

# ÇEŞİTLİ KLİNİK ÖRNEKLERDEN İZOLE EDİLEN *ESCHERICHIA COLI* VE *KLEBSIELLA PNEUMONIAE* SUŞLARINDA PLAZMİD ARACILI AMPC TİPİ BETA-LAKTAMAZ VARLIĞININ FENOTİPİK OLARAK ARAŞTIRILMASI\*

Feyza ALP, Hatice TÜRK DAĞI, İnci TUNCER, Duygu FINDIK, Uğur ARSLAN

Selçuk Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, KONYA

## ÖZET

Beta-laktamaz enzimlerinin sentezi, Gram negatif bakterilerde görülen direnç mekanizmalarının en sık nedenlerindenidir. AmpC tipi beta-laktamaz genlerinin plazmidler aracılığı ile diğer bakterilere aktarılması ve sıklığının artmasına bağlı olarak hastane epidemilerine yol açması klinik açıdan önemli bir sorundur. Bu çalışmanın amacı 2010-2011 yıllarında çeşitli klinik örneklerden izole edilen sefoksitin orta duyarlı veya dirençli *Escherichia coli* ve *Klebsiella pneumoniae* suşlarında plazmidik AmpC (pAmpC) tipi beta-laktamaz varlığının fenotipik yöntemlerle araştırılmasıdır.

Çalışmada pAmpC tipi beta-laktamaz varlığını araştırmak için; Kirby-Bauer disk difüzyon yöntemiyle CLSI'nın Enterobacteriaceae için önerdiği zon çapı değerleri doğrultusunda sefoksitin (30 µg) direnci incelenmiştir. Sefoksitine dirençli (≤ 14 mm) ve orta duyarlı (15-17 mm) olan suşlarda pAmpC beta-laktamaz varlığının araştırılması için, kombine disk testi ve Modifiye Hodge Testi (MHT) yapılmıştır. Kombine disk testi veya MHT ile pozitif bulunan suşlara sefotetan ± kloksasilin stripleri ile E-test (AB Biodisk, İsveç) yapılmış ve sefotetan + kloksasilin MİK değeri kloksasilinsiz tarafa göre ≥ 8 kat azalma görülen suşlarda pAmpC varlığı fenotipik olarak doğrulanmıştır. Çalışmaya dahil edilen sefoksitine dirençli 42 *E.coli* suşundan dokuzunda MHT ile, sekizinde kombine disk testi ile AmpC beta-laktamaz pozitif bulunmuştur. Kombine disk testi ile pozitif olan sekiz *E.coli* suşu E-test ile de pozitif olarak saptanmıştır. MHT ile pAmpC beta-laktamaz pozitif bulunan bir *E.coli* suşu kombine disk testi ve E-test ile negatif olarak saptanmıştır. *K.pneumoniae* suşlarında ise pAmpC pozitifliği saptanmamıştır.

Sonuç olarak, beta-laktam antibiyotiklerin sık kullanıldığı ülkemizde, pAmpC tipi beta-laktamaz yaygınlığının saptanması, bu dirence sahip etkenlerle oluşan infeksiyon hastalıklarının tedavisinde uygun empirik tedavinin başlanmasında ve epidemiyolojik veri oluşturulmasında önemlidir. pAmpC beta-laktamaz varlığının fenotipik olarak hızlı ve doğru olarak ortaya çıkarılması klinik açıdan doğru ve etkin tedavi rejimlerinin uygulanmasını sağlayacaktır.

**Anahtar sözcükler:** AmpC beta-laktamaz, plazmid, sefoksitin direnci

## SUMMARY

### Phenotypic Investigation of Plasmid-Mediated AmpC Beta-Lactamases in *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae* Strains Isolated from Various Clinical Specimens

Production of beta-lactamase enzymes is one of the most common causes of resistance mechanisms in Gram negative bacteria. Increased frequency, transfer to other bacteria by plasmids and ability to cause hospital epidemics of AmpC-type beta-lactamase genes, are serious clinical problems. The aim of this study is to investigate the presence of plasmidic AmpC (pAmpC) type beta-lactamase in cefoxitin-moderately susceptible or resistant *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae* strains isolated from various clinical specimens during 2010-2011.

