

İdrar Yolu İnfeksiyonu Etkeni Gram-Negatif Çomaklarda Genişlemiş Spektrumlu β -Laktamazların Çift Disk Sinerji Yöntemi ile Belirlenmesi

Özden Büyükbaba, Derya Aydın, Özdem Anğ

Özet: İstanbul Tıp Fakültesi, Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı'na üriner sistem infeksiyonu (ÜSİ) ön tanısı ile gönderilen idrar örneklerinden izole edilen 37 *K.pneumoniae*, 65 *E.coli* ve 17 *Enterobacter spp.* olmak üzere toplam 119 Gram negatif çomakta çift disk sinerji yöntemi ile genişlemiş spektrumlu β -laktamaz (extended spectrum β -lactamase; ESBL) araştırılmıştır. *K.pneumoniae* suşlarının % 43.2'sinde ve *Enterobacter* suşlarının %17.6'sında ESBL varlığı gösterilirken, *E.coli* suşlarında ESBL üretimi belirlenmemiştir. İstatistiksel değerlendirmede, çift disk sinerji yöntemi ile ESBL belirlemede aztreonam, sefotaksim, seftazidim ve sefodizim arasında anlamlı bir fark bulunmamıştır ($p>0.05$). ESBL'ların üretiminden sorumlu olan plazmidlerin aynı zamanda aminoglikozidler, tetrasiklinler, kloramfenikol, sülfonamidler ve trimetoprim direnç genlerini de taşıyabileceği gözönüne alınarak bu antimikrobiyal maddelere direnç durumu araştırılmıştır. ESBL oluşturan 16 *K.pneumoniae* suşının hiçbirinde bu ajanlara direnç görülmemiş, ESBL oluşturan üç *Enterobacter* suşunun ikisinde bu antimikrobiyal ajanların tümüne direnç belirlenmiştir.

Anahtar Sözcükler: Genişlemiş spektrumlu β -laktamaz, çift disk sinerji yöntemi.

Summary: Determination of extended spectrum β -lactamases with the double-disk synergy method in Gram-negative rods causing urinary tract infections. Extended spectrum β -lactamases (ESBL) were investigated with the double-disk synergy method in 119 Gram-negative rods consisting of 37 *K.pneumoniae*, 65 *E.coli* and 17 *Enterobacter spp.* isolated from urinary samples sent to Department of Microbiology and Clinical Microbiology, Istanbul Faculty of Medicine, with presumptive diagnosis of urinary tract infections. Presence of ESBL were seen in 43.2% of *K.pneumoniae* strains and 17.6% of *Enterobacter* strains, whereas no ESBL production were detected in *E.coli* strains. In statistical evaluation no significant difference ($p>0.05$) was found between aztreonam, cefotaxime, ceftazidime and cefodizime in determining ESBL with the double disk synergy method. Considering that plasmids which are responsible for the production of ESBL may also carry resistance genes to aminoglycosides, tetracyclines, chloramphenicol, sulphonamides and trimethoprim, resistance to these antimicrobial agents were also investigated. Among the 16 *K.pneumoniae* strains producing ESBL there was no resistance to these agents whereas in two of the three *Enterobacter* strains producing ESBL, resistance to all of these antimicrobial agents was determined.

Key Words: Extended spectrum β -lactamases, double-disk synergy method.

Giriş

β -laktamazlar penisilin, sefalosporin ve diğer β -laktam antibiyotiklere bağlanarak onları hidrolize eden ve bu yolla bakteriyel dirence neden olan enzimlerdir. Bu enzimler, kromozom, plazmid ya da transpozon kaynaklı olabilirler (1-5).

Enterobacteriaceae ailesindeki Gram-negatif çomakların çoğu kromozom kaynaklı konstitütif veya indüklenbilir β -laktamaz ürettiklerinden, üçüncü kuşak sefalosporinler dışındaki β -laktam antibiyotiklere direnç gösterirler. Bunların en önemlisi tip 1 β -laktamazlardır. Bu bakterilerde plazmid kaynaklı β -laktamazlarla oluşan direnç daha sık görülür. Geniş spektrumlu olan bu enzimler içinde TEM-1 ve SHV-1 en sık rastlananlardır. Bunlar ampisilin, karbenisilin, tikarsilin, sefalotin ve sefamandole etkili; yeni sefalosporinler, monobaktamlar, sefamisinlere ise etkisiz ve β -laktamaz inhibitörlerine duyarlı enzimlerdir (1-3).

