

# KAN KÜLTÜRLERİNDEN İZOLE EDİLEN *KLEBSIELLA PNEUMONIAE* SUŞLARINDA GENİŞLEMİŞ SPEKTRUMLU BETA-LAKTAMAZLARIN BELİRLENMESİNDE ÜÇ YÖNTEMİN KARŞILAŞTIRILMASI

Ferhat IŞIK, Uğur ARSLAN, İnci TUNCER

Selçuk Üniversitesi Meram Tıp Fakültesi, Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, KONYA

## ÖZET

Yatan hastaların kan kültür örneklerinden soyutlanan *Klebsiella pneumoniae* suşlarında GSBL sıklığı, GSBL saptanmasında çift disk sinerji testi (ÇDST), kombine (modifiye) disk sinerji testi ve CT/CTL E-testin karşılaştırılması amaçlanmıştır.

Laboratuvarımızda izole edilen 102 *Klebsiella pneumoniae* suşunda kombine (modifiye) disk sinerji testi ile % 63.7 oranında GSBL varlığı tespit edilmiştir. ÇDST ve E-test yöntemlerinin kombine disk yöntemine göre seçicilikleri % 100, duyarlılıkları ise çift disk sinerji testinde % 96.9, CT/CTL E-test yönteminde ise % 93.9 olarak saptanmıştır. Üç yöntemin tutarlılık analizlerinde istatistiksel olarak birbirleriyle uyumlu olduğu görülmüş, gözlenen tutarlılıkları % 95'in üzerinde bulunmuştur ( $p<0.05$ ).

GSBL tespitinde, rutin antibiyogramda disk dizilimleri değiştirilerek uygulanan ÇDST; hızlı, ucuz ve güvenilir bir yöntem olarak değerlendirilmiş ve kuşkulu suşlara ek olarak kombine (modifiye) disk sinerji testinin de uygulanması ile duyarlılığın daha da yükselebileceği sonucuna varılmıştır.

**Anahtar sözcükler:** çift disk sinerji testi, E-test, genişlemiş spektrumlu beta-laktamaz, kombine disk sinerji testi

## SUMMARY

### Comparison of Three Methods in Detection of Extended-Spectrum Beta-lactamases in *Klebsiella pneumoniae* Strains Isolated from Blood Cultures

This study was carried out to compare the double disk synergy test, combined (modified) disk synergy test, CT/CTL E-test methods for detection of extended-spectrum beta-lactamases (ESBL) in *Klebsiella pneumoniae* strains isolated from hospitalized patient's blood cultures.

One hundred and two *Klebsiella pneumoniae* strains were isolated from blood samples sent from different clinical departments. GSBL was observed in 63.7 % of isolates with combined disk synergy test. The specificity of double disk synergy test and E-test methods with respect to combined disk synergy test was 100 %, sensitivity was 96.9 % in double disk synergy test and 93.9 % in E-test. All three methods were statistically consistent with each other with a 95 % consistency ( $p<0.05$ ).

For GSBL detection; double disk synergy test is cost-effective, simple and sensitive but especially for suspected strains combined disk synergy test could be used with double disk synergy test to increase the sensitivity of the tests.

**Keywords:** combined disk synergy test, double disk synergy method, E-test, extended-spectrum beta-lactamase

## GİRİŞ

Günümüzde bakterilerin beta-laktam antibiyotiklere karşı direnç geliştirmesindeki en

önemli mekanizma beta-laktamaz üretimidir. Beta-laktamaz enzimi üreten Gram negatif bakteriler, penisilinleri ve 1. kuşak sefalosporinleri aktif bir biçimde parçaladıkları halde sefotak-

**Yazışma adresi:** İnci Tuncer, Selçuk Üniversitesi Meram Tıp Fakültesi, Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, KONYA