For screening pAmpC beta-lactamase, cefoxitin (30 mg) disk was used to investigate cefoxitin resistance by Kirby-Bauer disk diffusion method as recommended by CLSI. Combined disk test and modified Hodge test (MHT) were performed to investigate AmpC beta-lactamase among cefoxitin-resistant (≤ 14 mm) and moderately susceptible (15-17 mm) strains. E-test method using cefotetan ± cloxacillin strips (AB Biodisk, Sweden) was performed for strains considered indicative of pAmpC by combined disk test or MHT. Strains indicating a reduction of cefotetan MIC by ≥ 8 twofold dilutions in the presence of cloxacilline were confirmed phenotypically positive for AmpC. Out of 42 cefoxitin-resistant *E.coli* strains included in the study nine strains were by MHT and eight strains were by combined disk method positive for pAmpC beta-lactamase. Eight *E.coli* strains considered positive by combined disk test was also confirmed as positive by E-test method. One strain that was considered AmpC beta-lactamase-positive by MHT was negative by combined disk and E-test. None of the *K.pneumoniae* strains was identified as pAmpC beta-lactamase-positive.

In conclusion, because beta-lactam antibiotics are used frequently in our country, detection of the prevalence of AmpC type beta-lactamase is essential for appropriate empiric therapy of infectious diseases caused by agents possessing this resistance mechanism, and for the constitution of epidemiological data. The phenotypic detection of pAmpC beta-lactamase quickly and accurately will ensure the implementation of correct and effective treatment regimens.

**Keywords:** AmpC beta-lactamase, cefoxitin resistance, plasmid

**İletişim adresi:** Feyza Alp, Selçuk Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, KONYA

Tel: (0332) 224 47 56; GSM: (0533) 512 06 34

e-posta: feyza.alp@myynet.com

Alındığı tarih: 22.11.2012, Yayına kabul: 04.03.2013

\*XXXV. Türk Mikrobiyoloji Kongresi'nde sunulmuştur. Poster No.102 (3-7 Kasım 2012, Kuşadası, Aydın)

## GİRİŞ

Beta-laktamaz enzimlerinin sentezi Gram negatif bakterilerde görülen direnç mekanizmalarının en sık nedenlerindedir ve bu bakterilerde beta-laktamaz aracılı penisilin, sefalosporin direnci önemli bir problemdir<sup>(9,11)</sup>. Beta-laktamaz enzimi ile oluşan direnç, beta-laktamaz molekülünün beta-laktam halkası içeren antibiyotiğe bağlanarak halka yapısının hidrolizi ile sonuçlanan kimyasal etkileşim sonucu oluşmaktadır<sup>(20)</sup>.

Beta-laktamazlar Ambler ve Bush-Mederios-Jacoby sınıflandırma sistemleri olarak iki şekilde sınıflandırılır. Ambler sınıflandırmasında beta-laktamazlar, aminoasit dizilerinin benzerliğine göre grup A, C, D serin beta-laktamazlar ve aktiviteleri için çinkoya gereksinim gösteren grup B metallo beta-laktamazlardan oluşur. Ambler'in sınıflandırması moleküler bir sınıflama olup stabildir ve mutasyonlarla değişmez. C grubu enzimler çoğunlukla kromozom ve bazen plazmid kontrolünde, molekül ağırlıkları 39.000 dalton olan, büyük bir kısmı karbapenemlere etkisiz sefalosporinazları içerir. Bush-Mederios-Jacoby sisteminde beta-laktamazların işlevlerindeki benzerliklerine göre dört kategori ve çok sayıda alt grup bulunmaktadır<sup>(2,10)</sup>.

AmpC beta-laktamazlar grup C veya grup I olarak da tanımlanmaktadır. Sefalosporinlere direnç AmpC beta-laktamazların aşırı sentezi ile ortaya çıkmış, daha sonra indüklenebilen AmpC içermeyen *Klebsiella pneumoniae*, *Escherichia coli*, *Salmonella spp.* ve *Proteus mirabilis* gibi mikroorganizmalarda genişlemiş spektrumlu beta-laktamazlar (GSBL) tanımlanmıştır. Beta-laktamaz inhibitörü kemoterapötiklerin kullanılması ile birlikte de plazmid kontrolündeki AmpC beta-laktamazları sentezleyen mikroorganizmalar ortaya çıkmıştır. İndüklenebilen AmpC beta-laktamazı olmayan bakterilerde plazmidik AmpC beta-laktamazlar (pAmpC), ilk kez 1988'de bildirilmiştir<sup>(4)</sup>. pAmpC beta-laktamazlar, kromozomal olan indüklenebilir AmpC beta-laktamaz genlerinin plazmidlere transferi ile oluşmuştur<sup>(23,26)</sup>.