Klebsiella suşlarında üçüncü kuşak sefalosporinlere karşı plazmid kaynaklı direnç ilk kez 1983'te bildirilmiş, daha sonra benzer direnç, *Enterobacteriaceae* ailesindeki diğer cinslerde de gösterilmiştir (5-9). Genişlemiş spektrumlu β -laktamaz (extended spectrum β -lactamase; ESBL) olarak adlandırılan bu enzimleri kodlayan genlerin 80-300 kb büyüklüğünde plazmidler üzerinde taşındığı gösterilmiştir. Bu enzimlerin transpozonlarla da taşınabileceğini gösteren kanıtlar elde edilmişse de bunlar henüz kesinleşmemiştir (1,4,6,8,9).

Bugüne kadar tanımlanan ESBL'ların TEM veya SHV enzimlerinin modifikasyonu olduğu saptanmıştır. Ayrıca TEM ve SHV tü-

revi olmayan, yine plazmidde taşınan MIR-1, BIL-1, MEN-1, OXA-II, KH gibi ESBL'lar da bulunmuştur (10-14). *Klebsiella pneumoniae* ve *Escherichia coli* suşlarında kromozom kökenli ESBL'lar bulunduğu bildirilmiştir (4). ESBL'ları kodlayan plazmidlerin başka antimikrobiyal ajanlara direnç genlerini de taşıyabildikleri ve bu yolla başta, aminoglikozidler, sülfonamidler ve tetrasiklinler, daha ender olarak da kloramfenikol ve trimetoprim direnç geliştirebildikleri bildirilmiştir (5,7,15).

Üçüncü kuşak sefalosporinleri ve aztreonamı hidrolize eden, buna karşılık sefamisinlere (sefoksitin, moksalaktam) ve karbapenemlere (imipenem, meropenem) etkisiz olan ESBL'ların en önemli özelliklerinden biri de klavulanik asid ve diğer β -laktamaz inhibitörleri ile inaktive olmalarıdır (3,5,16).

Hibridizasyon deneyleri ile tanımlanan 50'den fazla ESBL'in TEM-1, TEM-2 ve SHV-1 β -laktamaz genlerinde meydana gelen basit nokta mutasyonları sonucunda enzimin aktif bölgesinde bulunan 1-4 anahtar amino asidin değişikliğe uğraması sonucu ortaya çıktığı belirlenmiştir (1,17).

Sefotaksim, seftriakson, seftazidim gibi üçüncü kuşak sefalosporinler (oksiiminosefalosporinler) 7-aminosefalosporanik asid nükleusunun 7-b yan zincirinde bir aminotiazol ve bir oksimin grubu taşırlar. Mutasyon sonucunda ESBL molekülünün çukur bölgesindeki aktif alanda meydana gelen değişikliklerin enzimin üçüncü kuşak sefalosporinlere olan uygunluğunu artırdığını ve ESBL'ların geniş spektrumlu β -laktam antibiyotikleri hidrolize edebildiği bildirilmiştir (3,18).

ESBL'lar duyarlılık deneylerinde, sefotaksim, seftriakson, seftazidim ve/veya aztreonama direnç görülmesi ile belirlenebilirler. Ancak bazen ESBL oluşturan bakterilerle yapılan duyarlılık deneylerinde bu antibiyotiklere direnç veya orta duyarlılık saptana-

maz ve bu suşlar yanlışlıkla duyarlı olarak tanımlanabilirler. Bu durumda direnç belirlenemediği için tedavi başarısız kalır (18,19).

Bu nedenle laboratuvarlarda rutin olarak ESBL'ların belirlenmesi gereklidir. Bu amaçla kullanılan başlıca yöntemler şunlardır: [1] rutin antibiyogram deneylerinde geniş spektrumlu sefalosporinlere veya aztreonama duyarlılığın azalmasının gözlenmesi (20); [2] dilüsyon deneylerinde minimal inhibitör konsantrasyonların (MİK) standard inokulumlardan daha yüksek bakteri inokulumları kullanılarak belirlenmesi (21); [3] çift disk sinerji deneyi (20); [4] üç boyutlu test (22).

