	3.52	1.25 - 9.92	0.017
Cinsiyet(Erkek)	-	-	0.675
Anne sütü ile beslenmeme	-	-	0.818
Antibiyotik kullanımı	14.05	1.19 - 164.62	0.035
Total parenteral beslenme	-	-	0.834
Nasogastrik yolla beslenme	0.05	0.004-0.064	0.021
Ventilatör tedavisi	-	-	0.862
Maternal antibiotik kullanımı	3.81	1.07-13.50	0.038
Erken membran rüptürü	-	-	0.778
Doğum yeri (D.E.Ü.T.F.)	-	-	0.550
Hastanede yatış süresi (gün)	-	-	0.744
Ventilatör tedavisi	-	-	0.862
Kontrol grubu	referans		
Yenidoğan servisi	-	-	0.544
Çalışma grubu	-	-	0.804

* Kullanılan istatistik programında sadece risk faktörü olarak saptanan değişkenlerde RR ve %95 güven aralığı saptanabildiği için, risk faktörü olarak bulunmayan değişkenlerde yalnızca p değeri verilmiştir.

Tablo XXXI: Hastanede yattığı süre içinde, komensal fekal floralarında ESBL üreten mikroorganizma kolonizasyonu olan ve olmayan olguların özellikleri

	Kolonize olan (n: 53)	Kolonize olmayan (n: 65)	p*
Gestasyonel yaş (hf)#	36.6 ± 3.8 (27-41)	37.4 ± 2.6 (29-40)	0.462
Doğum ağırlığı (g)#	2696 ± 929 (930-4100)	2831 ± 758 (1185-4300)	0.623
>2500 g*	34 (64.2)	44 (67.7)	0.065
1501-2499 g*	10 (18.9)	18 (27.2)	
<1500 g*	9 (17.0)	3 (4.6)	
Doğum şekli (NsVd)*	26 (49.0)	19 (29.2)	0.022
Cinsiyet(Erkek)*	28 (52.8)	27 (41.5)	0.223
Anne sütü ile beslenme*	49 (92.5)	59 (90.8)	0.501
*Anne sütüne başlanma zamanı (gün) #	1.4 ± 0.9 (1-6)	1.6 ± 1.8 (1-12)	0.722
Antibiyotik kullanımı *	19 (35.8)	18 (27.7)	0.346
Antibiyotik kullanım süresi (gün) #	7.6 ± 4.9 (3-22)	8.5 ± 3.3 (5-18)	0.158
Intravenöz girişim*	24 (45.3)	24 (36.9)	0.356
Intravenöz girişim süresi (gün) #	10.4 ± 6.8 (2-22)	9.2 ± 5.6 (2-23)	0.773
Total parenteral beslenme *	8 (15.1)	9 (13.8)	0.844
Total parenteral beslenme süresi (gün) #	9.2 ± 4.2 (2-14)	4.6 ± 3.1 (1-9)	0.012
Nasogastrik yolla beslenme *	11 (20.8)	12 (18.5)	0.745
Nasogastrikle beslenme süresi (gün) #	22.8 ± 12.1 (5-36)	8.5 ± 6.5 (3-23)	0.002
Ventilatör tedavisi*	7 (13.2)	5 (7.7)	0.325
Ventilatör tedavi süresi (saat)#	37.7 ± 27.2 (24-96)	91.0 ± 71.0 (23-192)	0.336
Fototerapi uygulaması*	31 (58.5)	29 (44.6)	0.134
Fototerapi uygulama süresi#	4.1 ± 2.7 (2-15)	2.9 ± 2.1 (1-11)	0.005
Maternal antibiotik kullanımı*	14 (26.4)	13 (20)	0.405
Erken membran rüptürü	10 (18.9)	4 (6.2)	0.032
Doğum yeri (D.E.Ü.T.F.)*	33 (62.3)	46 (70.8)	0.325
Hastaneye yatış zamanı (gün) #	2.7 ± 2.7 (1-11)	1.9 ± 1.9 (1-10)	0.197
Hastanede yatış süresi (gün) #	12.3 ± 16.9 (2-70)	7.4 ± 8.0 (1-39)	0.306
Çalışmaya alındığı grup			0.312
Çalışma grubu	18 (34.0)	20 (30.8)	
Yenidoğan servisi	16 (30.2)	28 (43.1)	
Kontrol grubu	19 (35.8)	17 (26.2)	

* Değerler olgu sayısı (%oranı) olarak verilmiştir

Değerler ortalama ± standart sapma (alt-üst sınır)olarak verilmiştir

* İlk 24 saat içinde anne sütüne başlama 0. gün olarak değil 1. gün olarak alınmıştır

* Grup oranlarının karşılaştırılması için Pearson ki-kare ve Fisher kesin ki-kare testi, grup ortalamaları ise Mann-Whitney U testi karşılaştırılmıştır. İstatistiksel anlamlılık için p < 0.05 alınmıştır.

Tablo XXXII: Hastanede yatış süresince komensal fekal floralarında ESBL üreten bakterilerle kolonizasyondaki risk faktörlerinin multivariate lojistik regresyonla analizi

	Kolonize olan ve kolonize olmayan grup		
	Relative risk*	% 95 güven aralığı*	p
Gestasyonel yaş (hf)	-	-	0.774
Doğum ağırlığı (g)	referans		
>2500 g			
1501-2499 g	-	-	0.890
<1500 g	15.25	1.09 - 212.48	0.042
Doğum şekli (NsVd)	3.82	1.55 - 9.40	0.003
Cinsiyet(Erkek)	2.61	1.08 - 6.28	0.031
Anne sütü ile beslenmeme	-	-	0.739
Antibiyotik kullanımı	3.03	0.92 - 9.94	0.067
İntravenöz girişim	-	-	0.647
Total parenteral beslenme	-	-	0.472
Nasogastrik yolla beslenme	0.07	0.007 - 0.66	0.020
Maternal antibiyotik kullanımı	2.70	0.93 - 7.78	0.065
Erken membran rüptürü	7.41	1.19 - 45.90	0.031
Doğum yeri (D.E.Ü.T.F.)	-	-	0.286
Hastanede kalış süresi (gün)	-	-	0.394
Kontrol grubu	referans		
Yenidoğan servisi	-	-	0.244
Çalışma grubu	-	-	0.706

* Kullanılan istatistik programında sadece risk faktörü olarak saptanan değişkenlerde RR ve %95 güven aralığı saptanabildiği için, risk faktörü olarak bulunmayan değişkenlerde yalnızca p değeri verilmiştir.

3- Hastanede yattığı süre içinde ESBL üreten mikroorganizma kolonizasyonu tespit edilmeyen, hastaneden çıktıktan sonra alınan örneklerin en az birinde kolonizasyon tespit edilen olgulardaki risk faktörlerinin değerlendirilmesi:

Hastaneden taburcu olduktan sonra ESBL üreten mikroorganizma kolonizasyonu 32 olguda tespit edilmiştir. Kontrol grubu olarak hiçbir kültüründe kolonizasyon saptanmayan ve hastaneden taburcu olduktan sonra ESBL üreten mikroorganizma kolonizasyonu kaybolan olgular alınmıştır. (Tablo XXXIII).

Multivariate lojistik regresyon analizi ile ESBL üreten mikroorganizma kolonizasyonundaki risk faktörleri değerlendirildiğinde; sadece anne sütü almama (RR=7.6, p=0.028) risk faktörü olarak bulunmuştur (Tablo XXXIV).

4.5.İnfeksiyon saptanan olguların değerlendirilmesi

NICU'da yatan 12 olguda neonatal sepsis tanısı konulmuş ve bu olguların 5' inde kan kültürlerinde üreme saptanmıştır. Kan kültürlerinde *K. pneumoniae* saptanan 28 haftalık 930 g doğum ağırlığında erkek olgu ile 32 haftalık 1600 g doğum ağırlığında kız olgunun her ikisinin gaita örneklerinde benzer direnç fenotipine sahip *K. pneumoniae* kolonizasyonu saptanmıştır. Her iki olgunun da annelerinde 48 ve 72 saatlik erken membran rüptürü nedeniyle ampicilin kullanım öyküsü mevcuttu. Olgulara ampirik olarak başlanılan ampicilin/sulbaktam, sefotaksim tedavisine klinik yanıt alınması ayrıca antibiyogramda her iki antibiyotiğe duyarlı bulunulması nedeniyle antibiyotik tedavisinde değişiklik yapılmamıştır. Her iki olguda da antibiyotik tedavisi sonrası alınan gaita örneklerinde ESBL pozitif *K. pneumoniae* kolonizasyonu saptanmıştır.

Kan kültürlerinde üreme saptanan diğer üç olgudan ikisinde *alfa-hemolitik streptokok* birinde ise *S. pneumoniae* izole edilmiştir.

Klinik olarak neonatal sepsis tanısı konulan ve kan kültürlerinde üreme saptanmayan diğer 7 olgunun 4'ünde intestinal floralarında ESBL üreten *K. pneumoniae* ve 3'ünde ise ESBL üreten *E. coli* kolonizasyonu saptanmıştır. Bu olguların hepsinde ampirik olarak ampicilin/sulbaktam, sefotaksim tedavisi başlanılmış ancak klinik yanıt görülmeyen üç olguda antibiyotik tedavisi meropenem, amikasin olarak değiştirilmiştir.

Tablo XXXIII: Hastaneden taburcu olduktan sonra komensal fekal floralarında ESBL üreten mikroorganizma kolonizasyonu olan ve olmayan olguların özellikleri

	Kolonize olan (n: 32)	Kolonize olmayan (n: 55)	p^*
Gestasyonel yaş (hf) #	37.8 ± 2.7 (29-40)	36.2 ± 3.1 (28-40)	0.003
Doğum ağırlığı (g) #	2877 ± 737 (1185-3850)	2567 ± 837 (1270-4300)	0.059
>2500 g*	24 (75.0)	29 (52.7)	0.122
1501-2499 g*	6 (18.12)	20 (36.4)	
<1500 g*	2 (6.3)	6 (10.9)	
Doğum şekli (NsVd)*	12 (37.5)	16 (29.1)	0.416
Cinsiyet(Erkek)*	12 (37.5)	28 (50.9)	0.225
Anne sütü ile beslenme*	28 (87.5)	52 (94.5)	0.224
*Anne sütüne başlanma zamanı (gün) #	1.3 ± 0.9 (1-5)	1.6 ± 1.8 (1-12)	0.312
Antibiyotik kullanımı *	7 (21.9)	21 (38.2)	0.116
Antibiyotik kullanım süresi (gün) #	9.4 ± 4.4 (5-18)	7.7 ± 4.6 (3-22)	0.245
Intravenöz girişim*	8 (25)	31 (56.4)	0.004
Intravenöz girişim süresi (gün) #	10.6 ± 6.5 (4-21)	9.4 ± 6.2 (2-22)	0.614
Total parenteral beslenme *	4 (12.5)	10 (18.2)	0.423
Total parenteral beslenme süresi (gün) #	4.3 ± 3.3 (1-8)	7.7 ± 4.9 (1-14)	0.174
Nasogastrik yolla beslenme*	4 (12.58)	14 (25.5)	0.158
Nasogastrikle beslenme süresi (gün) #	11.0 ± 6.2 (7-20)	14.8 ± 12.8 (3-35)	0.952
Fototerapi uygulaması*	11 (34.4)	31 (56.4)	0.043
Fototerapi uygulama süresi#	2.8 ± 1.7 (1-6)	3.8 ± 2.9 (1-15)	0.156
Maternal antibiotik kullanımı*	8 (25)	14 (25.5)	0.962
Erken membran rüptürü	1 (3.1)	7 (12.7)	0.138
Doğum yeri (D.E.Ü.T.F.)*	23 (71.9)	37 (67.3)	0.655
Hastaneye yatış zamanı (gün) #	1.8 ± 1.9 (1-10)	2.4 ± 2.3 (1-11)	0.256
Hastanede yatış süresi (gün) #	7.0 ± 9.2 (1-39)	10.7 ± 12.1 (1-59)	0.025
Çalışmaya alındığı grup			0.001
Çalışma grubu	7 (21.9)	25 (45.5)	
Yenidoğan servisi	6 (18.8)	18 (32.7)	
Kontrol grubu	19 (59.4)	12 (21.8)	

* Değerler olgu sayısı (%oranı) olarak verilmiştir

Değerler ortalama ± standart sapma (alt-üst sınır)olarak verilmiştir

* İlk 24 saat içinde anne sütüne başlama 0. gün olarak değil 1. gün olarak alınmıştır

* Grup oranlarının karşılaştırılması için Pearson ki-kare ve Fisher kesin ki-kare testi, grup ortalamaları ise Mann-Whitney U testi karşılaştırılmıştır. İstatistiksel anlamlılık için $p < 0.05$ alınmıştır.

Tablo XXXIV: Hastaneden taburcu olduktan sonra komensal fekal floralarında ESBL üreten bakterilerle kolonizasyondaki risk faktörlerinin multivariate lojistik regresyonla analizi

	Kolonize olan ve kolonize olmayan grup		
	Relative risk*	% 95 güven aralığı*	p
Gestasyonel yaş (hf)	-	-	0.372
Doğum ağırlığı (g)	referans		
>2500 g	-	-	0.909
1501-2499 g	-	-	0.786
<1500 g	-	-	0.786
Doğum şekli (NsVd)	-	-	0.952
Cinsiyet(Erkek)	-	-	0.242
Anne sütü ile beslenmeme	7.6	1.24 - 47.58	0.028
Antibiyotik kullanımı	-	-	0.831
İntravenöz girişim	-	-	0.701
Nasogastrik uygulama	-	-	0.866
Maternal antibiyotik kullanımı	-	-	0.734
Hastanede kalış süresi (gün)	-	-	0.624

* Kullanılan istatistik programında sadece risk faktörü olarak saptanan değişkenlerde RR ve %95 güven aralığı saptanabildiği için, risk faktörü olarak bulunmayan değişkenlerde yalnızca p değeri verilmiştir.

5.TARTIŞMA

Yenidoğan döneminde intestinal florada anaerobik bakteriler dışında farklı bakteri türleri de bulunabilir. *Enterobacteriaceae* ailesi ilk çoğalan mikroorganizma grubudur ve doğumdan sonraki birkaç gün içinde fekal örneklerden izole edilebilir (138,140). *E.coli* yenidoğanlarda genellikle dominant olan *Enterobacteriaceae* türü olmakla birlikte, *Klebsiella spp.* ve *Enterobacter spp.* gibi diğer *Enterobacteriaceae* türleri de sıklıkla yenidoğan fekal örneklerinden izole edilebilmektedir. *E.coli* kolonizasyonu çoğunlukla annenin kendi fekal florasından kaynaklanır, ancak hastane ortamı da kolonizasyon için önemli bir kaynak oluşturmaktadır (142,156,168). *Klebsiella spp.*, *Enterobacter spp.* türleri ise nadiren annenin fekal florasından kaynaklanmakta, çoğunlukla çevreden kazanılmaktadır. Bu nedenle enterobakteriyal flora ile temasın yoğun olduğu ortamlarda doğan infantlarda intestinal kolonizasyon paterni farklılıklar gösterebilir (139,158,169).

Sağlıklı yenidoğan infantın hastanede kısa süre kalması bile nozokomiyal patojenleri kazanması için yeterlidir. Bu infantlar doğumu takip eden birkaç gün içinde annelerinden ve çevreden kazandıkları mikroorganizmalar ile normal floralarını oluştururlar. NICU' da bulunan infantlarda ise kolonizasyon gecikir ve özellikle gram olumsuz enterik basiller gibi nozokomiyal patojenlerle kolonizasyon meydana gelir (147,105). Virulansı düşük mikroorganizmalarla kolonizasyonun oluşmaması patojenik mikroorganizmaları içeren NICU florasından daha dirençli bakterilerin kazanılmasını sağlar (3,132).