Boronik asit bileşiklerinin AmpC beta-laktamazları inhibe etmesi sayesinde AmpC enzimlerini gösteren test yöntemleri geliştiril-

miştir<sup>(6,19)</sup>. AmpC enzimlerinin fenotipik doğrulanmasında Modifiye Hodge Testi (MHT) de kullanılabilir<sup>(14)</sup>.

Bu çalışmanın amacı 2010-2011 yıllarında çeşitli klinik örneklerden izole edilen sefoksitin orta duyarlı veya dirençli *E.coli* ve *K.pneumoniae* suşlarında pAmpC tipi beta-laktamaz varlığının fenotipik olarak araştırılmasıdır.

## GEREÇ VE YÖNTEM

2010-2011 yıllarında Selçuk Üniversitesi Tıp Fakültesi Mikrobiyoloji Laboratuvarı'nda çeşitli klinik örneklerden izole edilen 42 *E.coli* ve 22 *K.pneumoniae* suşu çalışmaya alınmıştır. *E.coli* suşlarının 30'u idrar, sekizi kan, ikisi drenaj sıvısı, ikisi yara örneğinden izole edilmiştir. *K.pneumoniae* suşlarının ise 11'i kan, 10'u idrar, biri yara örneğinden izole edilmiştir. Kirby-Bauer disk difüzyon yöntemiyle CLSI'nın *Enterobacteriaceae* için önerdiği zon çapı değerleri doğrultusunda sefoksitin (30 µg) direnci incelenmiş<sup>(12)</sup>, sefoksitine dirençli ( $\leq 14$  mm) ve orta duyarlı (15-17 mm) suşlar pAmpC açısından şüpheli kabul edilmiştir<sup>(17,29)</sup>. Şüpheli kabul edilen suşlarda pAmpC tipi beta-laktamaz varlığının fenotipik olarak doğrulanması için, kombine disk testi ve MHT yapılmıştır.

Kombine disk testinde suşların serum fizyolojik içinde 0.5 McFarland bulanıklığındaki süspansiyonu hazırlanmıştır. Süspansiyon Mueller Hinton Agar (MHA) plaklarına ekildikten sonra seftazidim (CAZ, 30 µg), sefotaksim (CTX, 30 µg), seftazidim+boronik asit (CAZ/BA, 30/400 µg), sefotaksim+boronik asit (CTX/BA, 30/400 µg) (Becton Dickinson, USA) antibiyotik diskleri plak yüzeyine yerleştirilmiş ve 18-24 saat  $35 \pm 2^\circ\text{C}$ 'de aerobik inkübasyona bırakılmıştır. CAZ/BA veya CTX/BA diskleri etrafındaki inhibisyon zon çapı, sadece CAZ veya CTX zon çaplarına göre 5 mm ve üzeri olan suşlarda pAmpC varlığı pozitif olarak kabul edilmiştir.

MHT için *E.coli* ATCC 25922 standart suşunun 0.5 McFarland bulanıklığındaki süspansiyonu hazırlandıktan sonra serum fizyolojik içinde 1/10 dilüsyonu yapılmıştır. MHA plağının yüzeyine steril eküvyon ile sürülerek

ekim yapılmıştır. Plağın ortasına sefoksitin diski (FOX, 30 µg) yerleştirilmiştir. Negatif kontrol suşları ile birlikte diğer suşlar 90 derecelik açı ile diskin dört bir kenarından periferde doğru öze ile çizgi ekimi yapılmıştır. Etüvde 35 ± 2°C'de 18-24 saatlik aerobik inkübasyondan sonra disk etrafındaki ≥ 3 mm'lik yonca yaprağı şeklinde genişleme pozitif olarak kabul edilmiştir<sup>(29)</sup>.

Kombine disk testi veya MHT ile pozitif bulunan suşlara sefotetan (0.5-32 mg/L) ± kloksasilin stripleri ile E-test (AB Biodisk, İsvec) yapılmış ve sefotetan+kloksasilin MİK değeri kloksasilinsiz tarafa göre 8 kat veya daha fazla azalma görülen suşlarda pAmpC varlığı fenotipik olarak doğrulanmıştır.

Negatif kontrol olarak *E.coli* ATCC 25922 ve *K.pneumoniae* ATCC 700603 standart suşları kullanılmıştır.