Çalışmamızda uygulanması en pratik yöntem olan çift disk sinerji deneyi ile ve ilgili β -laktam antibiyotiklere duyarlılık azalması incelenerek ESBL'lar araştırılmıştır.

Yöntemler

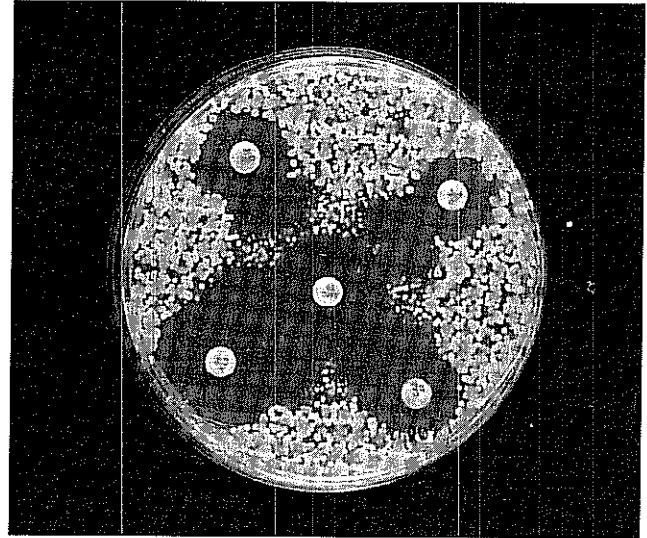
Üriner sistem infeksiyonu ön tanısı ile çoğunluğu poliklinik hastalarından alınan idrar örneklerinden izole edilen 37 *K.pneumoniae*, 65 *E.coli* ve 17 *Enterobacter* spp. olmak üzere, toplam 119 suşta EBSL üretimi çift disk sinerji deneyi ile araştırılmış, ayrıca tüm suşların NCCLS standartlarına (23) uygun olarak disk difüzyon yöntemi ile aztreonam, seftazidim, sefotaksim, sefoperazon, sefodizim, piperasilin, mezlosilin ve meropeneme duyarlılıkları incelenmiştir.

Çift disk sinerji deneyinde, disk difüzyon yönteminin standartlarına uyularak, suşlar Mueller-Hinton agar besiyerine yayılmış, merkeze amoksisilin-klavulanik asid diski konulmuş, çevreye ise merkezden merkeze uzaklıkları 3 cm olacak şekilde aztreonam, seftazidim, sefotaksim, sefodizim diskleri yerleştirilmiştir. 35°C'de 18-20 saatlik inkübasyondan sonra sonuçlar değerlendirilmiştir. Aztreonam, seftazidim, sefotaksim ve sefodizime ait inhibisyon zonlarının klavulanik asid diski karşısında genişlemesi veya iki inhibisyon zonu arasındaki bakteri üreyen alanda üremenin inhibe edildiği bir bölgenin görülmesi suşun ESBL oluşturduğunun göstergesi olarak değerlendirilmiştir (Resim 1). Deneyde negatif kontrol olarak *E.coli* ATCC 25922 suşu kullanılmıştır.

ESBL üretimi belirlenen 19 suşun yine NCCLS standartlarına uygun olarak gentamisin, tobramisin, amikasin, netilmisin, tetrasiklin, kloramfenikol ve trimetoprim-sülfametoksazole duyarlılıkları disk difüzyon yöntemi ile incelenmiştir.

Sonuçlar

Üriner sistem infeksiyonu etkeni olarak izole edilen 119 Gram-negatif çomak suşunun sekiz β -laktam antibiyotiğe direnç durumu incelendiğinde; mezlosiline (% 48) ve piperasiline (% 47) yüksek oranda direnç belirlenirken, meropeneme tüm suşların duyarlı olduğu saptanmıştır. Aztreonam ve üçüncü kuşak sefalosporinlere ise (% 17-20) arasında değişen oranlarda direnç belirlenmiştir (Tablo 1). Çift disk sinerji deneyi ile 37 *K.pneumoniae* suşunun 16'sında (% 43.2), 17 *Enterobacter* suşunun ise 3'ünde (%17.6)



Resim 1. Çift disk sinerji yöntemi ile ESBL belirlenmesi (Pozitif sonuç).