Tel.: (0332) 223 67 80, (0532) 683 00 28

e-posta: incituncer@yahoo.com

Alındığı tarih: 15.08.2007, revizyon kabulü: 20.09.2007

sim, seftazidim ve aztreonam gibi geniş spektrumlu beta-laktam ajanlara etkileri yetersizdir. Fakat 1980'li yıllardan başlayarak geniş spektrumlu beta-laktam ajanların kliniklerde yaygın kullanımları sonucunda, bu ana enzimleri kodlayan genlerdeki nokta mutasyonlarına bağlı olarak yeni enzimler türemiştir. Bu enzimler "genişlemiş spektrumlu beta-laktamazlar (GSBL)" olarak adlandırılmaktadır<sup>(7,8)</sup>. GSBL'ler geniş spektrumlu penisilinazların türevleridir ve çoğu TEM ya da SHV enzimlerinden köken almaktadır<sup>(6)</sup>. Son yıllarda aminoasit sekanslama çalışmaları sonucunda GSBL 9 farklı yapısal veya gelişimsel grup içinde araştırılmaktadır. Bunlar TEM, SHV, CTX-M, OXA, PER, VEB, GES, TLA ve BES aileleridir. Bunlar da kendi içinde alt tiplere ayrılmaktadır. Örneğin; yaklaşık 90'ın üzerinde TEM-tipi ve 25'in üzerinde SHV-tipi beta-laktamaz enzimi bulunmaktadır<sup>(8)</sup>.

GSBL salgılayan suşların saptanması için klavulanik asidin bu enzimlerin aktivitesini inhibe etmesi temeline dayanan çeşitli yöntemler kullanılmaktadır. GSBL saptanmasında kullanılan yöntemlerin duyarlılık ve özgüllükleri de değişmektedir. Standart disk difüzyon testleri GSBL üretimini % 48 oranında yakalayabilmektedir. Bu nedenle bu enzimleri tespit etmek için ilave testlere ihtiyaç vardır. GSBL üretimini belirlemek için en sık uygulanan test çift disk sinerji testi (ÇDST)'dir. Ancak bu testin optimal disk uzaklığı konusunda tam bir standardizasyon yoktur<sup>(9)</sup>.

Bu çalışmada, yatan hastaların kan kültürlerinden izole edilen *Klebsiella pneumoniae* suşlarında GSBL varlığının tespitinde çift disk sinerji testi ve GSBL E-test yönteminin, CLSI'nın fenotipik doğrulama testi olarak önerdiği kombine (modifiye) disk difüzyon testine göre özgüllüğünün ve duyarlılığının belirlenmesi amaçlanmıştır.

## GEREÇ VE YÖNTEM

Nisan 2005 - Ekim 2006 tarihleri arasında Selçuk Üniversitesi Meram Tıp Fakültesi Merkez Mikrobiyoloji Laboratuvarı Bakteriyoloji

Bölümüne çeşitli kliniklerden gelen yatan hastalara ait kan kültür örnekleri incelenmiştir.

### Örneklerin işleme alınması:

Çeşitli kliniklerden hastalara ait kan kültür örnekleri Bakteriyoloji Laboratuvarına otomatize kan kültürü şişeleri ile (aerobik BacT/ALERT FA bottle, bioMerieux, France) gönderilmiştir. Otomatize sistemde BacT/ALERT 3D (bioMerieux, France) 5 gün tutulan kan kültür örneklerinde üreme sinyali veren şişelerden, steril koşullarda kanlı agar (Oxoid) ve EMB agara (Oxoid) pasaj yapılarak, 35°C'de 18-24 saat inkübe edilmiştir. Üreyen mikroorganizmaların besiyerinde koloni morfolojilerine göre, mukoid görünümde olanlardan Gram negatif özelliğe uyan koloniler seçilerek incelenmeye alınmıştır.

Bir hastadan ikinci kez aynı bakteri ürese bile sadece biri çalışmaya alınmıştır.

### Suşların identifikasyonu:

EMB besiyerinde üreyen bakteri kolonilerinden konvansiyonel yöntemler ile *Klebsiella* olarak belirlenen izolatlar, API ID 32E (bioMerieux, Fransa) panelleri ile tür düzeyinde tanımlanmıştır. Bu bakteriler daha sonra yapılacak incelemeler için saklanmak amacı ile, cryobank (Mastdiagnostics) boncukları içinde -20°C'de stoklanmıştır.

Tüm testlerde kontrol için ATCC 25922 *Escherichia coli* ve ATCC 700603 *K.pneumoniae* standart suşları kullanılmıştır.