## BULGULAR

Çalışmaya dahil edilen 42 *E.coli* suşundan dokuzunda MHT ile sekizinde kombine disk testi ile pAmpC beta-laktamaz pozitif bulunmuştur. Kombine disk testi ile pozitif olan sekiz *E.coli* suşu E-test ile de pozitif olarak saptanmıştır (Tablo 1). MHT ile pAmpC beta-laktamaz pozitif bulunan bir *E.coli* suşu kombine disk testi ve E-test ile negatif olarak saptanmıştır (Tablo 2). Sefoksitine dirençli veya orta duyarlı bulunan 22 *K.pneumoniae* suşunda ise her üç yöntemle de pAmpC pozitifliği saptanmamıştır. Kombine disk testi ile pAmpC beta-laktamaz negatif olan *K.pneumoniae* suşlarının CAZ/BA

**Tablo 1.** Kombine disk testi pozitif *E.coli* suşlarının zon çapları (mm).

<i>E.coli</i> suş no	Örnek türü	CAZ <sup>1</sup>	CAZ/BA <sup>2</sup>	CTX <sup>3</sup>	CTX/BA <sup>4</sup>
1	İdrar	16	21	15	22
2	İdrar	14	19	19	25
3	İdrar	6	12	6	17
4	Kan	6	6	10	15
5	Drenaj sıvısı	6	10	6	15
6	İdrar	6	14	6	14
7	Yara	7	21	11	20
8	İdrar	9	18	13	22
9	İdrar	6	6	8	11

<sup>1</sup>: CAZ: Sefotazidim, <sup>2</sup>: CAZ/BA: Sefotazidim/Boronik asit,

<sup>3</sup>: CTX: Sefotaksim, <sup>4</sup>: CTX/BA: Sefotaksim/Boronik asit

veya CTX/BA diskleri etrafındaki inhibisyon zon çapı, sadece CAZ veya CTX inhibisyon zon çaplarıyla aynı olduğu görülmüştür. Fenotipik olarak pAmpC pozitif bulunan suşların antibiyotik duyarlılıkları Tablo 3'de gösterilmiştir.

**Tablo 2.** Uygulanan fenotipik testlerde pAmpC pozitif bulunan suşların sayıları.

Bakteri	Kombine disk testi				E-test
	CAZ <sup>1</sup> , CAZ/BA <sup>2</sup>	CTX <sup>3</sup> , CTX/BA <sup>4</sup>	MHT <sup>5</sup>		
<i>E.coli</i>	7	8	9	8	
<i>K.pneumoniae</i>	0	0	0	0	

<sup>1</sup>: CAZ: Sefotazidim, <sup>2</sup>: CAZ/BA: Sefotazidim/Boronik asit,

<sup>3</sup>: CTX: Sefotaksim, <sup>4</sup>: CTX/BA: Sefotaksim/Boronik asit,

<sup>5</sup>: MHT: Modifiye Hodge Testi

**Tablo 3.** Uygulanan fenotipik testlerde pAmpC pozitif bulunan suşların antibiyotik duyarlılıkları.

Antibiyotik	<i>E.coli</i> suş no								
	1	2	3	4	5	6	7	8	9
Ampisilin	Di <sup>a</sup>	Di	Di	Di	Di	Di	Di	Di	Di
Amikasin	Du <sup>b</sup>	Du	Du	Du	Du	Du	Du	Du	Du
Gentamisin	Du	Du	Du	Du	Du	Du	Du	Du	Du
Sefuroksim	Di	Di	Di	Di	Di	Di	Di	Di	Di
Sefotaksim	Du	Di	Di	Di	Di	Di	Di	Di	Di
Seftazidim	Du	Di	Di	Di	Di	Di	Di	Di	Di
Sefepim	Du	Du	Di	Di	Du	Di	Du	Du	Di
Pip-tazo <sup>c</sup>	Du	O <sup>d</sup>	Di	Di	O	Di	Di	Di	Di
Siprofloksasin	Du	Du	Du	Di	Du	Du	Du	Di	Di
Meropenem	Du	Du	O	Du	Du	O	Du	Du	Du

<sup>a</sup>Di: Dirençli, <sup>b</sup>Du:Duyarlı, <sup>c</sup>Pip-tazo: Piperasilin-tazobaktam,