ESBL üretimi belirlenirken, 65 *E.coli* suşunun hiçbirinde ESBL üretimi saptanmamıştır (Tablo 2).

ESBL ürettiği belirlenen toplam 19 suşun tümünde aztreonamın tanımlayıcı olduğu saptanmış, 18'inin sefotaksim, 17'sinin sefodizim ve 16'sının seftazidim ile de belirlendiği gözlenmiştir. İstatistiksel değerlendirmede çift disk sinerji yöntemi ile ESBL belirlemede bu β -laktamların seçiciliği yönünden anlamlı bir fark bulunmadığı ($p>0.05$) saptanmıştır.

ESBL oluşturan suşlarla yapılan disk difüzyon deneyinde aztreonam, seftazidim, sefodizim ve sefotaksim karşısında meydana gelen ortalama inhibisyon zon çapları incelendiğinde; 16 *K.pneumoniae* suşunun tümünün sefotaksime duyarlı olduğu, aztreonam, seftazidim ve sefodizime ise dirençli olduğu belirlenmiştir. Üç *Enterobacter* suşunun ise, aztreonam, seftazidim ve sefotaksime duyarlı, sefodizime dirençli olduğu saptanmıştır (Tablo 3).

ESBL üreten 16 *K.pneumoniae* suşunun gentamisin, tobramisin, amikasin, netilmisin, tetrasiklin, kloramfenikol ve trimetoprim-sülfametoksazole duyarlı; üç *Enterobacter* suşundan ikisinin ise bu antimikrobiyal ajanların tümüne dirençli, birinin tümüne duyarlı olduğu belirlenmiştir.

İrdeleme

Birinci ve ikinci kuşak sefalosporinler, Gram-negatif çomaklar tarafından üretilebilen TEM ve SHV β -laktamazlarına duyarlı olduklarından, tedavide kullanımları sınırlıdır. 7-amino-sefalosporanik asid nükleusunun yan zincirlerinde değişiklikler yapılarak geliştirilen yeni kuşak sefalosporinler ise, TEM ve SHV β -laktamazlarına dirençli olduklarından, günümüzde sıklıkla kullanılmaktadır. Ancak 1983 yılından itibaren yeni kuşak sefalosporinleri etkisiz kılan ESBL'lara gidecek artan oranlarda rastlanmaktadır.

Enterobacteriaceae ailesinde bulunan birçok cinsin ESBL oluşturduğu, en sık ESBL üreten türün ise *K.pneumoniae* olduğu bildirilmiştir. Bazı araştırmacılar, bunun nedeni olarak *K.pneumoniae*'de spontan mutasyonların daha sık olmasını ileri

Tablo 1. İncelenen Gram-Negatif Çomaklarda β -Laktam Antibiyotiklere Direnç*

	ATM	CAZ	CTX	CFP	CDZ	PRL	MEZ	MEM
<i>K.pneumoniae</i> (n=37)	19	19	19	15	19	24	25	0
<i>E.coli</i> (n=65)	0	0	0	8	2	29	28	0
<i>Enterobacter</i> spp. (n=17)	2	2	1	1	2	3	4	0
Toplam (n=119)	21 (% 18)	21 (% 18)	20 (% 17)	24 (% 20)	23 (% 19)	56 (% 47)	57 (% 48)	0

*Oria duyarlı suşlar dirençli olarak sınıflandırılmıştır.
ATM: Aztreonam, CAZ: Seftazidim, CTX: Sefotaksim, CFP: Sefoperazon, CDZ: Sefodizim, PRL: Piperasilin, MEZ: Mezlosilin, MEM: Meropenem.