Yapmış olduğumuz bu prospektif çalışmada, 118 yenidoğandan alınan 367 gaita örneğinin 276 (%75.2)' sında ampiciline dirençli gram olumsuz bakteri kolonizasyonu tespit edilmiştir. İzole edilen bu mikroorganizmaların %59' u *Klebsiella spp.* ve %41' i *E. coli* olarak bulunmuştur. Yenidoğan servis ve kontrol grubundaki olgularda *Klebsiella spp.* kolonizasyonunun daha fazla olması bu olguların annelerinin yanında bulunmalarına rağmen intestinal aerob floralarının oluşumunda hastane ortamının da etkili olduğunu düşündürmektedir. Gothefers ve arkadaşları hastanede doğan bebeklerde intestinal kolonizasyonun anne florasından daha çok hastane ortamından kazanıldığını göstermişlerdir (170). Yenidoğan servis grubundaki olgularda aerobik mikroorganizma

kolonizasyonunun ilk kültürden itibaren yüksek oranda saptanması bu olguların ünitemize diğer çevre hastanelerde bir süre kaldıktan sonra gelmiş olmaları ile açıklanabilir. Adlerberth ve arkadaşlarının yenidoğan intestinal florasının oluşumu üzerinde çevre şartlarının etkisini araştırdıkları çalışmalarında; İsveç'te doğan infantların intestinal aerobik mikroorganizma kolonizasyon oranını 6-7. günlerde Pakistan' da doğan infanlara göre belirgin oranda düşük bulmuşlar ve bu durumu İsveç'te doğan infatların büyük oranda hijyenik koşulların daha iyi olması sonucu anne ve çevre florası ile temasının az olmasına bağlamışlardır (142). NICU' da bulunan bebeklerde kolonizasyon geciktiği bilinmektedir. Goldman ve arkadaşları NICU' ya alınan infantların üçüncü günde bile üçte birinde kolonizasyon oluşmadığını ve sonrasında ise kolonizasyonun gram olumsuz bakterileri içeren nozokomiyal patojenlerle oluştuğunu göstermişlerdir (147). Aynı çalışmada sağlıklı infantların aksine NICU' daki infantlarda intestinal florada en az *E.coli* kadar *Klebsiella*, *Enterobacter* ve *Citrobacter* (KEC) kolonizasyonu oluşumunu da gösterilmiştir. KEC kolonizasyonu ünite de kalış süresi ile de yakından ilişkili bulunmuştur. Bizim yaptığımız bu çalışmada da NICU' daki olgularda aerobik fekal kolonizasyonun oluşmasındaki gecikme saptanmıştır ve *Klebsiella spp.* kolonizasyonu *E. coli* kolonizasyonuna yakın oranda bulunmuştur. Bu olgularımızda kolonizasyon gecikmesinin bir diğer nedenide , olguların % 71 'inde antibiyotik kullanılmasıdır. Antibiyotik kullanılmasının kolonizasyonu geciktirdiği ve patojenik flora kolonizasyonuna neden olduğu pek çok çalışmada gösterilmiştir (148,149,171,172). Ayrıca ilk kültürlerde % 13.2 olan *Klebsiella spp.* kolonizasyonu taburcu olmadan hemen önce alınan kültürlerde % 42.4' e yükselmiştir.

Toplumdaki sağlıklı kişilerin flora bakterileri antibiyotik direnç genleri için önemli bir kaynak oluşturmaktadır (17,18). Bu dirençli flora bakterileri direnç genlerini daha patojen olan bakterilere aktarabilir veya kendileri endojen bir infeksiyon sebebi olabilirler. Sonuç olarak sağlıklı popülasyondaki direnç düzeyinin bilinmesi oluşan infeksiyonların tedavisinde ilk basamak antibiyotik seçimini belirlemede önemli olacaktır (19). Gelişmiş ve gelişmekte olan ülkelerin farklı sosyo-kültürel seviyelerindeki sağlıklı veya hastanede yatan kişilerde yapılan çalışmalarda, bu bireylerin intestinal floralarının bir veya birden çok

antibiyotiğe dirençli aerobik gram olumsuz enterik bakterilerle kolonize oldukları görülmüştür (173,174,175,176).

Dirençli organizmalarla intestinal kolonizasyon ülkeden ülkeye, ülke içinde bölgeden bölgeye farklılıklar göstermektedir. Üçüncü dünya ülkelerinde direnç oranı, gelişmiş ülkelerden çok daha yüksek bulunmuş ve bunun sebebi olarak bu ülkelerde kontrolsüz ve fazla miktarda antibiyotik kullanımı gösterilmiştir (110). Çalışmamızda intestinal florada kolonize olan *E. coli* 'de ampisilin direnci %89.7, *Klebsiella spp.* 'de ise %94.8 gibi yüksek oranlarda bulunmuştur. Güney Hindistan ve Güney Afrika'da sağlıklı bireylerin intestinal florasında ampisilin dirençli mikroorganizma kolonizasyonu sırasıyla %96.8 ve %88.6, trimetoprim dirençli mikroorganizma kolonizasyonu ise sırasıyla %96.8 ve %74.2 olarak bulunmuştur (177,178). İngiltere'de 100 sağlıklı bireyde yapılan çalışmada da ampisilin, trimetoprim ve tetrasiklin dirençli mikroorganizma kolonizasyonu sırasıyla %42, %12 ve %27 olarak saptanmıştır. Çoğul antibiyotik dirençli bu mikroorganizmalarının %67' sinin *E.coli*, %21' nin *Klebsiella spp.* olduğu gösterilmiştir (17). Calva ve arkadaşlarının Meksika'da 2 yaşın altında 20 sağlıklı çocuktan 13 hafta süre ile her hafta gaita örnekleri alarak 7 farklı antibiyotiğe dirençli mikroorganizma kolonizasyonunu araştırdıkları çalışmalarında alınan 260 gaita örneğinin tümünde *E.coli*, 54 örnekte *Klebsiella spp.* ve dört örnekte *Shigella spp.* izole edilmiştir. *E.coli*' nin antibiyotik direnç oranları; ampisilin %90, trimetoprim %77, tetrasiklin %62, kloramfenikol %39 olarak bulunmuştur. Çalışmaya alınan çocukların tümünün en az 7 hafta süre ile ampisilin, trimetoprim ve tetrasiklin dirençli *E.coli* ile kolonize olduğu saptanmıştır(18).

Bizim olgularımızda ilk hafta içinde alınan gaita örneklerinde ampisiline dirençli mikroorganizma kolonizasyonu %49.1 olarak saptanırken, bebekler ortalama 45 günlük olduklarında bu oranın %92.2 gibi yüksek bir değere ulaştığı görülmüştür. Ampisilin dirençli mikroorganizma kolonizasyonu tüm çalışma gruplarında kültür alınma zamanına paralel olarak artmıştır. NICU' da ampisiline dirençli bakteri kolonizasyonunun diğer iki gruba göre daha düşük gözlenmesi, bu grupta daha riskli bebekler bulunmasına rağmen hastane enfeksiyonu önleme kurallarının daha titiz şekilde uygulanmasına bağlanabilir. Ancak üniteye kalış

süresi arttıkça, önceki çalışmalara benzer olarak, dirençli bakteri kolonizasyonunun da hızla arttığı görülmektedir (76,132,179).

Son 20 yıl içinde aerobik gram olumsuz bakteriler bir veya birden çok antibiyotiğe direnç kazanmışlar ve bu bakteriler özellikle düzey III yoğun bakım hizmeti veren yenidoğan ünitelerindeki nozokomiyal infeksiyon epidemilerinden sorumlu hale gelmişlerdir (6). Bu epidemilerde sıklıkla izole edilen ajan *K.pneumoniae*' dir (120,122). Bununla birlikte diğer gram olumsuz enterik bakterilerle (*Enterobacter spp.*, *Klebsiella spp.*, *Citrobacter spp.*, *Serratia spp.*) ve nonenterik bakterilerle (*P. aeruginosa* ve *Acinetobacter*) oluşan epidemiler de sıklıkla bildirilmektedir (98,123). Gram olumsuz bakterilerde beta laktam antibiyotik direnci en önemli klinik sorunlardan biridir ve her geçen gün yeni bir beta laktamaz enzim oluşumu tanımlanmaktadır (124). Gram olumsuz bakterilerde beta laktamaz üretimi, beta laktam antibiyotiklere dirençte en önemli mekanizmadır (7,37,40).

Enterobacteriaceae'larda ESBL üretimi ilk kez 1983-84 yılında Avrupa'da tanımlanmış, daha sonra tüm dünyada yaygın olarak gözlenmiştir. ESBL üreten mikroorganizmaların sefamisinler dışında tüm sefalosporinlere ve monobaktamlara dirençli olmaları ve ESBL kodlayan genlerin plazmidler ve transpozonlar üzerinde taşınmaları nedeniyle kısa sürede gram olumsuz bakteriler arasında yayılımını sağlamıştır (6,7,40).

ESBL' ler *Enterobacteriaceae*' larda ve özellikle hastalardan izole edilen *K. pneumoniae* suşlarında yaygındırlar (8). ABD'de 1993' te yapılan çalışmalarda yoğun bakım ünitelerinde seftazidim dirençli *K. pneumoniae* oranı % 14.4 iken, büyük eğitim hastanelerinde bu oran % 20' in üzerinde bildirilmiştir. Bazı hastanelerde ise bu oran % 40' ın üzerinde bulunmuştur (4). ESBL' nin ilk tanımlandığı Avrupa' da bu oranlar daha yüksektir. Fransa'da *K. pneumoniae* suşlarında bu oran %14-35 arasında değişmektedir (73). Ülkemizde yapılan çeşitli yayınlarda *K. pneumoniae* suşlarında bu oran %12-68,5 olarak bildirilmektedir (180). ESBL oluşturan suşların ülkeden ülkeye, hatta aynı hastanede servisler arasında farklılık gösterdiği bilinmektedir. Bu farklılıklar epidemiyolojik faktörler, infeksiyon kontrol önlemleri ve antibiyotik kullanımı ile ilgili bulunmaktadır (181,182). Avrupa' daki ülkelerden 35 farklı yoğun bakım merkezinden elde edilen

966 *Klebsiella spp.* izolatlarının 220' sinde (% 23) ESBL üretimi tespit edilmiştir. Ülkelere göre *Klebsiella spp.* suşlarında ESBL üretimi Portekiz'de % 49, Belçika'da % 31, Fransa'da % 24, İtalya'da % 17, Hollanda'da % 16, Almanya'da % 9, İspanya'da % 1, Türkiye'de ise % 59 gibi yüksek bir oranda bulunmuştur (182). A.B.D.'de ise bu oran NNIS tarafından % 8.7 olarak bildirilmiştir (6).

Bizim yapmış olduğumuz çalışmada ise *Klebsiella spp.* izolatlarının % 44.8' inde ve *E. coli* izolatlarının % 45.1'inde ESBL üretimi saptanmıştır. Çalışma grupları arasında ESBL üreten mikroorganizmaların dağılımı açısından fark bulunmamıştır. Bununla birlikte yenidoğan yoğun bakım ünitesinde ESBL üreten *E. coli* kolonizasyonu istatistiksel olarak anlamlı olmasa da daha yüksek oranda gözlenmiştir. Daha önce NICU' da yaptığımız bir çalışmada sepsis gelişen 41 yenidoğanın kan kültüründe üreyen mikroorganizmaların dağılımının *E. coli* % 31.7, *S. aureus* % 14.6, *S. epidermidis* % 19.4, *K. pneumoniae* % 7.1, *S. pneumoniae* ve *P. aeruginosa* suşları % 17 oranında saptanmış olması da bu bulguyu desteklemektedir (183).

Çalışmamızda ESBL üreten mikroorganizma kolonizasyonu açısından üç çalışma grubu arasında fark tespit edilmemiştir. Tüm çalışma periyodu süresince olguların %72' sinde en az bir kez ESBL üreten mikroorganizma kolonizasyonu saptanmıştır. NICU' daki olgularda bakteri kolonizasyonundaki gecikmeye paralel olarak, ilk iki kültürde ESBL üreten mikroorganizma kolonizasyonu düşük oranda gözlenmiştir. İlginç olarak yenidoğan servis olgularının yarısından çoğunun ilk kültürlerinde ESBL üreten mikroorganizma kolonizasyonu saptanmıştır. Bu olguların yaklaşık 2/3' si çevre hastanelerde doğan ve bir süre izlendikten sonra ünitimize kabul edilen hastalardan oluşmaktadır. Bu nedenle olguların dirençli bakteri kolonizasyonunu dışarıdan kazanıp yenidoğan ünitemize taşımış oldukları düşünülebilir. Bu durumun çok az olası bir diğer açıklaması, bu infantların dirençli bakteri kolonizasyonunu kendi yenidoğan ünitemizde kazanmalarıdır. ESBL üreten *Enterobacteriaceae'* lar ile ortaya çıkan nozokomiyal infeksiyon salgınlarına yönelik çalışmalar, bu türlerin geniş spektrumlu sefalosporin kullanımının yarattığı seçici baskı sonucu ortaya çıktığını göstermiştir (74,75,76). Uzun süreli bakım ünitelerinden ve bakım evlerinden hastaneye yatırılan hastalar, bu özellikteki mikroorganizmaları hastanelere taşımakta, hastanelerde yaygın

beta laktam kullanımı sonucunda hastaların solunum sistemi ve gastrointestinal sisteminde dirençli mikroorganizma kolonizasyon oluşmaktadır(7,24,77). Kolonize olan bakterilerin diğer beta laktam antibiyotiklere direnç paternine bakıldığında, ünitemizde ampirik olarak kullandığımız sefotaksim direnç oranı ile yenidoğan ünitesinin de içinde bulunduğu genel pediatri servisinde yatan onkoloji, hematoloji hastalarında ampirik olarak kullanılan seftazidime karşı direnç oranının yüksek olduğu görülmektedir. Bu infantlarda antibiyotik kullanımı sonucu dışardan kazandıkları ESBL üreten mikroorganizmalar seleksiyona uğramakta veya hastane infeksiyonu önleme kurallarının yeterince uygulanamaması sonucu bu dirençli suşlar hastane florasından kazanılmaktadır.

Kontrol grubundaki olguların ilk kültürlerinde ve taburcu olduktan sonra alınan ikinci kültürlerinde ESBL üreten mikroorganizma kolonizasyonu yüksek bulunmuştur. Bu durum hastanemiz, Kadın Hastalıkları ve Doğum servisinde obstetrik hastaların diğer jinekoloji hastaları ile aynı servis içinde bulunmaları, bebeklerin annelerinin yanında kalmalarına rağmen bakımlarının genel servis hemşiresi tarafından yapılması ve hastane infeksiyon önleme kurallarının sıkı bir şekilde uygulanmaması sonucu olabilir. Ayrıca bu olguların annelerinin yaklaşık üçte biri hamileliklerinin son döneminde antibiyotik tedavisi almışlardır. Bu durum daha önce de tanımlandığı gibi maternal antibiyotik kullanımının yenidoğan intestinal kolonizasyonunu etkilediğinin bir göstergesidir (184,185). Fransa'da yapılan bir çalışmada Bordeman ve arkadaşları, doğum öncesi anneye verilen ampisilin tedavisinin yenidoğanlarda dirençli *Enterobacteriaceae* ile intestinal kolonizasyona neden olduğunu göstermişlerdir (185).