### GSBL varlığının çift disk sinerji testi (ÇDST) ile araştırılması:

Bu yöntemde 0.5 McFarland standardına uygun hazırlanan bakteri süspansiyonundan Mueller-Hinton Agar (MHA) besiyerine eküvyonla sürüntü ekim yapılmıştır. Besiyeri plağının tam ortasına amoksisilin-klavulanik asit diski (AMC; 20/10 µg) ile etrafına disk merkezleri arasındaki uzaklık 25 mm olacak şekilde seftazidim (CAZ), seftriakson (CRO), sefotaksim (CTX), aztreonam (ATM), imipenem (IPM) diskleri yerleştirilmiştir. 35°C'de 18-24 saat inkübasyondan sonra, sefalosporinlerin veya ATM etrafındaki inhibisyon zonunun AMC diskiye doğru genişlemesi veya arada bakterinin

üremediği bir sinerji alanının bulunması GSBL varlığını, aksi durum ise GSBL negatif olduğunu göstermiştir. İnhibisyon zonu oluşmadığında veya küçük zon oluştuğunda disk arası uzaklık 20 mm'ye düşürülmüş, çok geniş zon çapları oluştuğunda ise diskler arası uzaklık 30 mm'ye çıkarılmıştır<sup>(3)</sup>.

#### GSBL varlığının kombine disk (modifiye disk) sinerji ile araştırılması:

CLSI'nın<sup>(5)</sup> fenotipik doğrulama testi olarak önerdiği kombine disk (modifiye) sinerji yönteminde ise yine MHA bulunan plaklara sürüntü ekim yapılarak, oda sıcaklığında 15 dakika bekletilmiştir. Ekim yapılan plaklara seftazidim (30 µg), sefotaksim (30 µg), seftazidim-klavulanik asit (30/10 µg) ve sefotaksim-klavulanik asit (30/10 µg) diskleri yerleştirilmiştir. 35°C'de 18-24 saat inkübasyondan sonra, sefotaksim ve seftazidim diskinin inhibisyon zon çapının, CLSI önerileri doğrultusunda klavulanik asit ile test edildiğinde tek başına test edilmesine göre >5 mm artması GSBL pozitif kabul edilmiştir<sup>(5)</sup>.

#### GSBL varlığının E-test yöntemi ile araştırılması:

Ticari olarak hazırlanmış ve tek stripin bir tarafına sefotaksim diğer tarafına sefotaksim-klavulanik asit (CT/CTL) emdirilmiş olan E-test (AB Biodisk, Solna, İsveç) şeritleri kullanılmıştır. 0.5 McFarland standardına uygun hazırlanan bakteri süspansiyonları Mueller-Hinton besiyerlerine eküvyonla ekilmiştir. Ekim yapılan plaklara sefotaksim/sefotaksim-klavulanik asit E-test şeridi yerleştirilmiştir. 35°C'de 18-24 saat inkübasyondan sonra, sefotaksim MİK değerinin, sefotaksim/klavulanik asit MİK değerinden en az 8 kat fazla olması GSBL pozitif, aksi ise GSBL negatif kabul edilmiştir<sup>(9)</sup>.

#### İstatistiksel analiz:

Verilerin istatistiksel değerlendirilmesinde; Statistical Package for Social Sciences version 13.0 (SPSS) bilgisayar programı kullanılmıştır.

## BULGULAR

İzole edilen 102 *K.pneumoniae* suşunun CLSI'nın fenotipik doğrulama testi olarak önerdiği kombine disk (modifiye) sinerji testi ile 65'inde (% 63.7) GSBL varlığı belirlenmiştir. Bu suşların 63'ünde ÇDST ile, 61'inde CT/CTL E-test ile GSBL varlığı saptanmıştır. Suşların 61'inde her üç yöntem ile GSBL pozitifliği bulunmuştur (Tablo 1).

Tablo 1: GSBL pozitiflik oranlarının yöntemlere göre dağılımı.

| Yöntem               | GSBL pozitif | GSBL negatif |
|----------------------|--------------|--------------|
| ÇDST                 | 63 (% 61.8)  | 39 (% 38.2)  |
| CT/CTL E-test        | 61 (% 59.8)  | 41 (% 40.2)  |
| Kombine disk sinerji | 65 (% 63.7)  | 37 (% 36.3)  |
| Her üç test ile      | 61 (% 59.8)  | 41 (% 40.2)  |

Çift disk sinerji testi ve CT/CTL E-test yöntemlerinin kombine disk yöntemine göre duyarlılık ve seçicilik oranları tablo 2'de sunulmuştur. İki yöntemin de seçicilikleri kombine disk yöntemine göre % 100, duyarlılıkları ise çift disk sinerji testinde % 96.9, CT/CTL E-test yönteminde ise % 93.9 olarak saptanmıştır. Üç yöntemin de tutarlılık analizlerinde istatistiksel olarak birbirleriyle uyumlu olduğu görülmüştür (p<0.05) (Tablo 3).