Tablo 2. Çift Disk Sinerji Yönteminde ESBL Üretiminin Belirleyicisi Olan β -Laktam Antibiyotikler

	ATM+CDZ	CTX+ATM	CAZ+CTX+ATM	CTX+ATM+CDZ	CAZ+CTX+CDZ+ATM	Toplam n	(%)
<i>K.pneumoniae</i> (n=37)	0	1	1	1	13	16	(43.2)
<i>Enterobacter</i> spp. (n=17)	1	0	0	0	2	3	(17.6)

Tablo 3. ESBL Oluşturan Suşlarda Disk Difüzyon Deneyi ile Belirlenen Ortalama İnhibisyon Zon Çapları (mm)

	ATM (≥ 22) [*]	CAZ (≥ 18) [*]	CTX (≥ 23) [*]	CDZ (≥ 23) [*]
<i>K.pneumoniae</i> (n=16)	14.8	17	25.3	16.8
<i>Enterobacter</i> spp. (n=3)	23	23.3	27	21

*Duyarlılık sınırı

sürmüşlerdir. Plazmidler tarafından kodlanan ESBL'lar *Klebsiella oxytoca*, *Enterobacter aerogenes*, *Enterobacter cloacae*, *Serratia marcescens*, *E.coli*, *Levinea malonatica* (*Citrobacter koserii*), *Morganella morganii*, *Citrobacter freundii*, *Salmonella* spp., *Pseudomonas aeruginosa*'da da gösterilmiştir (5,16,17,24).

Fransa'da 16 hastaneyi kapsayan bir çalışmada, *K.pneumoniae* suşlarının % 9'unun ESBL oluşturduğu bildirilmiştir (25). Yine Fransa'da 1985-1987 yılları arasında yapılan bir çalışmada, hastaların kan, cerahat, idrar örneklerinden izole edilen *K.pneumoniae* ve *E.coli* suşları çift disk sinerji deneyi ile ESBL için incelenmiş, idrar örneklerinden izole edilen *K.pneumoniae* suşlarının % 19.8'inde, *E.coli* suşlarının ise % 2.4'ünde ESBL varlığı bildirilmiştir (8).

1988-90 yılları arasında Fransa'da 12 üniversite hastanesi laboratuvarından toplanan 3671 *K.pneumoniae* suşunun, amoksisilin-klavulanik asidin, seftazidim, seftoksims ve aztreonam ile sinerjist etki oluşturması incelenerek ESBL varlığı araştırılmıştır. İdrar örneklerinden 1988 yılında izole edilen 489 *K.pneumoniae* suşunda ESBL'lara bağlı direnç % 9.4, 1989 yılında izole edilen 523 *K.pneumoniae* suşunda % 13.6, 1990 yılında izole edilen 438 *K.pneumoniae* suşunda % 10.7 olarak belirlenmiştir. Ayrıca diğer muayene maddelerinden izole edilen *K.pneumoniae* suşlarında da % 13.6'dan % 27.2'ye kadar yükselen ESBL'lara bağlı direnç saptanmıştır. Aynı çalışmada incelenen 5324 *E.coli* suşunun sadece 5'inde (% 0.09), 612 *Enterobacter* suşunun ise 15'inde (% 2.4) ESBL varlığı gösterilmiştir (15).

İngiltere'de Liu ve arkadaşları (2) yaptıkları bir çalışmada *K.pneumoniae* suşlarının %16'sının ESBL oluşturduğu bildirilmiştir.

Abacıoğlu ve arkadaşları (26,27) bu konuda yaptıkları bir çalışmada yenidoğan birimindeki nozokomiyal bir salgın döneminde 34 hastadan izole edilen *K.pneumoniae* suşlarının tümünün ESBL ürettiği bildirilmiş, aynı merkezde yapılan bir başka çalışmada 24 *K.pneumoniae* suşunun çift disk sinerji deneyi ile 15'inde (% 62), E testi ile 12'sinde (% 50) ESBL oluşumu belirlenmiştir.

Hastane kaynaklı Gram-negatif çomaklarda Vahaboğlu ve arkadaşları (28) çift disk sinerji yöntemi ile ESBL üretimini % 24 olarak bildirmişlerdir.

Eskitürk ve arkadaşları (29) akut bakım gerektiren hastalardan izole ettikleri *Klebsiella* suşlarında, çift disk sinerji ve E testini karşılaştırmalı olarak kullanarak ESBL'ları araştırmışlar, her iki yöntemde de eşit sonuç olarak oranın % 52 olduğunu bildirmişlerdir.