Yenidoğan servis ve kontrol grubunda kültürlerde ESBL üreten mikroorganizma kolonizasyonunun zamanla azalması, intestinal kolonizasyon üzerinde etkili olan risk faktörlerinin ortadan kalkması, hastanenin dirençli bakteri florasından uzaklaşma ve sadece anne ile yakın temasın devam etmesinin bir sonucu olabilir. Yenidoğan intestinal kolonizasyonunun oluşması döneminde tüm risk faktörleri (hastanede kalış, antibiyotik tedavisi, hijyenik koşullar, servis personeli ile temas) normal *E.coli* kolonizasyonunu azaltarak *Klebsiella spp.* ve *Enterobacter spp.* gibi anormal bakteriyel kolonizasyona neden olur (139). Çalışmamızda yenidoğan servis ve kontrol grubundaki olgularda hastanede yatış

süreleri kısa olmasına rağmen *Klebsiella spp.* kolonizasyonu yüksek oranda bulunmuştur. Yapılan başka bir çalışmada da çoğul antibiyotik dirençli *K.pneumonia* kolonizasyonu için hastanede kalış süresi en az beş gün olarak bulunmuştur (179).

Tüm çalışma gruplarındaki olgularda hastanede yattıkları sürece alınan fekal örneklerde ESBL üreten mikroorganizma kolonizasyonu yüksek oranda bulunmuştur. Hastanede alınan örneklerde saptanan 95 bakterinin %64.2' sinde ESBL üretimi saptanırken, hastane dışında alınan örneklerde saptanan 181 bakterinin %34.2' sinde ESBL üretimi tespit edilmiştir. Fransa' da yapılan bir çalışmada ise hastanelerde izole edilen suşların ESBL üretimi % 30-40 iken hastane dışında izole edilenlerde bu oran % 6 olarak bildirilmektedir. Türkiye'de İstanbul Üniversitesi Tıp Fakültesinde Kaygusuz ve arkadaşlarının yaptıkları bir çalışmada, hastanede yatan çocuk hastalardan izole edilen 385 örnekte ESBL üretimi % 32, poliklinik hastalarından izole edilen 525 örnekte ise % 2 olarak bulunmuştur. Aynı çalışmada ESBL oluşturan 132 suşun % 84' ünün *K. pneumoniae*, % 5' inin *E. coli* ve % 11' inin ise *Salmonella*, *Enterobacter*, *P. mirabilis* ve *Serratia* olduğu gösterilmiştir (180). Bizim olgularımızda hastane dışında alınan örneklerde ESBL üretiminin yüksek saptanması, bu olguların hastanede kazandıkları dirençli suşları intestinal florada taşımaya devam ettiklerini göstermektedir. İnfantların intestinal floralarındaki bu dirençli suşları bir yıl gibi uzun bir süre taşıyabilecekleri ve çevreye yayabilecekleri bildirilmektedir (132). Yine başka bir çalışmada NICU' dan taburcu edilen 6 yenidoğan aynı yıl içinde tekrar hastaneye yattıklarında bu infantlarda seftazidim dirençli *K. oxytoca* taşıyıcılığının devam ettiği ve 2 infantta aynı mikroorganizmanın sebep olduğu idrar yolu infeksiyonunun bulunduğu gösterilmiştir (9).

Yaptığımız çalışmada ESBL üreten *Enterobacteriaceae* ile intestinal kolonizasyon oluşumu üzerine etkili risk faktörlerinin araştırılması için üç grup oluşturulmuştur. Bunda amaç hastanede yatış ve hastane sonrasında intestinal kolonizasyon üzerinde etkili olan risk faktörlerini daha iyi ortaya koyabilmektedir. Bu değerlendirmeler sonucunda düşük doğum ağırlığı, olguda antibiyotik kullanımı, annede antibiyotik kullanımı, vajinal yol ile doğum, erken membran rüptürü ve erkek cinsiyet ESBL üreten mikroorganizma kolonizasyonunda risk

faktörü olarak bulunmuştur. Nazogastrik uygulama ise yayınlarda bildirildiğinin aksine (108,109) koruyucu risk faktörü olarak saptanmıştır. Ancak daha ayrıntılı bakıldığında bizim olgularımızda nazogastrik uygulama, genel durumları iyi olan fakat prematürelilikten dolayı oral yoldan beslenemeyen hastaların beslenmesinin sağlanması amacı ile uygulanmıştır. Bu nedenle nazogastrik uygulama bebeğin genel durumunun iyi olduğunun dolayısıyla kolonizasyon oluşumunda rol oynayan diğer risk faktörlerini taşımadığının bir göstergesi olarak değerlendirilebilir. Ayrıca beslenmeye erken başlanması normal intestinal kolonizasyonunun oluşmasını sağlamaktadır. Buna karşılık nazogastrik uygulama süresinin kolonizasyon oluşan grupta istatistiksel olarak daha uzun olduğu görülmüştür.

Yalnızca yenidoğan yoğun bakım grubundaki olgularımız değerlendirildiğinde ise; ESBL üreten mikroorganizma kolonizasyonu oluşan bebeklerin kolonizasyon saptanmayanlara göre gestasyonel yaş ve doğum ağırlığının daha düşük, hastanede kalış süresinin daha uzun, vajinal yolla doğumun daha fazla, nazogastrik uygulama süresinin daha uzun olduğu ve olguların çoğunun hastane dışından üniteye kabul edildiği görülmektedir. Hastalar üniteye ilk kabul edildiklerinde kolonizasyon oranı %13.2 iken, üçüncü kültürde kolonizasyon oranı %36.4' e yükselmiştir. Bu da önceki çalışmalara benzer şekilde (9,84,179) yoğun bakımda yatış süresi uzadıkça dirençli mikroorganizma kolonizasyon oranının arttığını göstermektedir

ESBL üreten mikroorganizmalarla kolonizasyon ve enfeksiyon gelişmesinde pek çok risk faktörü bildirilmiştir (6,120,131,186). En önemli risk faktörünün hastanede özellikle yoğun bakım ünitesinde yatmak olduğu bilinmektedir. Bunun dışında hastanede kalış süresi, venöz veya arteriyel kateter uygulaması, üriner kateterizasyon, ventilatör tedavisi gibi uygulanan invaziv girişimler, antibiyotik kullanımı, hastalığın şiddeti ESBL üreten mikroorganizmalarla kolonizasyonda en önemli risk faktörleri olarak bildirilmektedir (4).

Richard ve arkadaşları yılda 750-800 yenidoğan ve prematüre bebeğin kabul edildiği NICU'da ESBL üreten bakteri kolonizasyonu ve risk faktörlerini tespit etmek için yaptıkları bir çalışmada 410 infantın 63' ünde (% 15) seftazidim dirençli bakteri kolonizasyonu tespit etmişlerdir. Otuz hafta süreyle devam ettikleri

çalışmada haftalık seftazidim dirençli *K. oxytoca* kolonizasyonu %16.8 ve ortalama kolonizasyon süresi 4-75 gün olarak bulmuşlardır. Bu çalışmada bizim çalışmamıza benzer şekilde hastanede kalış süresinin ve düşük doğum ağırlığının ESBL üreten mikroorganizma kolonizasyonu için en önemli risk faktörü olduğu bulunmuştur (9).

Pena ve arkadaşlarının NICU' da 4 ay boyunca haftalık rektal sürüntü alarak ESBL üreten *K.pneumonia* kolonizasyonunu araştırdıkları çalışmada toplam 188 hastanın 72' sinde (%38), ilk haftada %58' inde, 30.günde ise %80' inde ESBL üreten *K.pneumonia* kolonizasyonu saptamışlardır. Aynı çalışmada bizim risk faktörü olarak saptamadığımız arteriyal kateterizasyon, total parenteral beslenme, üriner kateterizasyon ve mekanik ventilasyon da risk faktörü olarak bulunmuştur. Ayrıca antibiyotik kullanımı çalışmamıza benzer şekilde risk faktörü olarak tespit edilmiştir (179). Yine başka bir çalışmada yoğun bakımda yatış süresi uzadıkça kolonizasyon oranının giderek yükseldiği, arteriyal, venöz veya pulmoner arter kataterizasyonu ve geniş spektrumlu beta laktam antibiyotik kullanımının ESBL üreten *Enterobacteriaceae* kolonizasyonu ile birlikteliği gösterilirken; nazogastrik uygulama, enteral beslenme ve mekanik ventilasyonun kolonizasyon ile birlikteliği gösterilememiştir. Bu faktörler multivariate analizle değerlendirildiğinde sadece arteriyal ve üriner kateterizasyon anlamlı risk faktörü olarak saptanmıştır (84).

Çalışmamızda hastaneden taburcu olduktan sonra ESBL üreten mikroorganizma kolonizasyonunda ise en önemli risk faktörü olarak anne sütü ile beslenmeme tespit edilmiştir. Bu durum hastanedeki kolonizasyon üzerine etkili risk faktörleri ortadan kalkınca kolonizasyonu etkileyen en önemli risk faktörünün bebeğin beslenme şekli olduğunu düşündürmektedir. Genel olarak anne sütü ile beslenen infantlarda intestinal florada gram olumlu anaerob basillerden bifidobakteriyum ve formula ile beslenen infantlarda ise *E.coli* ile gram olumsuz anaerob basillerden bakteroidesler hakimdir (153,154,155). Anne sütünün yüksek fosfat içerikli formula ve inek sütüne göre düşük tamponlama kapasitesi ve bifidobakteriyumların oluşturduğu asidik ortam, patojen mikroorganizmaların kolonizasyonunu önleyen bir faktördür. Ayrıca bifidobakteriyumların konakçının doğal direnç mekanizmalarını arttırdığı da bilinmektedir (164). Anne sütünde

bulunan çok sayıda serbest oligosakkaridler reseptör analoğu olarak görev yaparak bakterinin ve toksinlerinin gastrointestinal sistem mukoza yüzeylerine bağlanmalarını ve kolonizasyonunu önleyerek infeksiyon riskini azaltırlar (160). Bu bilgiler çalışmamızdaki anne sütü ile beslenmeyen bebeklerde ESBL üreten mikroorganizma kolonizasyonunun neden daha fazla bulunduğunu açıklar niteliktedir. Ancak literatürde direkt olarak anne sütünün ESBL üreten bakteri kolonizasyonunu önlediğine dair bir bilgiye rastlanmamıştır.

ESBL üreten mikroorganizma kolonizasyonu oluşumunda en önemli risk faktörlerinden biri de geniş spektrumlu antibiyotik kullanımıdır. Bizim çalışmamızda da hem yenidoğan yoğun bakım hem de servis grubunda ESBL üreten mikroorganizmaların ünitemizde yoğun olarak kullanılan seftazidim ve sefotaksim direncinin kontrol grubuna göre anlamlı oranda yüksek bulunduğu saptanmıştır. Ayrıca hastanede yatarken alınan örneklerde de bu iki antibiyotiğe dirençli mikroorganizma kolonizasyonun yüksek bulunması, antibiyotik kullanımının intestinal flora üzerindeki seçici baskısının bir kanıtıdır. Antimikrobiyal tedavi intestinal sistemin anaerobik florasını baskılayarak patojenik gram olumsuz bakteriler gibi nozokomiyal patojenlerle kolonizasyonu arttırmaktadır (74,75,76). Goldman ve arkadaşları 3 günden uzun süre antibiyotik uygulamasının boğaz ve intestinal sistem florasında patojenik gram olumsuz bakteri kolonizasyonunu arttırdığını, *E.coli* ve alfa hemolitik streptokok gibi normal flora elamanlarının bu kolonizasyonu önleyemediğini göstermişlerdir (147). Başka bir çalışmada geniş spektrumlu antibiyotik kullanılan infantların %80-90' ında normal anaerobik floranın saptanamayacak oranda azaldığı ve tedaviden sonra anaerob floranın aerobik flora göre daha geç normale döndüğü gösterilmiştir (145). A.B.D' de yapılan bir çalışmada 155 hastada 432 seftazidim dirençli *K.pneumonia* izolatu elde edilmiştir. Tüm *K. pneumonia* izolatlarında seftazidim direnci %17.3 olarak bulunmuştur. Seftazidim dirençli *K.pneumonia* elde edilen hastaların %39' unda infeksiyon gelişmiş, bu hastaların %72' sinde daha önce en az 7 gün olmak üzere antibiyotik kullanıldığı ve kullanılan antibiyotiklerin %41' inin seftazidim olduğu tespit edilmiştir. Seftazidim direncinden TEM-10 ve TEM-26 enzimlerinin sorumlu olduğu saptanmıştır. Seftazidim kullanımının sınırlandırılması ile ünite de bir yıl sonunda seftazidim dirençli *K.pneumonia*

infeksiyon ve/veya kolonizasyonunun %60 oranında azaldığı görülmüştür (76). Başka bir çalışmada da oksiiimino beta laktam kullanımının sınırlandırılması ile 1000 hasta gününde 5.7 olan ESBL üreten *K.pneumonia* infeksiyon atağının, 1.5 yıl sonunda 1000 hasta gününde 0.6' ya gerilediği gösterilmiştir (187). Oksiiimino beta laktam kullanımının kısıtlanması ile ESBL üreten *K.pneumonia* salgınlarının önlenebileceği başka çalışmalarla da gösterilmiştir (4,8,6,84).

Nosokomiyal infeksiyonlarla neonatal kolonizasyonun ilişkisi yapılan çalışmalarla ortaya konulmuştur (4,83,84). Gram olumsuz bakteriyel infeksiyon salgınları esnasında bu patojenlerle intestinal kolonizasyon oranı %90 gibi yüksek oranlarda saptanmıştır (4). Yapılan bir çalışmada seftazidim dirençli *K.oxytoca*'nın sebep olduğu pnömoni, idrar yolu infeksiyonu ve sepsis-menenjit tablosu gelişen 3 infantta bu mikroorganizmaların fekal floralarında kolonize olduğu gösterilmiştir (9). Bizim çalışmamızda da NICU'da yatan 12 olguda sepsis tanısı konulmuş ve bu olguların 5' inde kan kültürlerinde üreme saptanmıştır. Kan kültürlerinde *K. pneumoniae* saptanan iki olguda aynı zamanda intestinal floralarında benzer direnç fenotipine sahip ESBL üreten *K. pneumoniae* kolonizasyonu tesbit edilmiştir. Diğer olgulardan ikisinde kan kültüründe alfa hemolitik streptokok ve birinde ise *S. pneumoniae* izole edilmiştir. Bu iki bakteri de infantların normal boğaz florasında bulunan mikroorganizmalardır. Kan kültürlerinde üreme saptanmayan 7 olgunun 4 'ünün intestinal floralarında ESBL üreten *K. pneumoniae* ve 3' ünde ise ESBL üreten *E. coli* kolonizasyonu saptanmıştır. Sepsis gelişen olguların tümünde ampirik antibiyotik tedavisi olarak ampisilin/sulbaktam ve sefotaksim tedavisi başlanılmış, klinik yanıt gözlenmeyen üç olguda tedavi meropenem ve amikasine değiştirilerek klinik yanıt alınabilmektedir. Bu bulgular nosokomiyal infeksiyonlardan sorumlu mikroorganizmaların sıklıkla intestinal sistemde ve normal florada kolonize oldukları görüşünü desteklemektedir. Aynı şekilde Pena ve arkadaşlarının, %72' si yoğun bakım ünitesinde yatan 145 hastada ESBL üreten *K.pneumonia* kolonizasyonu saptadıkları çalışmada bu olguların 92' sinde infeksiyon gelişmiş ve infeksiyon gelişimindeki en önemli risk faktörü olarak intestinal kolonizasyonun varlığı tespit edilmiştir(187). Ayrıca Lucet ve arkadaşlarının erişkin yoğun bakım ünitesinde yaptıkları bir çalışmada da 262 hastadan 62 (%23)' sinde ESBL üreten

Enterobacteriaceae kolonizasyonu tespit edilmiş ve bu bakterilerin 58 hastada intestinal sistemde kolonize olduğu (% 97'si *K. pneumonia*) gösterilmiştir. Bu hastaların 22 'sinde 28 infeksiyon atağı gözlenmiş ve 18' inde aynı anda veya öncesinde fekal kolonizasyon tespit edilmiştir. İntestinal kolonizasyondan sonra infeksiyon gelişene dek geçen süre ortalama 5 gün (0-24 gün) olarak bulunmuştur. DNA sekans analizleri çoğu olguda aynı türlerin infeksiyondan sorumlu olduğunu göstermiştir (84).