Tablo 2: ÇDST ve E-test yöntemlerinin, kombine disk yöntemine göre duyarlılık ve seçicilikleri.

| Yöntem        | Duyarlılık | Seçicilik | Pozitif prediktif değer | Negatif prediktif değer |
|---------------|------------|-----------|-------------------------|-------------------------|
| ÇDST          | % 96.9     | % 100     | % 100                   | % 94.9                  |
| CT/CTL E-Test | % 93.9     | % 100     | % 93.9                  | % 90.2                  |

Tablo 3: GSBL belirlenmesinde kullanılan yöntemlerin karşılaştırılması (Tutarlılık analizi).

| Yöntemler | Gözlenen tutarlılık | Kappa değeri | Anlamlılık (p) |
|-----------|---------------------|--------------|----------------|
| 1-2       | 0.98                | 0.958        | 0.0001         |
| 2-3       | 0.98                | 0.959        | 0.0001         |
| 1-3       | 0.96                | 0.917        | 0.0002         |

1: Kombine disk difüzyon testi; 2: Çift disk sinerji testi; 3: CT/CTL E-test.

## TARTIŞMA

Hastane ve toplum kökenli infeksiyonlara neden olan mikroorganizmalarda GSBL varlığının belirlenmesi önemlidir. Çünkü buna göre antibiyotik tedavi rejimine karar verilerek infeksiyonların yayılması engellenecek, tedavi maliyeti düşürülecek, mortalite ve morbidite azalacaktır. Bunun için en başta bakterinin ürettiği GSBL enziminin doğru olarak saptanması gereklidir<sup>(4)</sup>.

GSBL'lerin rutin laboratuvarlarda tanımlanmalarının gerekliliği tartışmalı olsa da yukarıdaki nedenlere bakıldığında klinik mikrobiyoloji laboratuvarlarında rutin olarak GSBL saptama yöntemleri uygulanmalı ve sonuçlar buna göre yorumlanmalıdır. GSBL saptama yöntemleri, tarama ve doğrulama testleri olarak iki kısımda incelenebilir. Disk difüzyon ve dilüsyon tarama testlerinde CLSI'nın önerdiği gibi farklı geniş spektrumlu beta-laktamlar kullanılarak testin duyarlılığı belirgin ölçüde artırılır. Fenotipik doğrulama testleri klavulanik asit ve indikatör sefalosporin ve/veya monobaktam arasındaki sinerjinin gösterilmesi temeline dayanmaktadır. Bu testler GSBL'leri beta-laktamaz inhibitörlerinden etkilenmeyen AmpC tipi enzimlerden ayırmaktadır. Doğrulama amacıyla sık olarak kullanılan yöntemler arasında; klavulanik asit içeren kombinasyon diskleri, çift disk sinerji testi, MİK'in saptandığı dilüsyon yöntemleri, E-testin GSBL stripleri ile MİK saptanması sayılabilir<sup>(14)</sup>.

GSBL oluşturan *Klebsiella* türlerinin in-vitro tespit edilebilmesi için CLSI, beta-laktam/beta-laktamaz inhibitörü sinerjisinin gösterilmesi temeline dayanan tarama ve fenotipik doğrulama testini önermiştir<sup>(5)</sup>. Ancak GSBL tayininde, ÇDST halen en yaygın, en ucuz ve en kolay yöntem olduğu için ülkemizde ve pek çok mikrobiyoloji laboratuvarında kullanılmaktadır<sup>(13,17)</sup>. Bazı yazarlarca ÇDST'nin çok düşük düzeydeki beta-laktamaz üretimini bile belirleyebildiği ve bu nedenle önerilebilir bir yöntem olduğu belirtilmiştir<sup>(18)</sup>. ÇDST, laboratuvarlarda rutin antibiyogram disklerinin dizilimleri değiştirilerek, GSBL tarama testi olarak uygulanmaktadır. Ancak diskler arasındaki mesafe konusunda halen

standardizasyon sorunu vardır ve test tüm GSBL'leri saptayamamaktadır. ÇDST'nin güvenilirliğini azaltan çeşitli faktörler bulunmaktadır. Örneğin bazı suşlar tarafından yüksek düzeyde oluşturulan sefalosporinazlar, sinerjik etkinin görülmesini engelleyebilmektedir. Diskler arasındaki uzaklığın da deneyin sonucunu etkilediği, bazen GSBL oluşturan suşlarla yapılan ve diskler arasındaki uzaklığın 30 mm olarak ayarlandığı deneylerde yanlış negatif sonuçlar elde edildiği bildirilmektedir. Ayrıca klavulanat diskinde meydana gelebilecek potens kaybının da dikkate alınması gerektiği belirtilmektedir<sup>(12)</sup>. E-test yöntemi ise disk difüzyon ve mikrodilüsyon yöntemlerinin kombinasyonudur ve yakın zamanda kullanıma girmiştir.