Çalışmamızda ÜŞİ etkeni olarak izole edilen 37 *K.pneumoniae* suşundan 16'sının (% 43.2), 17 *Enterobacter* suşundan 3'ünün (%

17.6) çift disk sinerji yöntemi ile ESBL oluşturduğu belirlenirken incelenen 65 *E.coli* suşunda ESBL'lara rastlanmamıştır. ESBL oluşturan *K.pneumoniae* suşlarından 15'inin poliklinik hastalarına, sadece 2'sinin yatan hastalara ait olması dikkat çekici bulunmuştur. ESBL oluşturan *Enterobacter* spp.'lerin ikisinin yatan, birinin ise poliklinik hastasına ait olduğu; yatan hastalardan birinin üroloji, diğerinin ise kadın hastalıkları ve doğum kliniğinde yattığı belirlenmiştir. Bu bulgular, ESBL ürettiğini saptadığımız suşların nozokomiyal bir salgın dönemine ait olmadığını düşündürmekle birlikte, hastaların daha önceden hastaneye yatıp yatmadıkları konusunda bilgi edinilememiştir.

Laboratuvarlarda rutin olarak yapılan duyarlılık deneylerinde ESBL'ların varlığını gözlemlemek zordur. Ancak, seftoksims, seftazidim, seftriaksone ve/veya aztreonama direncin görülmesi ESBL üretimi için uyarıcı olabilir. Buna karşılık dereprese mutant suşlarda genellikle yeni sefalosporinlere ve aztreonama yüksek düzeyde direnç (MİK, 64 μ g/ml) gözlenirken, ESBL oluşturan suşlarda direnç düşük düzeydedir (MİK, 4-16 μ g/ml). Bu düşük düzeydeki direnç rutin yöntemlerle gösterilemez. Bu durum tedavide ciddi sorunlara ve plazmidler tarafından diğer bakterilere kolayca geçebilen bir direncin gizli kalmasına neden olur (15,22).

Çalışmamızda ESBL ürettiği belirlenen 16 *K.pneumoniae* suşu disk difüzyon yöntemi ile seftoksime duyarlı bulunurken, ESBL üreten üç *Enterobacter* suşunun aztreonam, seftazidim ve seftoksime duyarlı olduğu belirlenmiştir. Bu yanlış sonuçlara engel olmak için duyarlılık deneyleriyle birlikte çift disk sinerji yöntemi gibi pratik bir yöntemle ESBL direncinin de belirlenmesi gerektirir.

Dilüsyon yöntemi ve üç boyutlu yöntem de ESBL varlığını belirlemek için kullanılan yöntemlerdir (22). Ancak pratikte uygulanmaları zordur ve zaman alıcıdır. Çift disk sinerji yöntemi ise uygulanması pratik ve her laboratuvarında kullanılabilir bir yöntemdir. Bazı araştırmacılar çok düşük düzeyde olsa bile ESBL'ların çift disk sinerji yöntemi ile belirlenebileceğini bildirmişler, bu araştırmacılar disk difüzyon yöntemi ile geniş spektrumlu sefalosporinlere duyarlı buldukları suşların yarısının, çift disk sinerji yöntemi ile dirençli olduğunu belirlemişlerdir (15).

Çift disk sinerji yönteminin duyarlılığını azaltan en önemli faktörler, bazı suşların yüksek düzeyde sefalosporinaz oluşturması nedeni ile sinerjist etkinin görülmesinin engellenmesi ve klavulanik asidde meydana gelebilecek potens kaybının yanlış negatif sonuçlara yol açabilmesi olduğu bildirilmiştir (15,30).

Çalışmamızda ESBL oluşturan 19 suşun 19'u aztreonamla, 18'i seftoksimsle, 17'si seftazidimle, 16'sı seftazidimle belirlenmiştir. Bugüne değin ESBL'ların indikatörü olarak seftodizimin kullanıldığı bir çalışmaya rastlanmamıştır. Seftodizim, seftoksimsden merkaptotiazolil grubunun 3. pozisyonundaki bir yan zincirin farklı oluşu ile ayrılan bir üçüncü kuşak sefalosporindir (31). Çalışmamızda bu sefalosporinin de ESBL indikatörü olarak kullanılabilirliği belirlenmiştir.