Çalışmamızda ESBL üreten mikroorganizma kolonizasyonu oluşması üzerine etkili bir diğer faktörün vaginal yolla doğum olduğu bulunmuştur. Literatürde ise sezaryan ile doğan bebeklerde, anne vaginal ve perianal florasından daha çok hastane ortamı ile temasın olması nedeniyle sezaryanla doğum bir risk faktörü olarak bildirilmektedir (139,140,142,188). Ayrıca sezaryan ile doğan bebeklerde anaerobik bakteri kolonizasyonun oluşması gecikmekte ve normal düzeye ulaşması bazen 4-8 hafta kadar sürebilmektedir (139). Çalışmamızda aynı zamanda maternal antibiyotik kullanımı ve erken membran rüptürü de ESBL üreten mikroorganizma kolonizasyonunda risk faktörü olarak saptanmıştır. Bu bulgu annenin normal vaginal ve intestinal florasında dirençli mikroorganizma kolonizasyonunda artışa ve bunun doğum esnasında bebeğe geçmesiyle, vaginal yolla doğumu bir risk faktörü olarak bulmamıza yol açmış olabilir. Doğum öncesi ve doğum esnasında gelişen erken membran rüptürü, korioamnionit ve maternal ateş gibi komplikasyonların, yenidoğanda artmış infeksiyon riski ile birlikte olduğu bilinmektedir. Erken membran rüptürü gelişen 963 gebede yapılan bir araştırmada, membran rüptüründen sonra 23 saat içinde doğan infantlarda klinik sepsis insidansının %2, 24-47 saat içinde doğanlarda %7 ve 48-71 saat içinde doğanlarda %11, VLBW infantlarda ise bu riskin çok daha yüksek olduğu bulunmuştur (189).

ESBL üreten mikroorganizma kolonizasyonunda saptadığımız diğer bir önemli risk faktörü erkek cinsiyettir. Yenidoğan bebeklerde yapılan çalışmaların çoğunda, erkek cinsiyette yenidoğan sepsis ve menenjitinin daha sık görüldüğü bildirilmektedir. Ayrıca erkek bebeklerde gram olumsuz bakterilerin neden olduğu perinatal sepsis ve menenjit oranı kız bebeklere oranla yaklaşık üç kat daha fazladır (190). Yenidoğan infeksiyonlarının erkek cinsiyette daha sık görülmesinin

nedeni olarak, X kromozomu ile kalıtılan ve timus fonksiyonları veya immunglobulin sentezi ile ilişkili genler olabileceği sürülmüştür. Kız bebeklerde bu genlerin çift olarak bulunması nedeniyle infeksiyonlara daha dirençli oldukları düşünülmektedir(190). Yenidoğan infeksiyonları öncesinde intestinal kolonizasyon yüksek oranda gözlenmesi nedeniyle, benzer faktörlerin sonucu olarak erkek cinsiyet dirençli mikroorganizma kolonizasyonu için risk faktörü olarak bulunmuş olabilir.

Çok düşük doğum ağırlığı, ESBL üreten mikroorganizma kolonizasyonunda saptadığımız diğer bir önemli risk faktörüdür. Düşük doğum ağırlıklı bebeklerin intestinal sistem mukozalarının immatür olması, humoral ve hücrel immun sistemlerinin yeterince gelişmemesi, invaziv girişimlerin ve antibiyotik kullanımının daha fazla olması, beslenmenin genellikle gecikmesi ve anne sütünü daha az alabilmelerinden dolayı kolonizasyon ve infeksiyona yatkınlıkları artmıştır (139,189). Bennet ve arkadaşları tek başına preterm doğumun anormal intestinal kolonizasyona neden olduğunu bildirmişlerdir (171). Reish ve arkadaşları da çoğul antibiyotik dirençli *K.pneumonia* kolonizasyonunda en önemli riski faktörlerinin prematürite, kateter uygulaması, antibiyotik tedavisi ve total parenteral beslenme olduğunu göstermişlerdir (11).

Dirençli mikroorganizmaların sebep olduğu infeksiyonlar mortalite ve morbiditeyi artırarak hastanede kalış süresini anlamlı oranda uzatmaktadır (5,21). İnfeksiyona neden olan dirençli mikroorganizmaların çoğunlukla infantın normal florasında kolonize oldukları bilindiğinden, doğum sonrası yenidoğan infeksiyonunu önlemede en önemli yaklaşım, yenidoğanın normal, patojenik olmayan bakterilerle kolonizasyonunu sağlamaktır. Bu ise ancak infantları annelerinin yanında, anne sütüyle besleyerek, hastane infeksiyon önleme kurallarını etkin şekilde uygulayarak ve antibiyotik kullanımını sadece klinik endikasyonlarla sınırlayarak sağlanabilecektir.

6.SONUÇLAR VE ÖNERİLER

Yenidoğan ve prematürelerin aerobik normal fekal floralarında beta laktamlara dirençli bakteri kolonizasyonunun ve bu kolonizasyonun oluşmasındaki risk faktörlerinin belirlenmesine yönelik olarak düzenlenen bu prospektif çalışmada aşağıdaki sonuçlar elde edilmiştir;

1. Toplam 118 yenidoğandan alınan 367 gaita örneğinin 276 (%75.2)' sında ampisiline dirençli komensal fekal flora mikroorganizmaları ile kolonizasyon tespit edilmiştir. Bu mikroorganizmaların 163 (%59)' ü *Klebsiella spp.* ve 113 (%41)' ü *E. coli* olarak saptanmıştır.
2. Çalışma grupları arasında en yüksek ampisiline dirençli bakteri kolonizasyonu yenidoğan servis grubunda saptanmıştır.
3. Çalışma ve kontrol grubunda kültür alınma zamanı ile ampisiline dirençli bakteri kolonizasyonda belirgin artış saptanırken, yenidoğan servis grubunda ilk kültürden itibaren yüksek oranda kolonizasyon gözlenmiş ve kültürler arasında ampisiline dirençli bakteri kolonizasyon oranı açısından fark saptanmamıştır.
4. Yenidoğan servis ve kontrol grubunda ampisiline dirençli *Klebsiella spp.* kolonizasyonu, çalışma grubunda ise ampisiline dirençli *E. coli* kolonizasyonu daha fazla bulunmuştur.
5. Çalışma ve yenidoğan servis grubundan seftazidim ve sefotaksim dirençli mikroorganizma kolonizasyonu kontrol grubuna göre daha yüksek bulunmuştur.
6. Hastanede alınan örneklerde intestinal florada kolonize olan mikroorganizmalarda seftazidim ve sefotaksim direnç oranı, hastane dışında alınan örneklere oranla belirgin olarak yüksek bulunmuştur. Diğer beta-laktam antibiyotiklere, hastanede ve hastane dışında alınan örneklerde dirençli mikroorganizma kolonizasyonu açısından fark bulunmamıştır
7. Ampisilin dirençli mikroorganizmaların ampisilin, sefotaksim, seftazidim MIC değerlendirmesinde tüm gruplarda dirençlilik düzeyinin yüksek olduğu bulunmuştur. Yenidoğan servis ve çalışma grubunda saptanan mikroorganizmaların seftazidim direnç düzeyinin ise kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı düzeyde yüksek olduğu görülmüştür.

8. Alınan 367 örnekten 124 (%33.7)' ünde ESBL üreten mikroorganizma kolonizasyonu saptanmıştır. Ampisilin dirençli *E. coli* izolatlarının 51 (%45.1)' inde, *Klebsiella spp.* izolatlarının ise 73 (%44.8)' ünde ESBL üretimi tespit edilmiştir.
9. Her üç grup arasında ESBL üreten mikroorganizma kolonizasyonu açısından fark bulunmamıştır
10. Çalışma grubunda her dört kültürde ESBL üreten mikroorganizma kolonizasyonu açısından fark bulunmazken, yenidoğan servis grubunda ilk kültürde yüksek oranda ESBL üreten mikroorganizma kolonizasyonunda sonraki kültürlerde anlamlı azalma saptanmıştır. Kontrol grubunda ise en yüksek ESBL üreten mikroorganizma kolonizasyon ikinci kültürde tesbit edilmiş ve sonraki kültürlerde anlamlı oranda azalmıştır.
11. Her üç grupta hastanede yatarken alınan örneklerden izole edilen komensal bakterilerde ESBL yapımı, hastane dışında alınan örneklerden izole edilenlere göre anlamlı oranda yüksek bulunmuştur.
12. NICU'da yatan 12 olguda sepsis tanısı konulmuş ve bu olguların 5' inde kan kültürlerinde üreme saptanmıştır. Kan kültürlerinde *K. pneumoniae* saptanan iki olguda aynı zamanda intestinal floralarında benzer direnç fenotipine sahip ESBL üreten *K. pneumoniae* kolonizasyonu tesbit edilmiştir.
13. Bu olgulardan ikisinde kan kültüründe alfa hemolitik streptokok ve birinde ise *S. pneumoniae* izole edilmiştir. Bu mikroorganizmalar infantların normal boğaz flora üyeleridir.
14. Kan kültürlerinde üreme saptanmayan 7 olgunun 4 'ünün intestinal floralarında ESBL üreten *K. pneumoniae* ve 3' ünde ise ESBL üreten *E. coli* kolonizasyonu saptanmıştır. Bu bulgular nozokomiyal infeksiyonlardan sorumlu mikroorganizmaların sıklıkla intestinal sistemde ve normal florada kolonize oldukları görüşünü desteklemektedir.
15. ESBL üreten mikroorganizma kolonizasyonu oluşumunda; çok düşük doğum ağırlığı, vaginal yolla doğum, olguda antibiyotik kullanımı, maternal antibiyotik kullanımı, erkek cinsiyet ve erken membran rüptürü risk faktörleri olarak bulunurken, nasogastrikle beslenmenin koruyucu risk faktörü olduğu görülmüştür.

16.Hastaneden taburcu olduktan sonra ESBL üreten mikroorganizma kolonizasyonunda sadece anne sütü ile beslenmeme risk faktörü olarak bulunmuştur.

Çoğunlukla infantın normal florasında kolonize olan dirençli mikroorganizmaların sebep olduğu infeksiyonlara bağlı mortalite ve morbiditenin azaltılmasında en önemli yaklaşım, yenidoğanın normal, patojenik olmayan bakteriyle kolonizasyonunu sağlamaktır. Bu ise infantları annelerinin yanında, anne sütüyle besleyerek, hastane infeksiyon önleme kurallarını etkin şekilde uygulayarak ve antibiyotik kullanımını sadece klinik endikasyonlarla sınırlayarak sağlanabilecektir. Ayrıca dirençli mikroorganizma kolonizasyonunun ve infeksiyonunun epidemiyolojik özelliklerinin tanımlanması, bunların kontrollerine yönelik stratejilerin geliştirilmesinde önemli rol oynayacaktır.



7.KAYNAKLAR

1. Brook I, Barrett C, Brinkman C, Martin W, Finegold S. Aerobic and anaerobic bacterial flora of the maternal cervix and newborn gastric fluid and conjunctiva: A prospective study. *Paediatrics* 1979;63:451-455.
2. Gothefors L, Carlson B, Ahlstedt S, Hanson LA, Winberg J. Influence of maternal gut flora and colostral and cord serum antibodies on presence of *Escherichia coli* in faeces in the newborn infant. *Acta Paediatr Scand* 1976;65:225-232.
3. Peter G, Cashore WJ. Infections acquired in the nursery: Epidemiology and control. In: Remington JS, Klein JO, editors. *Infectious diseases of the fetus and newborn infant*, fourth edition. Philadelphia: Saunders, 1995: 1264-1286.
4. Jacoby AG. Extended-spectrum β -lactamases and other enzymes providing resistance to oxyimino- β -lactams. *Infect Dis Clin North Am* 1997; 11: 875-887.
5. Toltzis P, Yamashita T, Vilt L, Blumer JL. Colonisation with antibiotic-resistant gram-negative organisms in a pediatric intensive care unit. *Crit Care Med* 1997; 25: 538-544.
6. Toltzis P, Blumer JL. Antibiotic-resistant gram-negative bacteria in the critical care setting. *Ped Clin North Am* 1995; 42: 687-702.
7. Gold HS, Moellering RC. Antimicrobial-drug resistance. *New Engl J Med* 1996; 335: 1445-1453.
8. Medeiros AA. Recent increases in resistance: Mechanisms and organisms; Evolution and dissemination of β -lactamases accelerated by generations of β -lactam antibiotics. *Clin Infect Dis* 1997; 24 (Suppl 1): S19-S45.
9. Venezia RA, Scarano FJ, Preston KE, Steele LM, Root TP, Limberger R, et al. Molecular epidemiology of an SHV-5 extended-spectrum β -lactamase in enterobacteriaceae isolated from infants in a neonatal intensive care unit. *Clin Infect Dis* 1995; 21: 915-923
10. Jarvis WR, Edwards JR, Culver DH, Hughes JM, Horan T, Emori TG, et al . Nosocomial infection rates in adult and pediatric intensive care units in the United States. National Nosocomial Infections Surveillance System. *Am J Med* 1991 16;(Suppl3B): S185-S191.

11. Reish O, Ashkenazi S, Naor N, Samra Z, Merlob P. An outbreak of multiresistant *Klebsiella* in a neonatal intensive care unit. *J Hosp Infect* 1993;25:287-291.
12. Meyer KS, Urban C, Eagan JA, Berger BJ, Rahal JJ. Nosocomial outbreak of *Klebsiella* infection resistant to late-generation cephalosporins. *Ann Intern Med* 1993;119:353-358.
13. Jacobson KL, Cohen SH, Inciardi JF, King JH, Lippert WE, Iglesias T, et al. The relationship between antecedent antibiotic use and resistance to extended-spectrum cephalosporins in group I Beta lactamase-producing organisms. *Clin Infect Dis* 1995;21:1107-1113.
14. Weinstein RA. Epidemiology and control of nosocomial infections in adult intensive care units. *Am J Med* 1991; 91 (Suppl 13B): S179-S184.
15. McGowan JE. Antimicrobial resistance in hospital organisms and its relation to antibiotic use. *Rev Infect Dis* 1983;6:1033-1048.
16. Sanders CC, Sanders WE. Microbial resistance to newer generation beta lactam antibiotics: Clinical and laboratory implications. *J Infect Dis* 1985;151:399-406.
17. Shanahan PMA, Thomson CJ, Amyes SGB. β -lactam resistance in aerobic commensal faecal flora. *Intern J Antimicrob Agents* 1994; 3: 259-266.
18. Calva JJ, Osornio JS, Ceron C. Antimicrobial resistance in faecal flora: Longitudinal community-based surveillance of children from Urban Mexico. *Antimicrob Agents Chemother* 1996; 40: 1699-1702.
19. Bonten M, Stobberingh E, Philips J, Houben A. Antibiotic resistance of *Escherichia coli* in faecal samples of healthy people in two different areas in an industrialised country. *Infection* 1992; 20: 258-262.
20. Dever LA, Dermody TS. Mechanisms of bacterial resistance to antibiotics. *Arch Intern Med* 1991; 151: 886-895.
21. Acar JF. Consequences of bacterial resistance to antibiotics in medical practice. *Clin Infect Dis* 1997; 24 (Suppl1): S17-S18.
22. Murray BE. New aspect of antimicrobial resistance and the resulting therapeutic dilemmas. *J Infect Dis* 1991; 163: 1184-1194.