<sup>d</sup>O: Orta duyarlı

## TARTIŞMA

*E.coli* ve *Klebsiella* türleri klinik örneklerden en sık izole edilen bakterilerdendir<sup>(21)</sup>. *E.coli* ve *Klebsiella* spp. izolatlarında en sık GSBL enzimlerine rastlanmakla birlikte sefoksitin ve sefotetan gibi sefamisinlere direnç sağlayan pAmpC beta-laktamazların önemi gün geçtikçe artmaktadır<sup>(5)</sup>. pAmpC beta-laktamazlar, GSBL'lerden daha geniş spektrumda ilaç direncine yol açmaktadır. Bu nedenle klinik olarak önemli bir gruptur<sup>(3)</sup>. Yapılan araştırmalarda GSBL tarama testi pozitif çıkan fakat CLSI doğrulama testine göre GSBL negatif bulunan izolatların oranı son zamanlarda % 75'lere ulaşmıştır. Bu tür izolatlarda sonradan yapılan çalışmalar AmpC beta-laktamaz varlığını göstermiştir<sup>(24)</sup>.

Son yıllarda pAmpC beta-laktamaz enzimlerinin varlığı ciddi bir sorun oluşturmaktadır. pAmpC beta-laktamaz enzimi üreten suşlarla, nozokomiyal salgınlar oluşabileceği gibi, bu enzimi taşıyan suşlarla infekte hastalarda GSBL üreten suşlarla oluşan infeksiyonlarda olduğu gibi sefalosporinlerle tedavi başarısızlığı ve mortalitede artış görülebilmektedir<sup>(22)</sup>.

pAmpC beta-laktamaz sıklığı ülkeler arası farklılık göstermektedir. MYSTIC (Meropenem Yearly Susceptibility Test Information Collection) çalışmasında 1997-1999 yılları arasında 10 Avrupa ülkesinde 29 şehirden çeşitli klinik örneklerden elde edilen 7886 izolatın antibiyotik duyarlılıkları değerlendirilmiştir. Çalışmada *E.coli*, *Enterobacter* spp., *Klebsiella* spp., *Proteus mirabilis*, *Serratia* spp., *Citrobacter* spp. ve diğer *Enterobacteriaceae* üyeleri içerisinde en yüksek AmpC beta-laktamaz pozitifliği birinci yıl Türkiye ve Polonya'da (sırasıyla % 42.1 ve 40) ikinci yıl Polonya'da (% 52.3) bulunmuştur<sup>(18)</sup>. Adler ve ark.'nın<sup>(1)</sup> 2006-2007 yılları arasında İsviçre'de yaptıkları çalışmada çeşitli klinik örneklerden izole edilen 3217 suştan sefoksitin dirençli 124 suşta (103 *E.coli*, 18 *K.pneumoniae*, üç *K.oxytoca*,) multipleks polimeraz zincir reaksiyonu (PZR) yöntemi ile pAmpC beta-laktamaz varlığı araştırılmış ve beş *E.coli* suşunda pAmpC beta-laktamaz saptanmıştır.

Türkiye'de 2004 yılında yapılan bir çalışmada sefoksitin dirençli *E.coli*'lerde PZR ile pAmpC sıklığı % 11.1 olarak bulunmuştur<sup>(27)</sup>. Demirbakan ve ark.<sup>(15)</sup> 2005-2006 yılları arasında Akdeniz Üniversitesi Tıp Fakültesi'nde yaptıkları çalışmada, sefoksitine dirençli veya az duyarlı 14 *Klebsiella* spp. ve 27 *E.coli* suşundan iki *E.coli* izolatında CMY-2 tipi AmpC beta-laktamaz varlığını saptamışlardır. Türkiye'de 2009 yılında yapılan başka bir çalışmada 22 *E.coli* suşundan birinde PZR ile CMY-2 tipi AmpC beta-laktamaz saptanmış, *K.pneumoniae* izolatlarında pAmpC beta-laktamaz bulunamamıştır<sup>(28)</sup>.

Moleküler yöntemlerin pAmpC beta-laktamazların varlığını tespit etmede altın standart olmalarına rağmen laboratuvarında uygulamaları zor ve pahalıdır. CLSI'nın AmpC beta-laktamazların saptanması için bir önerisi olmadığından laboratuvarlarda AmpC beta-lakta-

mazların saptanması hala önemli bir problemdir. Önceden yapılmış çalışmalarda pAmpC beta-laktamazların saptanması için tarama testi olarak olarak, sefoksitine orta dirençli veya dirençli izolatların dikkate alınması önerilmiştir<sup>(7,25)</sup>. pAmpC enziminin saptanmasında çeşitli fenotipik yöntemler kullanılmaktadır. İnhibisyon yöntemine dayalı çalışmalar da bu fenotipik yöntemlerdendir. Coudron ve ark.'nın<sup>(14)</sup> boronik asit disk yöntemiyle yaptıkları çalışmada 271 suştan 91'i boronik asit diskiyle pozitif olarak saptanmıştır. MHT ile de AmpC enziminin varlığı araştırılabilmektedir. Yapılan bir çalışmada MHT testinin performansı değerlendirilmiş, duyarlılık ve özgüllük sırasıyla % 100 ve % 94.9 olarak saptanmış, pAmpC pozitifliği için inhibisyon zon sınır değeri  $\geq 3$  mm olarak tespit edilmiştir<sup>(29)</sup>.