Çeşitli araştırmacılar ESBL'ları kodlayan plazmidlerin, özellikle aminoglikozidlere, daha ender olarak da tetrasiklin, kloramfenikol trimetoprim ve sülfonamidlere direnç genlerini de birlikte taşıyabileceklerini bildirmişlerdir (5,7,11,15).

Çalışmamızda ESBL üretimi belirlenen 16 *K.pneumoniae* suşunun hiçbirinde gentamisin, amikasin, tobramisin, netilmisin, tetra-

siklin, kloramfenikol ve trimetoprim/sülfametoksazole direnç belirlenmemiştir. Buna karşın ESBL oluşturan üç *Enterobacter* spp. suşunun ikisinin bu antimikrobiyal maddelerin tümüne dirençli oldukları belirlenmiştir.

Plazmid ya da transpozonlar gibi kolay aktarılabilen genetik elemanlar üzerinde kodlanan ESBL'lar tedavide ciddi sorunlara ve nozokomiyal epidemilere neden olabilirler, bu nedenle rutin olarak bu direncin izlenmesi gereklidir.

Kaynaklar

- 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
- Liu P, YF, Gür D, Hall LMC, Livermore DM. Survey of the prevalence of β -lactamases amongst 1000 Gram-negative bacilli isolated consecutively at the Royal London Hospital. *J Antimicrob Chemother* 1992; 30: 429-32
- Philippon A, Labia R, Jacoby G. Extended-spectrum β -lactamases. *Antimicrob Agents Chemother* 1989; 33: 1131-6
- Pörmull KJ, Göransson E, Rytting AS, Dornbusch K. Extended-spectrum β -lactamases in *Escherichia coli* and *Klebsiella* spp. in European septicaemia isolates. *J Antimicrob Chemother* 1993; 32: 559-70
- Jacoby GA, Medeiros AA. More extended-spectrum β -lactamases. *Antimicrob Agents Chemother* 1991; 35: 1697-704
- 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; ii: 302-7
- Collatz E, Labia R, Gutmann L. Molecular evaluation of ubiquitous β -lactamases towards extended-spectrum enzymes active against newer β -lactam antibiotics. *Molecular Microbiol* 1990; 4: 1615-20
- De Champs C, Sirot D, Chanal C, Poupard MC, Dumas MP, Sirot J. Concomitant dissemination of three extended-spectrum β -lactamases among different Enterobacteriaceae isolated in a French hospital. *J Antimicrob Chemother* 1991; 27: 441-4
- Knothe H, Shah P, Kremery V, Antal M, Mitsuhashi S. Transferable resistance to cefotaxime, cefoxitin, cefamandole and cefuroxime in clinical isolates of *Klebsiella pneumoniae* and *Serratia marcescens*. *Infection* 1983; 11: 315-9
- Jacoby GA, Sutton L. Properties of plasmids responsible for production of extended-spectrum β -lactamases. *Antimicrob Agents Chemother* 1991; 35: 164-9
- Hall LMC, Livermore DM, Gür D, Akova M, Akalın HE. OXA-11, an extended spectrum variant of OXA-10 (PSE-2) β -lactamase from *Pseudomonas aeruginosa*. *Antimicrob Agents Chemother* 1993; 37: 1637-40
- Papanicolaou GA, Medeiros AA, Jacoby GA. Novel plasmid-mediated β -lactamase (MIR-1) conferring resistance to oxyimino- and α -methoxy β -lactams in clinical isolates of *Klebsiella pneumoniae*. *Antimicrob Agents Chemother* 1990; 34: 2200-9
- Payne DJ, Woodruff N, Amyes SGB. Characterization of the plasmid-mediated β -lactamase BIL-1. *J Antimicrob Chemother* 1992; 30: 119-21
- Wu SW, Dornbusch K, Norgren M, Kronvall G. Extended spectrum β -lactamase from *Klebsiella oxytoca*, not belonging to the TEM or SHV family. *J Antimicrob Chemother* 1992; 30: 3-15
- Sirot DL, Goldstein F W, Soussy C J, et al. Resistance to cefotaxime and seven other β -lactams in members of the family Enterobacteriaceae: a 3-year survey in France. *Antimicrob Agents Chemother* 1992; 36: 1677-80