- 23.** Courvalin P, Carlier C. Resistance towards aminoglycoside-aminocyclitol antibiotics in bacteria. *J Antimicrob Agents* 1981; 8 (Supp IA): 57-61.
- 24.** Mayer KH, Opal SM, Medeiros AA. Mechanisms of antibiotic resistance. In: Mandel GL, Bennet JE, Dolin R, editors. *Principles and practice of infectious diseases*, fourth edition. New York: Livingstone, 1995:212-225.
- 25.** Morse SA, Jhonson SR, Biddel JW, Roberts MC. High-level tetracycline resistance in *Neisseria gonorrhoeae* is the result of acquisition of streptococcal tetM determinant. *Antimicrob Agents Chemother* 1986; 30: 664-670.
- 26.** Roberts MC, Kenny GE. Dissemination of the tetM tetracycline resistance determinant to *Ureaplasma urealyticum*. *Antimicrob Agents Chemother* 1986; 29: 350-352.
- 27.** Leveque C, Piche L, Larose C, Roy PH. PCR mapping of intergrons reveals several novel combinations of resistance genes. *Antimicrob Agents Chemother* 1995;39:185-191.
- 28.** Arthur M, Courvalin P. Genetics and mechanisms of glycopeptide resistance in enterococci. *Antimicrob Agents Chemother* 1993;37:1563-1571.
- 29.** Gür D. Bakterilerde antibiyotiklere karşı direnç. Topçu AW, Söyletir G, Doğanay M, editörler. *İnfeksiyon hastalıkları, birinci baskı*. İstanbul: Nobel tıp kitapevleri, 1996: 183-190.
- 30.** Burns JL. Mechanisms of bacterial resistance. *Ped Clin North Am* 1995; 42: 497-507.
- 31.** Chambers HF, Sande MA. Antimicrobial agents: General considerations. In: Hardman JG, Limbird LE, Molinoff PB, Ruddon RW, Gilman AG, editors. *The Pharmacological basis of therapeutics*, ninth edition. New York: McGraw-Hill, 1996:1029-1056.
- 32.** Davies J. Inactivation of antibiotics and the dissemination of resistance genes. *Science* 1994; 264: 375-382.
- 33.** Spratt BG. Resistance to antibiotics mediated by target alterations. *Science* 1994; 264: 388-393.
- 34.** Gardner P, Smith DH, Beer H, Moellering RC. Recovery of resistance factors from a drug-free community. *Lancet* 1969;2:774-776.

- 35. Webb V, Davies J. Antibiotic preparation contain DNA: a source of drug resistance genes? *Antimicrob Agents Chemother* 1993;371:2379-2384.**
- 36. Bergogne BE. Who and what is the source of antibiotic resistance. *J Med Microbiol* 1997; 46: 461-464.**
- 37. Jacoby GA, Archer GL. New mechanisms of bacterial resistance to antimicrobial agents. *New Engl J Med* 1991; 324: 601-612.**
- 38. Yoshimura F, Nikaido H. Diffusion of beta-lactam antibiotics through the porin channels of *Escherichia coli* K-12. *Antimicrob Agents Chemother* 1985;27:84-92.**
- 39. Bryan LE, Kwan S. Roles of ribosomal binding membrane potential and electron transport in bacterial uptake of streptomycin and gentamicin. *Antimicrob Agents Chemother* 1983; 23: 835-845.**
- 40. Fraimow HS, Abrutyn E. Pathogens resistance to antimicrobial agents: epidemiology, molecular mechanisms, and clinical management. *Infect Dis Clin North Am* 1995; 9: 497-529.**
- 41. Steigbigel NH. Macrolides and clindamycin. In: Mandel GL, Bennet JE, Dolin R, editors. *Principles and practice of infectious diseases*, fourth edition. New York: Livingstone, 1995: 334-346.**
- 42. Gilbert DN. Aminoglycosides. In: Mandel GL, Bennet JE, Dolin R, editors. *Principles and practice of infectious diseases*, fourth edition. New York: Livingstone, 1995:279-306.**
- 43. Moellering RC. Vancomycin-resistant enterococci. *Clin Infect Dis* 1998;26: 1196-1199.**
- 44. Zinner SH, Mayer KH. Sulfonamides and trimethoprim. In: Mandel GL, Bennet JE, Dolin R, editors. *Principles and practice of infectious diseases*, fourth edition. New York: Livingstone, 1995: 354-364.**
- 45. Robillard NJ, Scarpa AL. Genetic and physiological characterisation of ciproflaxacin resistance in *Pseudomonas aeruginosa* PAO. *Antimicrob Agents Chemother*. 1988;32:535-539.**
- 46. Mc Donnell RW, Sweendy HM, Cohen S. Conjugational transfer of gentamicin resistance plasmids intra-and interspecifically in *Staphylococcus aureus* and *Staphylococcus epidermidis*. *Antimicrob Agents Chemother*. 1983; 23: 151-160.**

- 47.** Mederski-Samoraj B, Murray BE: High level resistance to gentamicin in clinical isolates of enterococci. *J Infect Dis* 1983;147:751-757.
- 48.** Standiford HC. Tetracyclines and chloramphenicol. In: Mandel GL, Bennet JE, Dolin R, editors. *Principles and practice of infectious diseases*, fourth edition. New York: Livingstone, 1995: 306-317.
- 49.** Livermore DM. Mechanisms of resistance to β -lactam antibiotics. *Scand J Infect Dis* 1991; 78(Suppl): S7-S16.
- 50.** Chambers HF, Neu HC. Penicillins. In: Mandel GL, Bennet JE, Dolin R, editors. *Principles and practice of infectious diseases*, fourth edition. New York: Livingstone, 1995: 233-246.
- 51.** Malouin F, Bryan LE. Modification of penicillin-binding proteins as mechanisms of beta-lactam resistance. *Antimicrob Agents Chemother.* 1986; 30: 1-5.
- 52.** Leggiadro RJ. The clinical impact of resistance in the management of pneumococcal disease. *Infect Dis Clin North Am* 1997; 11: 867-874.
- 53.** Maranan MC, Moreira B, Vavra SB, Daum RS. Antimicrobial resistance in staphylococci: Epidemiology, molecular mechanisms, and clinical relevance. *Infect Dis Clin North Am* 1995; 11:813-849.
- 54.** Philippon A, Arlet G, Lagrange Ph. Origin and impact of plasmid mediated extended-spectrum beta-lactamases. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 1994;13 (Suppl 1): S17-S29.
- 55.** Livermore DM, Beta lactamases in laboratory an clinical resistance. *Clin Microb Rev* 1995; 8:557-584.
- 56.** Acar JF, Minozzi C. Role of β -lactamase in resistance of Gram negative bacilli to β -lactam antibiotics. *Rev Infect Dis* 1986;8 (Suppl 5):S482-S486.
- 57.** Bush K, Jacoby GA, Medeiros AA. A functional classification scheme for β -lactamases and its correlation with molecular structure. *Antimicrob Agents Chemother.* 1995;39:1211-1233.
- 58.** Hackbarth CJ, Ünsal I, Chambers HF. Cloning and sequence analysis of a class A β - lactatamase from *Mycobacterium tuberculosis* H37Ra. *Antimicrob Agents Chemother.* 1997;41:1182-1185.

59. Bush K, Jacoby G. Nomenclature of TEM- β -lactamases. *J Antimicrob Chemother* 1997;39:1-3.
60. Jacobson KL, Cohen SH, Inciardi JF, King JH, Lippert WE, Iglesias T, et al. The relationship between antecedent antibiotic use and resistance to extended-spectrum cephalosporins in group I Beta lactamase-producing organisms. *Clin Infect Dis* 1995;21:1107-1113.
61. Nordmann P, Ronco E, Naas T, Duport C, Michel-Briand Y, Labia R. Characterization of a novel extended-spectrum β -lactamase from *Pseudomonas aeruginosa*. *Antimicrob Agents Chemother* 1993;37:962-969.
62. Danel F, Hall LMC, Gür D, Akalın HE, Livermore DM. Transferable production of PER-1 β -lactamase in *Pseudomonas aeruginosa*. *J Antimicrob Chemother* 1995; 35: 281-294.
63. Danel F, Hall LMC, Gür D, Livermore DM. OXA-14, Another expanded-spectrum variant of OXA-10 (PSE-2) β -lactamase from *Pseudomonas aeruginosa*. *Antimicrob Agents Chemother* 1995;39:1881-1884.
64. Bennett P, Chopra I. Molecular basis of beta lactamase induction in bacteria. *Antimicrob Agents Chemother* 1993;37:153-158.
65. Papanicolaou GA, Medeiros AA, Jacoby GA. Novel plasmid-mediated beta-lactamase (MIR-1) conferring resistance to oxyimino and alphas-methoxy-beta-lactams in clinical isolates of *Klebsiella pneumoniae*. *Antimicrob Agents Chemother* 1990; 34:2200-2209.
66. Jones RN, Baquero F, Privitera G, Inoue M, Wiedemann B. Inducible beta lactamase mediated resistance to third generation cephalosporins. *Clin Microbiol Infect* 1997;3 (Suppl 1):S7-S20.
67. Rasmussen BA, Bush K. Carbapenem-hydrolyzing beta lactamases. *Antimicrob Agents Chemother* 1997;41:223-232.
68. Spencer RC, Bauernfeind A, Garcia-Rodriguez J, Jarlier V, Pfaller M, Turnidge J, et al. Surveillance of the current resistance of nosocomial pathogens to antibacterials. *Clin Microbiol Infect* 1997;3 (Suppl 1): S21-S33.
69. Du Bois SK, Marriott MS, Amyes SGB. TEM- and SHV-derived extended-spectrum β -lactamases: relationship between selection, structure and function. *J Antimicrob Chemother* 1995; 35: 7-22.

- 70.** Jacoby GA, Carreras I. Activities of β -lactam antibiotics againsts *Escherichia coli* strains producing extended-spectrum β -lactamases. *Antimicrob Agents Chemother* 1990;34:858-862.
- 71.** Page JWJ, FarmerTH, Elson SW. Hyperproduction of TEM-1 β -lactamases by *Escherichia coli* strains. *J Antimicrob Chemother* 1989; 23:160-161.
- 72.** Karchmer AW. Cephalosporins In: Mandel GL, Bennet JE, Dolin R, editors. *Principles and practice of infectious diseases*, fourth edition. New York: Livingstone, 1995: 247-264.
- 73.** Sirot DL, Goldstein FW, Soussy CJ, Courtieu AL, Husson MO, Lemozy J, et al. Resistance to cefotaxime and seven other beta-lactams in members of the family *Enterobacteriaceae*: a 3-year survey in France. *Antimicrob Agents Chemother* 1992;36:1677-1681.
- 74.** Rice LB, Willey SH, Papanicolaou GA, Medeiros AA, Eliopoulos GM, Moellering RC Jr, Jacoby GA. Outbreak of ceftazidime resistance caused by extended-spectrum beta-lactamases at a Massachusetts chronic-care facility. *Antimicrob Agents Chemother* 1990 ;34:2193-2199.
- 75.** Naumovski L, Quinn JP, Miyashiro D, Patel M, Bush K, Singer SB, Graves D, Palzkill T, Arvin AM. Outbreak of ceftazidime resistance due to a novel extended-spectrum beta-lactamase in isolates from cancer patients. *Antimicrob Agents Chemother* 1992;36:1991-1996.
- 76.** Meyer KS, Urban C, Eagan JA, Berger BJ, Rahal JJ. Nosocomial outbreak of *Klebsiella* infection resistant to late-generation cephalosporins. *Ann Intern Med* 1993;119:353-358.
- 77.** Sirot J, Chanal C, Peptit A, Sirot D, Labia R, Gerbaud G. *Klebsiella pneumoniae* and other *Enterobacteriaceae* producing novel plasmid-mediated beta lactamases markedly active against third-generation cephalosporins: epidemiologic studies. *Rev Infect Dis* 1988;10:850-859.
- 78.** Bush K. Is it important to identify extended-spectrum beta-lactamase-producing isolates ?. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 1996;15:361-364.
- 79.** Jacoby GA, Sutton L. Properties of plasmids responsible for extended-spectrum beta lactamase production. *Antimicrob Agents Chemother* 1991;35:164-168.

- 80.** Karas JA, Pillay DG, Muckart D, Sturm AW. Treatment failure due to extended spectrum beta-lactamase. *J Antimicrob Chemother* 1996 ;37:203-204
- 81.** Martinez-Martinez L, Hernandez-Alles S, Alberti S, Tomas JM, Benedi VJ, Jacoby GA. In vivo selection of porin-deficient mutants of *Klebsiella pneumoniae* with increased resistance to cefoxitin and expanded-spectrum-cephalosporins. *Antimicrob Agents Chemother* 1996;40:342-348.
- 82.** Pagon B, Bizet C, Bure A, Pichon F, Philippon A, Regnier B, et al. In vivo selection of a cephamycin-resistant, porin-deficient mutant of *Klebsiella pneumoniae* producing a TEM-3 beta-lactamase. *J Infect Dis* 1989;159:1005-1006.
- 83.** De Champs C, Sauvart MP, Chanal C, Sirot D, Gazuy N, Malhuret R, Baguet JC, Sirot J. Prospective survey of colonization and infection caused by expanded-spectrum-beta-lactamase-producing members of the family Enterobacteriaceae in an intensive care unit. *J Clin Microbiol* 1989;27:2887-2890
- 84.** Lucet JC, Chevret S, Decre D, Vanjak D, Macrez A, Bedos JP, Wolff M, Regnier B. Outbreak of multiply resistant enterobacteriaceae in an intensive care unit: epidemiology and risk factors for acquisition. *Clin Infect Dis* 1996;22:430-436.
- 85.** Montgomerie JZ. Epidemiology of *Klebsiella* and hospital-associated infections. *Rev Infect Dis* 1979;1:736.
- 86.** Garner JS, Jarvis WR, Emori TG, Horan TC, Hughes JM. CDC definitions for nosocomial infections, 1988. *Am J Infect Control* 1988;16:128-140.
- 87.** Lewis DB, Wilson CB. Developmental immunology and role of host defences in neonatal susceptibility to infection. In: Remington JS, Klein JO, editors. *Infectious diseases of the fetus and newborn infant*, fourth edition. Philadelphia: Saunders, 1995: 20-98.
- 88.** Baltimore RS. Neonatal nosocomial infections. *Semin Perinatol* 1998;22:25-32.
- 89.** Drews MB, Ludwig AC, Leititis JU, Daschner FD. Low birth weight and nosocomial infection of neonates in a neonatal intensive care unit. *J Hosp Infect* 1995;30:65-72.