Ülkemizde bu konu ile ilgili benzer çalışma yapan Eskişehir ve ark.<sup>(10)</sup> hastalardan izole ettikleri *K.pneumoniae* suşlarında ÇDST yöntemi ile GSBL oranını % 52, E-test metodu ile de % 52 olarak bulmuşlardır. Hastane infeksiyonu izolatu *K.pneumoniae* suşlarında Abacıoğlu ve ark<sup>(1)</sup>. ÇDST ile % 50, E-test ile de % 62.5 GSBL pozitifliği bulmuşlardır. Hastane infeksiyonu etkeni *K.pneumoniae* izolatlarında Yücesoy ve ark.<sup>(22)</sup> ise E-test metoduyla % 57.1 oranında GSBL tespit etmişlerdir. Kaçmaz ve ark.<sup>(13)</sup> hastane infeksiyonu etkeni *Klebsiella* spp. ve *E.coli*'de ÇDST'nin duyarlılığını % 82, özgüllüğünü ise % 85 olarak bulmuşlardır. Akçam ve ark.<sup>(2)</sup> GSBL üretimini saptamada ÇDST ve E-test yöntemlerini karşılaştırmış ve anlamlı bir fark bulamamışlardır.

Yurt dışında yapılan çalışmalarda Steward ve ark.<sup>(20)</sup> 139 GSBL pozitif *K.pneumoniae* suşundan 117 (% 84) izolatu kombine (modifiye) disk sinerji yöntemle pozitif bulmuşlardır. Bunların 104'ünde (% 89) hem sefotaksim hem de seftazidim GSBL'yi belirlemede, 11'inde (% 9) sadece seftazidim ve 2'sinde (% 2) sefotaksimin GSBL'yi belirlemede etkili olduğunu ifade etmişlerdir<sup>(20)</sup>. Vercauteren ve ark.<sup>(21)</sup> ise, GSBL ürettiği bilinen suşların E-test GSBL stripleri ile % 81'i saptanabilirken, bu oranın ÇDST için % 97, üç boyutlu test için ise % 91 olduğunu bildirmişlerdir.

Yaptığımız çalışmada kan kültürü izolatu *K.pneumoniae* suşlarında GSBL üretim oranı



kombine (modifiye) disk sinerji testi ile % 63.7 olarak bulunmuştur. Bu oranın yurt içi (11,15,16) ve bazı yurt dışı<sup>(19)</sup> çalışmalarla uyumlu olduğu görülmüştür. İzole ettiğimiz suşlarda, ÇDST yöntemiyle % 61.8, CT/CTL E-test yöntemiyle % 59.8'inde GSBL varlığı tespit edilmiştir. Kombine (modifiye) disk sinerji testine göre duyarlılıkları; ÇDST'de % 96.9, CT/CTL E-test yönteminde % 93.9 olarak bulunmuştur. Seçicilikleri ise; her iki test için % 100'dür.

Çalışmamızda ÇDST'de yüksek oranda duyarlılık ve seçiciliğin belirlenmesinin sebebi; diskler arası mesafeye dikkat edilmesi ve gerektiğinde uzaklığın 20 mm'ye indirilerek tekrar çalışılmasındandır. Diğer bir faktör de indikatör antibiyotiklerin tümünün (aztreonam, seftriakson, seftazidim, sefotaksim) ÇDST'inde kullanılması olabilir. Buna rağmen ÇDST'inde iki suş doğrulama testine göre yalancı negatiflik göstermiştir.

Hem ÇDST'nin hem de E-testin doğrulama testine göre yüksek duyarlılık ve seçicilik göstermesine rağmen E-testteki (% 59.8) farklılığın sebebi; E-testin düşük miktardaki GSBL'leri saptayamaması ve sadece CT/CTL E-test strip-leriyle çalışılmasının olabileceği tahmin edilmiştir. Seftazidim/seftazidim-klavulanik asit (TZ/TZL) E-test ile birlikte kullanıldığında duyarlılığın biraz daha artabileceği düşünülmüştür. Ancak E-testin maliyetinin yüksek olması kullanımını engellemektedir<sup>(2,10,13)</sup>.