Türkiye'de boronik asitli inhibisyon testi ve MHT ile yapılan bir çalışmada 99 *E.coli* suşundan altısında (% 6) ve 114 *K.pneumoniae* suşundan dördünde (% 3.5) pAmpC pozitifliği GSBL ile birlikte tespit edilmiş ve bir *K.pneumoniae* suşunda (% 0.9) GSBL fenotipi maskelenmiş olarak bulunmuştur. Tek başına pAmpC pozitifliği *E.coli* suşlarında % 1 ve *K.pneumoniae* suşlarında % 0.9 oranında tespit edilmiştir<sup>(5)</sup>.

AmpC beta-laktamazlar GSBL'de olduğu gibi rutin duyarlılık testinde seftazidim ve sefotaksim gibi geniş spektrumlu sefalosporinlere yanlış olarak duyarlı saptanmakta ve bunlarla yapılan tedavilerde hastalarda klinik başarısızlık görülmektedir<sup>(8,22)</sup>. Klinik olarak önemli bir grup olan pAmpC beta-laktamazlar, GSBL'lerden daha geniş bir spektrumda ilaç direncine yol açmaktadır<sup>(3,16)</sup>.

Coudron ve ark.'nın<sup>(13)</sup> 2000 yılında yaptıkları bir çalışmada 1286 *E.coli*, *K.pneumoniae*, *P.mirabilis* izolatında plazmid araştırılmış, 683 *E.coli*'nin 13'ünde (% 1.9) sefoksitine direnç saptanmış, bu suşların üçünde (% 23) pAmpC bulunmuş; buna karşılık 371 *K.pneumoniae*'nin 24'ü (% 6.4) sefoksitine dirençli bulunmuş, dördünde (% 16) pAmpC saptanamamıştır. Sefoksitine direncin porin kaybına bağlı olabileceği düşünülmüştür. Çalışmamızda fenotipik yöntemlerden boronik asit inhibisyon testi, MHT ve sefotetanlı E-test kullanılmıştır. pAmpC beta-laktamaz varlığı 42 *E.coli* suşunda % 18.1 oranın-

da saptanmış, 22 *K.pneumoniae* suşunda ise pAmpC beta-laktamaz saptanmamıştır. Bunun nedeni *K.pneumoniae* suşunun az sayıda olması, GSBL tarafından baskılanması veya porin kaybı nedeni ile olabilir. GSBL üretiminin baskılanıp pAmpC'nin tekrar çalışmaması ve PZR yapılmaması bu çalışmanın dezavantajlarıdır.

Sonuç olarak, beta-laktam antibiyotiklerin sık kullanıldığı ülkemizde, pAmpC tipi beta-laktamaz yaygınlığının saptanması, bu dirence sahip etkenlerle oluşan infeksiyon hastalıklarının tedavisinde uygun ampirik tedavinin başlanmasında ve epidemiyolojik veri oluşturulmasında önemlidir. pAmpC beta-laktamaz varlığının fenotipik olarak hızlı ve doğru olarak ortaya çıkarılması klinik açıdan doğru ve etkin tedavi rejimlerinin uygulanmasını sağlayacaktır.