90. Maguire GC, Nordin J, Myers MG, Koontz FP, Hierholzer W, Nassif E. Infections acquired by young infants. *Am J Dis Child* 1981;135:693-698.
91. Gaynes RP, Culver DH, Emori TG, Horan TC, Banerjee SN, Edwards JR, et al. The National Nosocomial Infections Surveillance System: plans for the 1990s and beyond. *Am J Med* 1991;91(Suppl 3B): S 116- S 120.
92. Goldmann DA, Durbin WA, Freeman J. Nosocomial infections in a neonatal intensive care unit. *J. Infect. Dis.* 1991;144:449-459.
93. Hoogkamp-Korstanje JA, Cats B, Senders RC, van Ertbruggen I. Analysis of bacterial infections in a neonatal intensive care unit. *J Hosp Infect* 1982;3:275-284.
94. Jarvis WR. Epidemiology of nosocomial infections in pediatric patients. *Pediatr Infect Dis J* 1987;6:344-351.
95. Freeman J, Goldmann DA, Smith NE, Sidebottom DG, Epstein MF, Platt R. Association of intravenous lipid emulsion and coagulase-negative staphylococcal bacteremia in neonatal intensive care units. *N Engl J Med* 1990;323:301-308.
96. Johnson DE, Thompson TR, Green TP. Systemic candidiasis in very low-birth-weight infants (<1,500 grams). *Pediatrics* 1984; 73:138-143.
97. Luginbuhl LM, Rotbart HA, Facklam RR, Roe MH, Elliot JA. Neonatal enterococcal sepsis: case-control study and description of an outbreak. *Pediatr Infect Dis J* 1987;6:1022-1026.
98. Garcia DC, Trevisan AR, Botto L, Cervetto M, Sarubbi MA, Zorzopulos J. An outbreak of multiply resistant *Pseudomonas aeruginosa* in a neonatal unit: plasmid pattern analysis. *J Hosp Infect* 1989;14:99-105.
99. Reish O, Ashkenazi S, Naor N, Samra Z, Merlob P. An outbreak of multiresistant *Klebsiella* in a neonatal intensive care unit. *J Hosp Infect* 1993;25:287-291.
100. Thompson PJ, Greenough A, Hird MF, Philpott-Howard J, Gamsu HR. Nosocomial bacterial infections in very low birth weight infants. *Eur J Pediatr* 1992;15:451-454.
101. Gray JE, Richardson DK, McCormick MC, Goldmann DA. Coagulase-negative staphylococcal bacteremia among very low birth weight infants: relation

to admission illness severity, resource use, and outcome. *Pediatrics* 1995;95:225-230.

102. Khadilkar V, Tudehope D, Fraser S. A prospective study of nosocomial infection in a neonatal intensive care unit. *J Paediatr Child Health* 1995;31:387-391.

103. Fanaroff AA, Korones SB, Wright LL, Wright EC, Poland RL, Bauer CB, et al. A controlled trial of intravenous immune globulin to reduce nosocomial infections in very-low-birth-weight infants. National Institute of Child Health and Human Development Neonatal Research Network. *N Engl J Med* 1994;330:1107-1113.

104. Knittle MA, Eitzman DV, Baer H. Role of hand contamination of personnel in the epidemiology of gram-negative nosocomial infections. *J Pediatr* 1975;86:433-437.

105. Blakey JL, Lubitz L, Barnes GL, Bishop RF, Campbell NT, Gillam GL. Development of gut colonisation in pre-term neonates. *J Med Microbiol* 1982;15:519-529.

106. Haley RW, Bregman DA. The role of understaffing and overcrowding in recurrent outbreaks of staphylococcal infection in a neonatal special-care unit. *J Infect Dis* 1982;145:875-885.

107. Stein F, Trevino R. Nosocomial infections in the pediatric intensive care unit. *Pediatr Critic Care* 1994;41:1245-1257.

108. Goossens H, Henocque G, Kremp L, Rocque J, Boury R, Alanio G, et al. Nosocomial outbreak of *Campylobacter jejuni* meningitis in newborn infants. *Lancet* 1986 19;2:146-149.

109. Donowitz LG, Marsik FJ, Fisher KA, Wenzel RP. Contaminated breast milk: A source of *Klebsiella* bacteremia in a newborn intensive care unit. *Rev Infect Dis* 1981;3:716-720.

110. Shlaes DM, Gerding DN, Jhon JF, Craig WA, Bornstein DL, Duncan RA, et al. Society for Healthcare Epidemiology of America and infectious diseases society of America joint committee on the prevention of antimicrobial resistance: Guidelines for the prevention of antimicrobial resistance in hospitals. *Clin Infect Dis* 1997; 25: 584-599.

- 111.** Mc Gowan JE. Antimicrobial resistance in hospital organisms and its relation to antibiotic use. *Rev Infect Dis* 1983;5:1033-1048.
- 112.** American Academy of Pediatrics. Prevention of neonatal ophthalmia. In: Peter G, editor. Report of the committee on infectious diseases: 1997 Red Book, 24th edition. Elk Grove Village, Ill., American Academy of Pediatrics, 1997:601-603.
- 113.** American Academy of Pediatrics and American College of man, RK, Poland RR, editors. Guidelines for Perinatal Care, three edition. Elk Grove Village Ill, American Academy of Pediatrics, 1992;141-175.
- 114.** Alder VG, Burman D, Simpson RA, Fysh J, Gillespie WA. Comparison of hexachlorophane and chlorhexidine powders in prevention of neonatal infection. *Arch Dis Child* 1980;55:277-280.
- 115.** Lockhart J. How toxic is hexachlorophene ?. *Pediatrics* 1972;50:229-235.
- 116.** Sprunt K, Redman W, Leidy G. Antibacterial effectiveness of routine handwashing. *Pediatrics* 1973;52:264-271.
- 117.** American Academy of Pediatrics and American College of Obstetricians and Gynecologist. Pospartum and followup care: visiting. In: Freeman RK, Poland RL. editors. Guidelines for Perinatal Care, thirty edition. Elk Grovea Village, Ill., American Academi of Pediatrics, 1992; 141-175.
- 118.** Fridkin SK, Welbel SF, Weinstein RA. Magnitude and prevention of nosocomial infections in the intensive care unit. *Infec Dis Clin North Am* 1997;11:479-496.
- 119.** Doebbeling BN, Stanley GL, Sheetz CT, Pfaller MA, Houston AK, Annis L et al. Comparative efficacy of alternative hand-washing agents in reducing nosocomial infections in intensive care units. *N Engl J Med* 1992;327:88-93.
- 120.** Coovadia YM, Johnson AP, Bhana RH, Hutchinson GR, George RC, Hafferjee IE. Multiresistant *Klebsiella pneumoniae* in a neonatal nursery: the importance of maintenance of infection control policies and procedures in the prevention of outbreaks. *J Hosp Infect* 1992;22:197-205.
- 121.** Hambræus A, Lagerqvist-Widh A, Zettersten U, Engberg S, Sedin G, Sjöberg L.

Spread of *Klebsiella* in a neonatal ward. *Scand J Infect Dis* 1991;23:189-194.

122. Johnson AP, Weinbren MJ, Ayling-Smith B, Du Bois SK, Amyes SG, George RC. Outbreak of infection in two UK hospitals caused by a strain of *Klebsiella pneumoniae* resistant to cefotaxime and ceftazidime. *J Hosp Infect* 1992;20:97-103.

123. Cook LN, Davis RS, Stöver BH. Outbreak of amikacin-resistant enterobacteriaceae in an intensive care nursery. *Pediatrics* 1980;65:264-268.

124. Neu HC. The crisis in antibiotic resistance. *Science* 1992; 257: 1064-1073.

125. Brun-Buisson C, Legrand P, Philippon A, Montravers F, Ansquer M, Duval J. Transferable enzymatic resistance to third-generation cephalosporins during nosocomial outbreak of multiresistant *Klebsiella pneumoniae*. *Lancet* 1987;2:302-306.

126. Burwen DR, Banerjee SN, Gaynes RP. Ceftazidime resistance among selected nosocomial gram-negative bacilli in the United States. National Nosocomial Infections Surveillance System. *J Infect Dis* 1994;170:1622-1625.

127. McKee KT Jr, Cotton RB, Stratton CW, Lavelly GB, Wright PF, Shenai JP et al. Nursery epidemic due to multiply-resistant *Klebsiella pneumoniae*: epidemiologic setting and impact on perinatal health care delivery. *Infect Control* 1982;3:150-156.

128. Bennet R, Eriksson M, Zetterström R. Bacterial aetiology of neonatal septicemia in relation to prior antibiotic treatment. *Acta Pediatr Scand* 1987;76:677-681.

129. Saravolatz LD, Arking L, Pohlod D, Fisher EJ, Borer R. An outbreak of gentamicin-resistant *Klebsiella pneumoniae*: analysis of control measures. *Infect Control* 1984;5:79-84.

130. Modi N, Damjanovic V, Cooke RWI. Outbreak of cephalosporin resistant *Enterobacter cloacae* infection in a neonatal intensive care unit. *Arch Dis Child* 1987; 62: 148-153.

131. Chetchotisak P, Phelps CL, Hartsein AI. Assessment of bacterial cross-transmission as a cause of infections in patients in intensive care units. *Clin Infect Dis* 1994;18:929-932.

- 132.** Goldmann DA. Bacterial colonization and infection in the neonate. *Am J Med* 1981;70:417-423.
- 133.** Leonard EM, van Saene HK, Shears P, Walker J, Tam PK. Pathogenesis of colonization and infection in a neonatal surgical unit. *Crit Care Med* 1990;18:264-269.
- 134.** Selden R, Lee S, Wang WL, Bennett JV, Eickhoff TC. Nosocomial klebsiella infections: intestinal colonization as a reservoir. *Ann Intern Med* 197;74:657-664.
- 135.** Johanson WG Jr, Pierce AK, Sanford JP, Thomas GD. Nosocomial respiratory infections with gram-negative bacilli. The significance of colonization of the respiratory tract. *Ann Intern Med* 1972;77:701-706.
- 136.** Goldmann DA, Durbin Jr WA, Freeman J. Nosocomial infections in a neonatal intensive care unit. *J Infect Dis* 1981;144:449-452.
- 137.** Goldmann DA, Leclair J, Macone A. Bacterial colonization of neonates admitted to an intensive care environment. *J Pediatr* 1978; 25:488-493.
- 138.** Rotimo VO, Duerden BI. The development of the bacterial flora in normal neonates. *J Med Microbiol* 1981;14:51-62.
- 139.** Zetterström R, Bennet R, Nord KE. Intestinal faecal microflora during infancy, influence of nutrition and other environmental factors. In: Graf R, Falkner R, Kleinman R, Koletzko B, Moran J, editors. *New perspectives in infant nutrition. Second International Symposium; 1993 Oct 6-8; La Manga Club, Murcia (Spain).* Madrid: Ediciones Ergon S.A, 1994:411-420.
- 140.** Norin KE, Gustafsoon BE, Lindblad BS, Midtvedt T. The establishment of some microflora associated biochemical characteristics in feces from children during the first years of life. *Acta Paediatr Scand* 1985;74:207-212.
- 141.** Bennet R, Nord CE, Zetterström R. Transient colonization of the gut of newborn infants by orally administered bifidobacteria and lactobacilli. *Acta Paediatr* 1992; 81: 784-787.
- 142.** Adlerberth I, Carlsson B, De Man P, Jalil F, Khan SK, Larsson P, et al. Intestinal colonization with Enterobacteriaceae in Pakistani and Swedish hospital-delivered infants. *Acta Paediatr Scand* 1991;80:602-610.

- 143.** Bennet R, Eriksson M, Zetterström R. Neonatal Septicemia: Comparison of onset and risk factors during three consecutive 5-year periods. *Acta Paediatr Scand* 1987;76:512-518.
- 144.** Sakata H, Yoshioka H, Fujita K. Development of the intestinal flora in very low birth weight infants compared to normal full-term newborns. *Eur J Pediatr* 1985;144:186-190.
- 145.** Bennet R, Eriksson M, Nord CE, Zetterström R. Fecal bacterial microflora of newborn infants during intensive care management and treatment with five antibiotic regimens. *Pediatr Infect Dis J* 1986;5:533-539.
- 146.** Bennet R, Eriksson M, Zetterström R. Bacterial etiology of neonatal septicemia in relation to prior antibiotic treatment. *Acta Paediatr Scand* 1987;76:673-674.
- 147.** Goldman DA, Leclair J, Macone A. Bacterial colonisation of neonates admitted to an intensive care environment. *J Pediatr* 1978;93:288-293.
- 148.** Bennet R, Eriksson M, Nord KE, Zetterström R. Suppression of aerobic and anaerobic faecal flora in newborns receiving parenteral gentamicin and ampicillin. *Acta Paediatr Scand* 1982;71:559-562.
- 149.** Bennet R, Eriksson M, Nord KE, Tafari N. Intestinal bacteria of newborn Ethiopian infants in relation to antibiotic treatment and colonisation by potentially pathogenic gram-negative bacteria. *Scand J Infect Dis* 1991;23:63-69.
- 150.** Bennet R, Nord KE, Zetterström R. Transient colonisation of the gut of newborn infants by orally administered *Bifidobacteria* and *Lactobacilli*. *Acta Paediatr* 1992;81:784-787.
- 151.** Slusser W, Powers NG. Breastfeeding update 1: immunology, nutrition, and advocacy. *Pediatrics in Review* 1997; 18: 111-119.
- 152.** Goldman AS. The immune system of human milk: antimicrobial, antiinflammatory and immunomodulating properties. *Pediatr Infect Dis J* 1993; 12:664-671.
- 153.** Yoshioka H, Iseki K, Fujita K. Development and differences of intestinal flora in the neonatal period in breast-fed and bottle-fed infants. *Pediatrics* 1983;72:317-321.

- 154.** Balmer SE, Wharton BA. Diet and faecal flora in the newborn: breast milk and infant formula. *Arch Dis Child* 1989; 64: 1672-1677.
- 155.** Evaldson G, Heimdahl A, Kager L, Nord CE. The normal human anaerobic microflora. *Scand J Infect Dis* 1982;35:9-15.
- 156.** Gareau FE, Mackel DC, Boring JR, Payne FJ, Hammet FL. The acquisition of fecal flora by infants from their mothers during birth. *J Pediatr* 1959;54:313-318.
- 157.** Lundequist B, Nord CE, Winberg J. Composition of the faecal microflora in breastfed and bottle fed infants from birth to eight weeks. *Acta Paediatr Scand* 1985;74:45-51.
- 158.** Shinebaum R, Cooke EM, Bryson JS. Acquisition of *Klebsiella aerogenes* by neonates. *J Med Microbiol* 1979; 12:201-208.
- 159.** Chierici R, Sawatzki G, Thurl S, Tovar K, Vigi V. Experimental milk formulae with reduced protein content and desialyated milk proteins: influence on the faecal flora and the growth of term newborn infants. *Acta Paediatr* 1997;86:557-563.
- 160.** Kunz C, Rudloff S. Biological functions of oligosaccharides in human milk. *Acta Paediatr* 1993; 82: 903-912.
- 161.** Balmer SE, Scott PH, Wharton BA. Diet and faecal flora in the newborn: casein and whey protein. *Arch Dis Child* 1989; 64: 1678-1684.
- 162.** Balmer SE, Scott PH, Wharton BA. Diet and faecal flora in the newborn: lactoferrin. *Arch Dis Child* 1989; 64: 1685-1690.
- 163.** Roberts AK, Chierici R, Sawatzki G, Hill MJ, Volpato S, Vigi V. Supplementation of an adapted formula with bovine lactoferrin: 1. Effect on the infant faecal flora. *Acta Paediatr* 1992;81:119-124.
- 164.** Goldman AS, Thorpe W, Goldblum M, Hanson LA. Anti-inflammatory properties of human milk. *Acta Paediatr Scand* 1986;75:689-695.
- 165.** Beachey EH. Bacterial adherence: adhesin-receptor interactions mediating the attachment of bacteria to mucosal surfaces. *J Infect Dis* 1981;143:325-345.
- 166.** Farmer JJ. Enterobacteriaceae: Introduction and identification. In: Patrick RM, editor. *Manual of clinical microbiology*. Sixth edition. Washington: ASM Press, 1995:438-449.
- 167.** National Committee for Clinical Laboratory Standards: Performance standards for antimicrobial disk susceptibility tests. Approved Standard M2-A6.