Çalışmamızda ÇDST ve E-testinin, kombine (modifiye) disk sinerji testine göre duyarlılık ve seçicilikleri arasında anlamlı bir fark bulunmamıştır. Bu sonuç yapılan diğer çalışmalarla uyumlu bulunmuştur<sup>(2,10,13)</sup>. ÇDST'nin, kolay ve ucuz bir yöntem olduğu, ancak GSBL saptanmasında tek başına kullanıldığında tüm GSBL'leri saptayamadığı görülmüştür. E-test ise pahalı bir yöntem olmasına rağmen düşük düzeydeki GSBL'leri belirleyememektedir. Moleküler testler dışında hiçbir test GSBL belirlenmesinde tek başına % 100 duyarlılıkta değildir. Bu çalışmada imkan sağlanamadığı için moleküler yöntemlerle GSBL oranları ve tipleri araştırılamamıştır.

Sonuç olarak; tedavisi pahalı ve güç hastane infeksiyonlarına neden olan *K.pneumoniae*

suşlarında GSBL üretim oranlarının sürekli izlenmesi, yayılımlarının önlenmesi için geniş spektrumlu beta-laktam antibiyotiklerin dikkatli kullanılması, kolonize veya infekte hastaların izolasyonu, risk altındaki hastane bölümlerinde dikkatli ve ayrıntılı sürveyans çalışmalarının yapılması gereklidir. GSBL belirlenmesinde ise E-testin pahalı olması nedeni ile rutinde uygulanamayacağı, buna karşılık rutin antibiyogram disklerinin dizilimlerinin değiştirilip ÇDST olarak yapılması ve şüpheli suşlara doğrulama testi olarak kombine (modifiye) disk sinerji testinin uygulanmasının doğru olacağı düşünülmüştür.

**Teşekkür:** Bu çalışma Selçuk Üniversitesi Bilimsel Araştırma Proje Koordinatörlüğü tarafından desteklenen (BAP Proje No: 06102014) proje kapsamında gerçekleştirilmiştir. Katkılarından dolayı teşekkür ederiz.

## KAYNAKLAR

1. Abacıoğlu YH, Yücesoy M, Gülay Z, Yuluğ N: "Extended spectrum beta-lactamases" saptanmasında E testi ile çift disk sinerji yönteminin karşılaştırılması, *İnfeksiyon Derg* 1995;9(1-2):93-5.
2. Akçam FZ, Gönen İ, Kaya O, Yaylı G: Hastane infeksiyonu etkeni çeşitli gram-negatif bakterilerde genişlemiş spektrumlu beta-laktamaz yapımının iki yöntemle araştırılması, *Klinik Derg* 2004;17(1):47-9.
3. Aydemir H, Yalçın A, Pişkin N, Gürbüz Y, Türkyılmaz R: *Escherichia coli* ve *Klebsiella pneumoniae* suşlarının genişlemiş spektrumlu  $\beta$ -laktamaz üretme ve antibiyotik direnç oranları, *Klinik Derg* 2006;19(2): 63-8.
4. Bradford PA: Extended-spectrum beta-lactamases in the 21st century: Characterization, epidemiology and detection of this important resistance threat, *Clin Microbiol Rev* 2001;14(4):933-51.
5. Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) (Çeviri editörü D Gür): *Antimikrobik Duyarlılık Testleri İçin Uygulama Standartları*, Onbeşinci Bilgi Eki. M100-S14, S15, Bilimsel Tıp Yayınevi, Ankara (2005).
6. Cormican MG, Marshall SA, Jones RN: Detection of extended-spectrum beta-lactamases (ESBL) producing strains by the E-test ESBL screen, *J Clin Microbiol* 1996;34(8):1880-4.
7. Delialioğlu N, Öcal ND, Emekdaş G: Çeşitli klinik örneklerden izole edilen *Escherichia coli* ve *Klebsiella türlerinde* genişlemiş spektrumlu beta-lak-