#### KAYNAKLAR

1. Adler H, Fenner L, Walter P et al. Plasmid-mediated AmpC beta-lactamases in Enterobacteriaceae lacking inducible chromosomal ampC genes: prevalence at a Swiss university hospital and occurrence of the different molecular types in Switzerland, *J Antimicrob Chemother* 2008;61(2):457-8.  
<http://dx.doi.org/10.1093/jac/dkm472>  
PMid:18065410
2. Ambler RP. The structure of beta-lactamases, *Philos Trans R Soc Lond Biol Sci* 1980;289(1036):321-31.  
<http://dx.doi.org/10.1098/rstb.1980.0049>
3. Arora S, Bal M. AmpC beta-lactamase producing bacterial isolates from Kolkata hospital, *Indian J Med Res* 2005;122(3):224-33.  
PMid:16251779
4. Bauernfeind A, Chong Y, Schweighart S. Extended broad spectrum  $\beta$ -lactamase in *Klebsiella pneumoniae* including resistance to cephamycins, *Infection* 1989;17(5):316-21.  
<http://dx.doi.org/10.1007/BF01650718>  
PMid:2689349
5. Baykal A, Çöplü N, Şimşek H, Esen B, Gür D. Kan izolatu *E.coli* ve *K.pneumoniae* suşlarında genişlemiş spektrumlu beta-laktamaz, KPC-tip karbapenemaz ve plazmid aracılı AmpC beta-laktamaz varlığının araştırılması, *Mikrobiyol Bul* 2012;46(2):159-69.  
PMid:22639305
6. Beesley T, Gascoyne N, Knott-Hunziker V et al. The inhibition of class C beta-lactamases by boronic acids, *Biochem J* 1983;209(1):229-33.  
PMid:6405733 PMCID:1154076
7. Black JA, Moland ES, Thomson KS. AmpC disk test for detection of plasmid-mediated AmpC beta-lactamases in Enterobacteriaceae lacking chromosomal AmpC beta lactamases, *J Clin Microbiol* 2005;43(7):3110-3.  
<http://dx.doi.org/10.1128/JCM.43.7.3110-3113.2005>  
PMid:16000421 PMCID:1169113
8. Black JA, Thomson KS, Buynak JD, Pitout JD. Evaluation of beta-lactamase inhibitors in disk tests for detection of plasmid-mediated AmpC beta-lactamases in well-characterized clinical strains of *Klebsiella* spp., *J Clin Microbiol* 2005;43(8):4168-171.  
<http://dx.doi.org/10.1128/JCM.43.8.4168-4171.2005>  
PMid:16081967 PMCID:1233919
9. 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.  
<http://dx.doi.org/10.1128/CMR.14.4.933-951.2001>  
PMid:11585791 PMCID:89009
10. Bush K, Jacoby GA, Medeiros AA. A functional classification scheme for beta-lactamases and its correlation with molecular structure, *Antimicrob Agents Chemother* 1995;39(6):1211-33.  
<http://dx.doi.org/10.1128/AAC.39.6.1211>  
PMid:7574506 PMCID:162717
11. Bush K. New beta-lactamases in gram-negative bacteria: diversity and impact on the selection of antimicrobial therapy, *Clin Infect Dis* 2001;32(7):1085-9.  
<http://dx.doi.org/10.1086/319610>  
PMid:11264037
12. Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). Performance standards for antimicrobial susceptibility testing; Twentieth informational supplement, M100-S21, CLSI, Wayne PA (2011).
13. Coudron PE, Hanson ND, Climo MW. Occurrence of extended-spectrum and AmpC beta-lactamases in bloodstream isolates of *Klebsiella pneumoniae*: isolates harbor plasmid-mediated FOX-5 and ACT-1 AmpC beta-lactamases, *J Clin Microbiol* 2003;41(2):772-7.  
<http://dx.doi.org/10.1128/JCM.41.2.772-777.2003>  
PMid:12574281 PMCID:149714
14. Coudron PE. Inhibitor-based methods for detection of plasmid-mediated AmpC beta-lactamases in *Klebsiella* spp., *Escherichia coli*, and *Proteus mirabilis*, *J Clin Microbiol* 2005;43(8):4163-7.