Sixth edition. Villanova PA: National Committee for Clinical Laboratory Standards, 1997.

168. Tullus K, Berglund B, Fryklund B, Kuhn I, Burman LG. Epidemiology of faecal strains of the family enterobacteriaceae in 22 neonatal wards and influence of antibiotic policy. *J Clin Microbiol* 1988; 26: 1166-1170.

169. Eriksson M, Melen AB, Myback KE, Winbladh B, Zetterström R. Bacterial colonisation of newborn infants in a neonatal intensive care unit. *Acta Paediatr Scand* 1982; 71 :779-783.

170. Gothefers L, Carlsson B, Ahlstedt S, Hanson LA, Winberg J. Influence of maternal gut flora and colostral and cord serum antibodies on presence of *Escherichia coli* in faeces of the newborn infant. *Acta Paediatr Scand* 1976;65:225-232.

171. Bennet R, Eriksson M, Nord KE, Zetterström R. Fecal bacterial microflora of newborn infants during intensive care management and treatment with five antibiotic regimens. *Pediatr Infect Dis* 1986;5:553-539.

172. Ahtonen P, Lehtonen O-P, Kero P, Eerola E, Hartiala K. *Clostridium perfringens* in stool, intrapartum antibiotics and their relation to gastrointestinal symptoms in a neonatal intensive care unit. *Acta Paediatr* 1994;83:389-390..

173. Bonten M., E Stobberingh, J Philips, Houben A. Antibiotic resistance of *Escherichia coli* in fecal samples of healthy people in two different areas in an industrialised country. *Infection* 1992;20:258-262.

174. Lester SC, Pla MP, Wang I, Schael P, Jiang H, O'Brein TF. The carriage of *Escherichia coli* resistant to antimicrobial agent by healthy children in Boston, in Caracas, Venezuela, and in Qin Pu, China. *N Engl J Med* 1990; 323:285-289.

175. Levy SB, Marshal B, Schluederberg S, Rowse D, Davis J. High frequency of antimicrobial resistance in human faecal flora. *Antimicrob Agents Chemother* 1988;32:1801-1806.

176. Reves R R, Murray B E, Pickering K, Prado D, Maddock M, Barlett AV. Children with trimethoprim- and ampicillin-resistant faecal *Escherichia coli* in day care centers. *J Infect Dis* 1987; 156:758-762.

- 177.** Amyes SGB, Tait S, Thomson CJ, Payne DJ, Nandivada LS, Jesudason MV, et al. The incidence of antibiotic resistance in aerobic faecal flora in South India. *J Antimicrob Chemother* 1992;29:415-425.
- 178.** Shanahan PMA, Wylie BA, Adrian PV, Koornhof HJ, Thompson CJ, Amyes SGB. The prevalence of antimicrobial resistance in human faecal flora in South Africa. *Epidemiol Infect* 1993;111:221-228.
- 179.** Pena C, Pujol M, Ricard A, Ardanuy C, Ayats J, Linares J, et al. Risk factors for faecal carriage of *Klebsiella pneumoniae* producing extended spectrum beta-lactamase (ESBL-KP) in the intensive care unit. *J Hosp Infect* 1997;35:9-16.
- 180.** Kaygusuz A, Öngen B, Gürler N, Töreci K. Çocuk hastalardan izole edilen *Enterobacteriaceae* suşlarında genişlemiş spektrumlu beta-laktamaz sıklığı. *Ankem Derg* 1997;11:432-444.
- 181.** Sirot DL. Extended spectrum plasmid mediated β -lactamases. *J Antimicrob Chemother* 1995;36 (Suppl A):S19-S25.
- 182.** Livermore DM, Yuan M. Antibiotic resistance and production of extended-spectrum β -lactamases amongst *Klebsiella* spp. from intensive care units in Europe. *J Antimicrob Chemother* 1996;38:409-413.
- 183.** Özkan H, Duman N, Abacıoğlu H, Çelikkol B, Songur M. Yenidoğan yoğun bakım ünitesinde antibiyotik kullanımı. *Dokuz Eylül Tıp Fakültesi Dergisi* (baskıda)
- 184.** Ahtonen P, Lehtonen OP, Kero P, Eerola E, Hartiala K. *Clostridium perfringens* in stool, intrapartum antibiotics and gastrointestinal signs in a neonatal intensive care unit. *Acta Paediatr* 1992; 81: 784-787.
- 185.** Borderon JC, Bernard JC, Vergnaud R, Gold F, Soutoul JH, Laugier J. Effect of antibiotic therapy in the mother on the colonisation of the newborn by *enterobacteriaceae*. *Arch Fr Pediatr* 1980; 37: 371-376.
- 186.** Livermore DM. Beta lactamases in laboratory an clinical resistance. *Clin Microb Rev* 1995; 8:557-584.
- 187.** Pena C, Pujol M, Ardunay C, Ricart A, Pallares R, Linares J, et al. Epidemiology and successful control of a large outbreak due to *Klebsiella pneumoniae* producing extended spectrum beta- lactamases. *Antimicrob Agents Chemother* 1998;42:53-58.

- 188.** Lundewuist B, Nord KE, Winberg J. The composition of the faecal microflora in breastfed and bottlefed infants from mucosal surfaces. *J Infect Dis* 1981;143:325-345.
- 189.** Freij BJ, McCracken GH. Acute infections. In: Avery GB, Fletcher MA, Macdonald MG, editors. *Neonatology pathophysiology and management of the newborn*, fourth edition. Philadelphia: Lippincott, 1994:1082-1116.
- 190.** Klein JO, Marcy SM. Bacterial sepsis and meningitis. In: Remington JS, Klein JO, editors. *Infectious diseases of the fetus and newborn infant*, fourth edition. Philadelphia: Saunders, 1995: 835-890.



Hasta Adı	Protokol no	Ges. Yaş (hafta)	Doğum Ağırlığı (gr)	Doğum şekli	Cinsiyet	EMR	Maternal Antibiy.	Yatış süresi (gün)	Antibiy. kullanımı	Anti. kul. süresi (gün)	NG	NG süre (gün)	Anne sütü	Kültür1	ESBL1	Kültür2	ESBL2	Kültür3	ESBL3	Kültür4	ESBL4
B. Işık	701226	28	1,330	C/S	E	H	H	59	E	22	E	25	E	yok	N	yok	N	E. coll	P	E. coll	N
B. Özpelebi		37	2,400	C/S	K	H	H	5	H	-	H	-	E	yok	N	yok	N	E. coll	N		
B. Özen	706362	37	2,450	C/S	E	E	H	12	E	10	E	4	E	Kleb. spp.	N	Kleb. spp.	N				
B. Öztura	707189	28	930	C/S	K	E	E	70	E	10	E	28	E	Kleb. spp.	N	Kleb. spp.	P				
B. Haseken	705001	29	1,400	NaVD	E	H	H	28	E	12	E	20	H	Kleb. spp.	N	Kleb. spp.	N	Kleb. spp.	P		
B. Çoban	701446	37	2,450	C/S	E	H	H	10	E	7	H	-	H	yok	N	Kleb. spp.	P				
B. Çitir	700382	32	1,695	C/S	K	H	H	39	E	18	E	7	H	yok	N	yok	N	E. coll	P		
B. Yıldız-2	703807	33	1,980	C/S	K	H	H	12	E	7	E	3	E	yok	N	yok	N	Kleb. spp.	N		
B. Yıldız-1	703805	33	1,185	C/S	K	H	H	32	E	7	E	10	E	yok	N	Kleb. spp.	N	Kleb. spp.	N	Kleb. spp.	P
B. Uludağ	701448	32	1,930	NaVD	K	H	H	8	H	-	H	-	E	yok	N	yok	N	Kleb. spp.	P		
B. Kocabaş	699268	27	1,260	NaVD	K	H	H	62	E	13	E	10	E	yok	N	yok	N	Kleb. spp.	P		
B. Helvacı	705080	37	2,400	C/S	K	H	H	3	H	-	H	-	E	Kleb. spp.	N	Kleb. spp.	N				
B. Üstünbulut-1	723165	31	1,270	C/S	K	E	H	39	E	7	E	33	E	yok	N	E. coll	P	E. coll	P	Kleb. spp.	N
B. Üstünbulut-2	723166	31	1,300	C/S	E	E	H	36	H	-	E	33	E	E. coll	P	E. coll	P	E. coll	N	E. coll	N
B. Üstünbulut-3	723167	31	1,370	C/S	K	E	H	36	H	-	E	28	E	Kleb. spp.	P	E. coll	P	E. coll	P	E. coll	N
B. Özyıldız	722428	30	1,310	C/S	E	E	H	40	E	3	E	35	E	E. coll	N	E. coll	P	E. coll	P	E. coll	N
B. Karaloğlu	724137	30	1,350	C/S	K	E	H	40	E	7	E	36	E	yok	N	E. coll	P	E. coll	P	E. coll	P
B. Kaşap	728984	34	1,475	C/S	K	H	H	17	H	-	E	7	H	yok	N	E. coll	N	E. coll	N	E. coll	N
B. Akın-1	731994	35	2,060	C/S	E	H	E	9	H	-	H	-	E	E. coll	P	E. coll	N	Kleb. spp.	N		
B. Akın-2	731995	35	1,775	C/S	E	H	E	21	H	-	H	-	E	E. coll	P	E. coll	N	Kleb. spp.	N	E. coll	N
B. Akın-3	731996	35	1,770	C/S	E	H	E	21	H	-	H	-	E	yok	N	Kleb. spp.	N	Kleb. spp.	N	Kleb. spp.	N
B. Uğur	729587	32	2,080	C/S	E	E	E	9	E	10	E	5	E	yok	N	E. coll	P	Kleb. spp.	N	Kleb. spp.	N
B. Gökçimen	728458	35	1,895	C/S	K	H	E	13	E	7	E	9	E	yok	N	E. coll	P	E. coll	N	Kleb. spp.	N
B. Çelik	728410	35	1,910	C/S	K	E	H	10	E	10	E	5	E	yok	N	yok	N	yok	N	yok	N
B. Karadeniz	728878	35	1,565	C/S	K	H	H	28	E	10	E	23	E	yok	N	Kleb. spp.	N	E. coll	N		
B. Futbolcu	730838	33	1,860	C/S	E	H	E	20	E	5	E	8	E	E. coll	N	Kleb. spp.	N	Kleb. spp.	N	E. coll	N
B. Karabudak	730511	34	1,980	NaVD	E	H	H	11	E	7	E	7	E	yok	N	Kleb. spp.	P	E. coll	P	E. coll	N
B. Astık-1	735329	33	1,280	NaVD	E	H	H	25	E	7	E	5	H	yok	N	Kleb. spp.	P				
B. İşikli	734821	37	1,580	C/S	K	H	H	14	E	7	H	-	H	yok	N	E. coll	N	Kleb. spp.	P		
B. Canlı	735112	37	2,200	C/S	E	H	H	15	E	10	H	-	E	yok	N	yok	N	Kleb. spp.	P	Kleb. spp.	N
B. Kankale-1	737371	34	1,885	C/S	K	H	E	7	E	5	H	-	E	yok	N	E. coll	P	E. coll	N		
B. Kankale-2	737372	34	1,880	C/S	K	H	E	7	E	-	H	-	E	yok	N	E. coll	P	E. coll	N		
B. Akbulut	735277	32	1,600	C/S	K	E	E	16	E	9	H	-	E	yok	N	Kleb. spp.	P	E. coll	N		
B. Yaman	735148	32	2,300	C/S	K	H	H	12	E	10	H	-	H	yok	N	yok	N	E. coll	N	E. coll	N
B. Astık-2	735330	33	1,510	NaVD	E	H	H	34	E	16	E	9	H	yok	N	E. coll	P	E. coll	N		
B. Tuna-1	736604	34	1,560	C/S	K	H	H	16	E	10	E	3	E	yok	N	yok	N	Kleb. spp.	N	Kleb. spp.	N
B. Tuna-2	736605	34	2,290	C/S	K	H	H	16	H	-	H	-	E	yok	N	yok	N	Kleb. spp.	N		
B. Emür	738062	32	1,745	NaVD	K	H	H	7	E	7	H	-	E	E. coll	P	E. coll	N	E. coll	N		

E: evet, H: hayır, K: kız, E: erkek, N:negatif, P: pozitif, k.y:kolonizasyon yok, Kleb.spp.: Klebsiella spp., ESBL: Genişlemiş spektrumlu beta-laktamaz