- Vedel G, Belaouaj A, Gilly L, et al. Clinical isolates of *Escherichia coli* producing TRI β -lactamases: novel TEM-enzymes conferring resistance to β -lactamase inhibitors. *J Antimicrob Chemother* 1992; 30: 449-61
- Katsanis G, Jacoby G. The frequency of extended-spectrum β -lactamases in isolates of *Klebsiella pneumoniae*. *J Antimicrob Chemother* 1992; 29: 345-50
- Katsanis GP, Spargo J, Ferraro MJ, Sutton L, Jacoby GA. Detection of *Klebsiella pneumoniae* and *Escherichia coli* strains producing extended spectrum β -lactamases. *J Clin Microbiol* 1994; 32: 691-6
- Washington JA, Knapp CC, Sanders CC. Accuracy of microdilution and the Auto-Microbic system in detection of β -lactam resistance in Gram-negative bacterial mutants with derepressed β -lactamase. *Rev Infect Dis* 1988; 10: 824-7
- Jarlier V, Nicolas MH, Fournier G, Philippon A. Extended broad-spectrum β -lactamases conferring transferable resistance to newer β -lactam agents in Enterobacteriaceae: hospital prevalence and susceptibility patterns. *Rev Infect Dis* 1988; 10: 867-77
- Rice LB, Yao JDC, Klimm K, Eliopoulos GM, Moellering RC. Efficacy of different β -lactams against an extended-spectrum β -lactamase producing *Klebsiella pneumoniae* strain in the rat intraabdominal abscess model. *Antimicrob Agents Chemother* 1991; 35: 1243-6
- Thomson KS, Sanders CC. Detection of extended-spectrum β -lactamases in members of the family Enterobacteriaceae: comparison of the double-disk and three-dimensional tests. *Antimicrob Agents Chemother* 1992; 36: 1877-82
- National Committee for Clinical Laboratory Standards. Performance standards for antimicrobial disk susceptibility tests. 4th ed. Approved standard. NCCLS Document M2-A4. Villanova, Pa : NCCLS, 1990
- Mariotte S, Nordmann P, Nicolas MH. Extended-spectrum β -lactamase in *Proteus mirabilis*. *J Antimicrob Chemother* 1994; 33: 925-35
- Thabaut A, Acar J, Arlet G, et al. Sensibilité des *Pseudomonas aeruginosa* et des *Klebsiella* à la ceftazidime. *Presse Med* 1988; 17: 1895-1900
- Abacıoğlu YH, Aslani Mehr M, Gülay Z, İnan S, Yuluğ N. Resistotiping and plasmid profile analysis of multiply resistant *Klebsiella pneumoniae* strains isolated during a nosocomial outbreak. *İnfeksi Derg* 1995; 9: 63-6
- Abacıoğlu YH, Yücesoy M, Gülay Z, Yuluğ N. "Extended spectrum beta-lactamases" saptanmasında E testi ile çift disk sinerji yöntemlerinin karşılaştırılması. *İnfeksi Derg* 1995; 9: 93-8
- Vahaboğlu MH, Mülazımoğlu L, Erdem İ, Yıldırım İ, Taşer B, Aykan V. Taksim Hastanesi'nde β -laktam antibiyotiklere karşı gelişen direncin sürveyansı. *Klimik Derg* 1993; 6: 79-82
- Eskitürk A, Korten V, Söyletir G. Akut bakım gerektiren hastalarda gelişen infeksiyonlardan izole edilen *Klebsiella* türlerinde geniş spektrumlu β -laktamaz (ESBL) direnci sıklığının araştırılması. In: Eraksoy H, Yenen OŞ, eds. 5. Ulusal İnfeksiyon Hastalıkları Kongresi (4-6 Eylül 1995, İstanbul) Kongre Kitabı. İstanbul: Türk Mikrobiyoloji Cemiyeti Yayın No 23, 1995:33
- Moland ES, Thomson KS. Extended-spectrum- β -lactamases of Enterobacteriaceae. *J Antimicrob Chemother* 1994; 33: 666-8
- Maesen FPV, Davies BT, van den Bergh JJAM, Gubbelmans HLL, Meek JCE, Geraedts WH. Cefodizime and cefotaxime in acute exacerbations of chronic bronchitis: a randomized double blind prospective study in 180 patients. *J Antimicrob Chemother* 1990; 25: 413-22