- tamaz oranları, ANKEM Derg 2005;19(2):84-7.
8. Dolapçı İ: Genişlemiş spektrumlu bata laktamazlar: Klinik mikrobiyoloji laboratuvarı, tedavi ve enfeksiyon kontrolündeki rolleri, Mikrobiyol Bült 2005;39(2):229-40.
  9. Ersoy Y, Fırat M, Şerefhanoglu K, Özerol İH, Bilişik G, Dinç But A: Hastane kökenli *Escherichia coli* ve *Klebsiella* spp. suşlarında iki farklı yöntemle genişlemiş spektrumlu beta-laktamaz üretiminin belirlenmesi, ANKEM Derg 2007;17(4): 418-21.
  10. Eskitürk A, Korten V, Söyletir G: Akut bakım gerektiren hastalarda gelişen enfeksiyonlardan izole edilen *Klebsiella* türlerinde antibakteriyel duyarlılık paternlerinin ve geniş spektrumlu beta-laktamaz sıklığının araştırılması, ANKEM Derg 1996;10(1):14-8.
  11. Gültekin M, Ögünç D, Günseren F, Çolak D, Kırbaş İ, Mamikoğlu L: Hastane enfeksiyonu etkeni *Klebsiella pneumoniae* ve *Escherichia coli* suşlarının genişlemiş spektrumlu beta-laktamaz ve antibiyotik duyarlılık özelliklerinin araştırılması, İnfeksiyon Derg 1999;13(4):515-20.
  12. Hoşgör M, Özkan F, Yapar N, Tünger A, Özinel MA: Genişlemiş spektrumlu beta-laktamazların belirlenmesinde çift disk sinerji testi ile üç boyutlu yöntemin karşılaştırılması, Klimik Derg 1998;11(2):59-60.
  13. Kaçmaz B, Çakır ÖF, Aksoy A: Hastane kaynaklı enfeksiyonlardan izole edilen *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Klebsiella oxytoca* türlerinde genişlemiş spektrumlu beta-laktamaz saptanması, ANKEM Derg 2005;19(3):125-9.
  14. Kang CI, Kim SH, Park WB et al: Bloodstream infections due to extended-spectrum beta-lactamase-producing *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae*: risk factors for mortality and treatment outcome, with special emphasis on antimicrobial therapy, Antimicrob Agents Chemother 2004;48(12):4574-81.
  15. Kuzucu Ç, Kabakçioğlu M, Özışık A, Ezen FO, Acar NS: Nozokomiyal gram-negatif bakterilerde genişlemiş spektrumlu ve kromozomal beta-laktamaz varlığının saptanması, Flora 1999;4(2):102-6.
  16. Küçükateş E: Antimicrobial resistance among gram negative bacteria isolated from intensive care units in a cardiology institute in Istanbul, Turkey, Jpn J Infect Dis 2005;58(4):228-31.
  17. Livermore DM: Beta-lactamases in laboratory and clinical resistance, Clin Microbiol Rev 1995;8(4):557-84.
  18. Saraçlı MA, Başustaoglu A, Aydoğan H, Küçük-karaaslan A, Özyurt M: GATA Hastanesi'nde izole edilen *Escherichia coli* ve *Klebsiella* suşlarında genişlemiş spektrumlu beta-laktamaz (GSBL) pozitifliği, İnfeksiyon Derg 2001;15(1):87-91.
  19. Shehabi AA, Mahafzah A, Baadran I, Qadar FA, Dajani N: High incidence of *Klebsiella pneumoniae* clinical isolates to extended-spectrum beta-lactam drugs in intensive care units, Diagn Microbiol Infect Dis 2000;36(1):53-6.
  20. Steward CD, Rasheed JK, Hubert SK et al: Characterization of clinical isolates of *Klebsiella pneumoniae* from 19 laboratories using the National Committee for Clinical Laboratory Standards extended-spectrum beta-lactamase detection methods, J Clin Microbiol 2001;39(8):2864-72.
  21. Vercauteren E, Descheemaeker P, Leven M, Sanders CC, Goossens H: Comparison of screening methods for detection of extended-spectrum beta-lactamases and their prevalence among blood isolates of *Escherichia coli* and *Klebsiella* spp. in a Belgian Teaching Hospital, J Clin Microbiol 1997;35(9):2191-7.
  22. Yücesoy M, Biberoğlu K, Yuluğ N: İnfeksiyon etkeni gram-negatif bakterilerin antibiyotik duyarlılık paternlerinin E testi ile araştırılması, İnfeksiyon Derg 1996;10(3):229-33.