- <http://dx.doi.org/10.1128/JCM.43.8.4163-4167.2005>  
PMid:16081966 PMCid:1233913
15. Demirbakan H, Midilli K, Ögünç D ve ark. Sefoksitine dirençli ya da az duyarlı saptanan *Klebsiella* spp. ve *Escherichia coli* izolatlarında plazmid aracılı AmpC beta-laktamaz enzim tiplerinin araştırılması, *Mikrobiyol Bul* 2008;42(4):545-51.  
PMid:19149075
  16. Ding H, Yang Y, Lu Q, Wang Y, Chen Y, Deng L. The prevalence of plasmid-mediated AmpC beta-lactamases among clinical isolates of *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae* from five children's hospitals in China, *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 2008;27(10):915-21.  
<http://dx.doi.org/10.1007/s10096-008-0532-4>  
PMid:18449580
  17. Doi Y, Potoski BA, Adams-Haduch JM, Sidjabat HE, Pasculle AW, Paterson DL. Simple disk-based method for detection of *Klebsiella pneumoniae* carbapenemase-type beta-lactamase by use of a boronic acid compound, *J Clin Microbiol* 2008;46(12):4083-6.  
<http://dx.doi.org/10.1128/JCM.01408-08>  
PMid:18923005 PMCid:2593264
  18. Goossens H. MYSTIC (Meropenem Yearly Susceptibility Test Information Collection) results from Europe: comparison of antibiotic susceptibilities between countries and centre types, *J Antimicrob Chemother* 2000;46(Suppl B):39-52.  
[http://dx.doi.org/10.1093/jac/46.suppl\\_2.39](http://dx.doi.org/10.1093/jac/46.suppl_2.39)
  19. Hemalatha V, Padma M, Sekar U, Vinodh TM, Arunkumar AS. Detection of AmpC beta-lactamases production in *Escherichia coli* and *Klebsiella* by an inhibitor based method, *Indian J Med Res* 2007;126(3):220-3.  
PMid:18037717
  20. Rice LB, Bonomo RA. Antibakteriyel İlaçlara Direnç Mekanizmaları, "Murray PR, Baron EJ, Jorgensen JH, Landry ML, Pfaller MA (eds). Manual of Clinical Microbiology, 9. baskı (Çeviri ed, Başustaoglu A)" kitabında s.1114-71, Atlas Kitapçılık, Ankara (2009).
  21. Manchanda V, Singh NP. Occurrence and detection of AmpC beta-lactamases among Gram-negative clinical isolates using a modified three-dimensional test at Guru Tegh Bahadur Hospital, Delhi, India, *J Antimicrob Chemother* 2003;51(2):415-8.  
<http://dx.doi.org/10.1093/jac/dkg098>  
PMid:12562713
  22. Pai H, Kang CI, Byeon JH et al. Epidemiology and clinical features of bloodstream infections caused by AmpC-type-beta-lactamase-producing *Klebsiella pneumoniae*, *Antimicrob Agents Chemother* 2004;48(10):3720-8.  
<http://dx.doi.org/10.1128/AAC.48.10.3720-3728.2004>  
PMid:15388426 PMCid:521917
  23. Philippon A, Arlet G, Jacoby GA. Plasmid-determined AmpC-type beta-lactamases, *Antimicrob Agent Chemother* 2002;46(1):1-11.  
<http://dx.doi.org/10.1128/AAC.46.1.1-11.2002>  
PMid:11751104 PMCid:126993
  24. Robberts FJL, Kohner PC, Patel R. Unreliable extended-spectrum beta-lactamase detection in the presence of plasmid-mediated AmpC in *Escherichia coli* clinical isolates, *J Clin Microbiol* 2009;47(2):358-61.  
<http://dx.doi.org/10.1128/JCM.01687-08>  
PMid:19109470 PMCid:2643682
  25. 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;9(8):2864-72.  
<http://dx.doi.org/10.1128/JCM.39.8.2864-2872.2001>  
PMid:11474005 PMCid:88252
  26. Thomson KS. Controversies about extended spectrum and AmpC beta lactamases, *Emerg Infect Dis* 2001;7(2):333-6.  
<http://dx.doi.org/10.3201/eid0702.010238>  
PMid:11294735 PMCid:2631719
  27. Tosun A. Hastane infeksiyonu etkeni olan *Escherichia coli* ve *Klebsiella pneumoniae* izolatlarında plazmid kökenli AmpC beta-laktamaz varlığının araştırılması, Uzmanlık tezi, İstanbul Üniversitesi Cerrahpaşa Tıp Fakültesi, İstanbul (2004).
  28. Uluhan DZ, Gönüllü N. Klinik örneklerden izole edilen *Escherichia coli* ve *Klebsiella pneumoniae* suşlarında plazmidik Amp C tipi Beta-laktamaz direncinin araştırılması, *Türkiye Klinikleri J Med Sci* 2012;32(6):1586-93.  
<http://dx.doi.org/10.5336/medsci.2011-26981>
  29. Yong D, Park R, Yum JH, Lee K et al. Further modification of the Hodge test to screen AmpC beta-lactamase (CMY-1)-producing strains of *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae*, *J Microbiol Methods* 2002;51(3):407-10.  
[http://dx.doi.org/10.1016/S0167-7012\(02\)00053-2](http://dx.doi.org/10.1016/S0167-7012(02)00053-2)