Hasta Adı	Protokol no	Ges. Yaş (hafta)	Doğum Ağır.gr	Doğum şekil	Cinsiyet	EWK	maternal Antibiy.	Yatış süre(gün)	Yatış kullanımı	adresi(gün)	gün	adeti	ky	N	Kleb. spp	P	Kleb. spp	P	Kleb. spp	P	Kleb. spp	P	Kleb. spp	P
B.Türk	692081	39	3.500	NaVD	K	H	H	2	H	-	H	E	ky	N	Kleb. spp	P	Kleb. spp	P	Kleb. spp	P	Kleb. spp	P	Kleb. spp	P
B.Sağsoy	300431	38	3.200	C/S	K	H	H	2	H	-	H	E	ky	N	Kleb. spp	P	Kleb. spp	P	Kleb. spp	P	Kleb. spp	P	Kleb. spp	P
B.Dibak	298617	39	3.400	C/S	K	H	E	4	H	-	H	E	Kleb. spp	N	Kleb. spp	P	Kleb. spp	P	Kleb. spp	P	Kleb. spp	P	Kleb. spp	P
B.Küçük	698444	39	3.600	NaVD	K	H	H	2	H	-	H	E	ky	N	Kleb. spp	P	Kleb. spp	P	Kleb. spp	P	Kleb. spp	P	Kleb. spp	P
B.Güzelalp	603288	39	3.300	C/S	K	H	H	5	H	-	H	E	ky	N	Kleb. spp	P	Kleb. spp	P	Kleb. spp	P	Kleb. spp	P	Kleb. spp	P
B.Akay	595342	39	3.700	C/S	E	H	H	5	H	-	H	E	ky	N	Kleb. spp	P	Kleb. spp	P	Kleb. spp	P	Kleb. spp	P	Kleb. spp	P
B.Özçelebi	3355116	38	3.950	C/S	E	H	H	3	H	-	H	E	ky	N	Kleb. spp	P	Kleb. spp	P	Kleb. spp	P	Kleb. spp	P	Kleb. spp	P
B.Çirif	303109	41	3.400	NaVD	K	H	E	3	H	-	H	E	E.coli	P	Kleb. spp	P	Kleb. spp	P	Kleb. spp	P	Kleb. spp	P	Kleb. spp	P
B.Babalık	677352	38	3.200	C/S	K	H	E	2	H	-	H	E	ky	N	Kleb. spp	P	Kleb. spp	P	Kleb. spp	P	Kleb. spp	P	Kleb. spp	P
B.Ersoy	684516	39	3.200	NaVD	E	H	H	2	H	-	H	E	E.coli	P	Kleb. spp	P	Kleb. spp	P	Kleb. spp	P	Kleb. spp	P	Kleb. spp	P
B.Yeşil	698988	39	3.200	NaVD	K	H	E	2	H	-	H	E	Kleb. spp	P	Kleb. spp	P	Kleb. spp	P	Kleb. spp	P	Kleb. spp	P	Kleb. spp	P
B.İçli	372912	38	2.950	C/S	K	H	E	5	H	-	H	E	ky	N	Kleb. spp	P	Kleb. spp	P	Kleb. spp	P	Kleb. spp	P	Kleb. spp	P
B.Yılmazmı	217982	40	3.600	C/S	E	H	H	4	H	-	H	E	ky	N	Kleb. spp	P	Kleb. spp	P	Kleb. spp	P	Kleb. spp	P	Kleb. spp	P
B.Davutcu	732674	39	3.300	NaVD	K	H	H	3	H	-	H	E	ky	N	Kleb. spp	P	Kleb. spp	P	Kleb. spp	P	Kleb. spp	P	Kleb. spp	P
B.Ulu	131986	39	3.050	C/S	E	H	E	4	H	-	H	E	ky	N	Kleb. spp	P	Kleb. spp	P	Kleb. spp	P	Kleb. spp	P	Kleb. spp	P
B.Kaçmaz	507030	39	3.200	NaVD	E	H	H	2	H	-	H	E	ky	N	Kleb. spp	P	Kleb. spp	P	Kleb. spp	P	Kleb. spp	P	Kleb. spp	P
B.Karabiber	682776	39	2.400	C/S	K	H	E	4	H	-	H	E	ky	N	Kleb. spp	P	Kleb. spp	P	Kleb. spp	P	Kleb. spp	P	Kleb. spp	P
B.Altınok	701617	41	4.000	NaVD	E	H	H	3	H	-	H	E	Kleb. spp	P	Kleb. spp	P	Kleb. spp	P	Kleb. spp	P	Kleb. spp	P	Kleb. spp	P
B.Cansız	702223	39	3.750	C/S	E	H	H	5	H	-	H	E	ky	N	Kleb. spp	P	Kleb. spp	P	Kleb. spp	P	Kleb. spp	P	Kleb. spp	P
B.Mercan	216074	38	3.300	NaVD	E	H	H	3	H	-	H	E	Kleb. spp	P	Kleb. spp	P	Kleb. spp	P	Kleb. spp	P	Kleb. spp	P	Kleb. spp	P
B.Karaca	277389	38	3.200	NaVD	E	H	E	3	H	-	H	E	E.coli	P	Kleb. spp	P	Kleb. spp	P	Kleb. spp	P	Kleb. spp	P	Kleb. spp	P
B.Karakı	682541	38	4.100	NaVD	K	E	H	3	H	-	H	E	E.coli	P	Kleb. spp	P	Kleb. spp	P	Kleb. spp	P	Kleb. spp	P	Kleb. spp	P
B.Çetin	274297	39	3.100	NaVD	K	E	H	2	H	-	H	E	E.coli	P	Kleb. spp	P	Kleb. spp	P	Kleb. spp	P	Kleb. spp	P	Kleb. spp	P
B.Sensoy	702424	40	3.500	NaVD	K	H	H	2	H	-	H	E	E.coli	P	Kleb. spp	P	Kleb. spp	P	Kleb. spp	P	Kleb. spp	P	Kleb. spp	P
B.Akay	531379	40	3.400	C/S	K	H	E	4	H	-	H	E	E.coli	P	Kleb. spp	P	Kleb. spp	P	Kleb. spp	P	Kleb. spp	P	Kleb. spp	P
B.Erden	674163	39	2.800	C/S	K	H	H	4	H	-	H	E	ky	N	Kleb. spp	P	Kleb. spp	P	Kleb. spp	P	Kleb. spp	P	Kleb. spp	P
B.Erdoğan	524144	40	3.050	C/S	K	H	H	3	H	-	H	E	ky	N	Kleb. spp	P	Kleb. spp	P	Kleb. spp	P	Kleb. spp	P	Kleb. spp	P
B.Tanıkulu	683938	40	2.900	C/S	E	H	H	4	H	-	H	E	ky	N	Kleb. spp	P	Kleb. spp	P	Kleb. spp	P	Kleb. spp	P	Kleb. spp	P
B.Taş	653676	40	3.000	C/S	E	H	H	3	H	-	H	E	Kleb. spp	N	Kleb. spp	P	Kleb. spp	P	Kleb. spp	P	Kleb. spp	P	Kleb. spp	P
B.Gürbüz	216703	40	3.850	NaVD	K	H	E	2	H	-	H	E	ky	N	Kleb. spp	P	Kleb. spp	P	Kleb. spp	P	Kleb. spp	P	Kleb. spp	P
B.Çaypınar	700845	40	2.650	NaVD	E	H	H	2	H	-	H	E	E.coli	P	Kleb. spp	P	Kleb. spp	P	Kleb. spp	P	Kleb. spp	P	Kleb. spp	P
B.Malat	219187	40	3.600	NaVD	E	H	H	2	H	-	H	E	E.coli	P	Kleb. spp	P	Kleb. spp	P	Kleb. spp	P	Kleb. spp	P	Kleb. spp	P
B.Güngör	523825	38	3.350	C/S	E	H	H	5	H	-	H	E	ky	N	Kleb. spp	P	Kleb. spp	P	Kleb. spp	P	Kleb. spp	P	Kleb. spp	P
B.Soylu	172627	39	2.800	NaVD	K	H	H	3	H	-	H	E	ky	N	Kleb. spp	P	Kleb. spp	P	Kleb. spp	P	Kleb. spp	P	Kleb. spp	P
B.Ayler	556400	40	3.750	NaVD	K	H	H	1	H	-	H	E	ky	N	Kleb. spp	P	Kleb. spp	P	Kleb. spp	P	Kleb. spp	P	Kleb. spp	P
B.Ayıldız	703496	40	3.200	NaVD	E	H	H	2	H	-	H	E	E.coli	P	Kleb. spp	P	Kleb. spp	P	Kleb. spp	P	Kleb. spp	P	Kleb. spp	P
B.Sakarya	702398	38	3.100	C/S	K	H	E	4	H	-	H	E	ky	N	Kleb. spp	P	Kleb. spp	P	Kleb. spp	P	Kleb. spp	P	Kleb. spp	P
B.Yılmaz	689374	40	4.000	NaVD	E	H	H	2	H	-	H	E	Kleb. spp	P	Kleb. spp	P	Kleb. spp	P	Kleb. spp	P	Kleb. spp	P	Kleb. spp	P
B.Elim		39	3.250	C/S	K	H	H	5	H	-	H	E	Kleb. spp	N	Kleb. spp	P	Kleb. spp	P	Kleb. spp	P	Kleb. spp	P	Kleb. spp	P
B.Büyükkam.	695574	39	3.000	C/S	K	H	H	4	H	-	H	E	ky	N	Kleb. spp	P	Kleb. spp	P	Kleb. spp	P	Kleb. spp	P	Kleb. spp	P
B.Şenay	687167	38	2.900	NaVD	K	E	H	2	H	-	H	E	ky	N	Kleb. spp	P	Kleb. spp	P	Kleb. spp	P	Kleb. spp	P	Kleb. spp	P
B.Seymen	635938	39	3.400	C/S	E	H	H	4	H	-	H	E	ky	N	Kleb. spp	P	Kleb. spp	P	Kleb. spp	P	Kleb. spp	P	Kleb. spp	P
B.Gençhan	666545	39	4.100	C/S	E	H	H	4	H	-	H	E	Kleb. spp	P	Kleb. spp	P	Kleb. spp	P	Kleb. spp	P	Kleb. spp	P	Kleb. spp	P
B.Çetin	731148	38	3.450	C/S	E	H	E	3	H	-	H	E	E.coli	P	Kleb. spp	P	Kleb. spp	P	Kleb. spp	P	Kleb. spp	P	Kleb. spp	P

E: evet, H: hayır, K: kız, E: erkek, N:negatif, P: pozitif, k.y:kolonizasyon yok, Kleb.spp.: Klebsiella spp., ESBL: Genişlemiş spektrumlu beta-laktamaz



Haemophilus türleri, *Neisseria Gonorrhoeae* ve Streptokoklar Dışındaki Bakteriler İçin
Zon çapları ve Eşdeğer MİK Değerlendirme Kriterleri

İyotluk	Disk İçeriği	Zon Çapları			Eşdeğer MİK Konsantrasyonları (µg/ml)	
		Dirençli	Orta Duyarlı	Duyarlı	Dirençli	Duyarlı
LAKTAMLAR, PENİSİLİNLER						
İlin*						
terobacteriaceae'lar test edildiğinde	10µg	≤13	14-16	≥17	≥32	≤8
afilokoklar** test edildiğinde	10µg	≤28	-	≥29	beta-laktamaz*	≤0.25
terokoklar* test edildiğinde	10µg	≤16	-	≥17*	≥16	8
terla monocytogenes test edildiğinde	10µg	≤19	-	≥20	≥4	≤2
n						
eruginosa* test edildiğinde	75µg	≤17	-	≥18	≥128	≤64
İsİlin*						
eruginosa test edildiğinde	100µg	≤13	14-16	≥17	≥512	≤128
ğer gram negatifler test edildiğinde	100µg	≤19	20-22	≥23	≥64	≤16
n (stafilokoklar test edildiğinde)*	5µg	≤9	10-13	≥14	≥16	≤8
İlin						
eruginosa* test edildiğinde	75µg	≤15	-	≥16	≥128	≤64
ğer gram negatifler test edildiğinde	75µg	≤17	18-20	≥21	≥128	≤16
ı (stafilokoklar test edildiğinde)*	1µg	≤10	11-12	≥13	-	≤1
İln (stafilokoklar test edildiğinde)*	1µg	≤10	11-12	≥13	≥4	≤2
İn						
afilokoklar** test edildiğinde	10 IU	≤28	-	≥29	Beta-laktamaz*	≤0.1
terokoklar* test edildiğinde	10 IU	≤14	-	≥15*	≥16	-
terla monocytogenes test edildiğinde	10 IU	≤19	-	≥20	≥4	≤2
İsİlin*						
eruginosa* test edildiğinde	100µg	≤17	-	≥18	≥128	≤16
ğer gram negatifler test edildiğinde	100µg	≤17	18-20	≥21	≥128	≤64
İln*						
eruginosa* test edildiğinde	75µg	≤14	-	≥15	≥128	≤16
ğer gram negatifler test edildiğinde	75µg	≤14	15-19	≥20	≥128	≤4/2
LAKTAM/BETA-LAKTAMAZ İNHİBİTÖR KOMBİNASYONLARI						
İsİlin/klavulanik asid*						
afilokoklar* test edildiğinde	20/10µg	≤19	-	≥20	≥8/4	≤8/4
ğer organizmalar test edildiğinde	20/10µg	≤13	14-17	≥18	≥16/8	≤8/4
İln/sulbaktam*						
am negatif enterikler ve Stafilokoklar*	10/10µg	≤11	12-14	≥15	≥32/16	≤64/4
İsİlin/tazobaktam						
eruginosa* test edildiğinde	100/10µg	≤17	-	≥18	≥128/4	≤16/4
ğer gram negatifler test edildiğinde	100/10µg	≤17	18-20	≥21	≥128/4	≤8/4
afilokoklar* test edildiğinde	100/10µg	≤17	-	≥18	≥16/4	≤64/2
İn/klavulanik asid						
eruginosa* test edildiğinde	75/10µg	≤14	-	≥15	<128/2	≤16/2
ğer gram negatifler test edildiğinde	75/10µg	≤14	15-19	≥20	≥128/2	≤8/2
afilokoklar* test edildiğinde	75/10µg	≤22	-	≥23	≥16/2	≤8
İLİLER (SEFALOSPORİNLER DAHİL)						
İr*	30µg	≤14	15-17	≥18	≥32	≤8
İndol*	30µg	≤14	15-17	≥18	≥32	≤8
İln*	30µg	≤14	15-17	≥18	≥32	≤8

2-A6) Ek 4: NCCLS kriterleri (devam)



Antibiyotik	Disk İçeriği	Zon Çapları			Eşdeğer Mik Konsantrasyonları (µg/ml)	
		Dirençli	Orta Duyarlı	Duyarlı	Dirençli	Duyarlı
Amikasin*	30µg	≤14	15-17	≥18	≥32	≤8
Amikasin*	10µg	≤14	15-17	≥18	≥16	≤4
Amikasin*	5µg	≤15	16-18	≥19	≥4	≤1
Amikasin*	30µg	≤12	13-15	≥16	≥64	≤16
Amikasin*	30µg	≤14	15-17	≥18	≥32	≤8
Amikasin*	75µg	≤15	16-20	≥21	≥64	≤16
Amikasin*	30µg	≤14	15-22	≥23	≥64	≤8
Amikasin*	30µg	≤12	13-15	≥16	≥64	≤16
Amikasin*	30µg	≤14	15-17	≥18	≥32	≤8
Amikasin*	10µg	≤17	18-20	≥21	≥8	≤2
Amikasin*	30µg	≤14	15-17	≥18	≥32	≤8
Amikasin*	30µg	≤14	15-17	≥18	≥32	≤8
Amikasin*	30µg	≤17	18-20	≥21	≥32	≤8
Amikasin*	30µg	≤14	15-19	≥20	≥32	≤8
Amikasin*	30µg	≤13	14-20	≥21	≥64	≤8
Amikasin*	30µg	≤14	15-22	≥23	≥32	≤4
Amikasin*	30µg	≤14	15-17	≥18	≥32	≤8
Amikasin*	30µg	≤14	15-17	≥18	≥32	≤8
Amikasin*	30µg	≤14	15-17	≥18	≥32	≤8
Amikasin*	30µg	≤14	15-22	≥23	≥64	≤8
ARBEPENEMLER						
Amikasin*	10µg	≤13	14-15	≥16	≥16	≤4
GNOBAKTAMLAR						
Amikasin	30µg	≤15	16-21	≥22	≥32	≤8
GLİKOPEPTİDLER						
Amikasin*	30µg	≤10	11-13	≥14	≥32	≤8
Amikasin	30µg	≤14	15-16	≥17	≥32	≤4
Amikasin	30µg	≤9	10-11	≥12	≥32	≤4
İNNOGLİKOZİDLER						
Amikasin	30µg	≤14	15-16	≥17	≥32	≤16
Amikasin	120µg	≤6	7-9	≥10	>500	≤500

TEŐEKKÖR

Uzmanlık eğitimin süresince deneyim ve bilgilerini aktararak yetişmemde büyük emeği olan, hiçbir konuda yardım ve desteğini esirgemeyen Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalı Başkanı Sayın Prof. Dr. Gülersu İRKEN'e, Sayın Prof. Dr. Necla ÇEVİK'e ve tüm öğretim üyelerine, tez konumun seçimi ve çalışmalarımın yürütölmesinde değerli katkı ve yardımlarını esirgemeyen, tez danışmanım Doç. Dr. Hasan ÖZKAN' a, mikrobiyolojik verilerin elde edilmesi ve değerlendirilmesindeki değerli katkı ve yardımlarından dolayı Doç. Dr. Hakan ABACIOĞLU' na, örneklerin işlemlenmesindeki üstün gayret ve çalışmalarından dolayı Dr. Meral KARAMAN' a ve çalışma materyallerinin teminindeki desteklerinden dolayı Pfizer ilaç A.Ő' e sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Dr. Murat DUMAN