

GENİŞLEMİŞ SPEKTRUMLU BETA-LAKTAMAZ TESPİTİNDE KULLANILAN BAZI FENOTİPİK TESTLERİN KARŞILAŞTIRILMASI*

C. Elif ÖZTÜRK*, A. Demet KAYA**, Muhterem YÜCEL***, Emel ÇALIŞKAN*,
Mustafa BEHÇET****, Handan ANKARALI*****

*Düzce Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, DÜZCE

**Namık Kemal Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, TEKİRDAĞ

***S.B. Düzce Atatürk Devlet Hastanesi, Mikrobiyoloji Laboratuvarı, DÜZCE

****S.B. Yalova Devlet Hastanesi, Mikrobiyoloji Laboratuvarı, YALOVA

*****Düzce Üniversitesi Tıp Fakültesi, Biyoistatistik Anabilim Dalı, DÜZCE

ÖZET

Genişlemiş spektrumlu beta-laktamaz (GSBL) enzimi bazı Gram negatif bakterilerde sefalosporinlere, geniş spektrumlu penisilinlere ve monobaktamlara karşı direnç sorununa neden olmaktadır. Tedavi başarısını arttırmak için bu enzimlerin varlığı çeşitli yöntemlerle araştırılmaktadır. Çalışmamızda Düzce Üniversitesi Araştırma ve Uygulama Hastanesi Klinik Mikrobiyoloji Laboratuvarında üretilen *Escherichia coli* ve *Klebsiella* suşlarında GSBL saptanmasında kullanılan fenotipik testlerin [disk difüzyon tarama testi (DDTT), çift disk sinerji testi (ÇDST), E-test] etkinliği karşılaştırılmıştır. *Klebsiella* spp. ve *K.pneumoniae* suşlarında, tarama testi ve E-test benzer sonuçlar vermiş iken ÇDST diğer testlerin saptayabildiği GSBL'lerin hepsini saptayamamıştır. Bu testin etkinliği, E-test ile karşılaştırıldığında *Klebsiella* spp. için $p=0.002$ ve *K.pneumoniae* için $p=0.041$ düzeyinde ve tarama testi ile karşılaştırıldığında *Klebsiella* spp. için $p=0.001$ ve *K.pneumoniae* için $p=0.041$ düzeyinde, anlamlı olarak düşük bulunmuştur. *E.coli* suşlarında ise farklı olarak; ÇDST ile E-test sonuçları benzer iken ($p=0.187$), tarama testi ÇDST'ne göre anlamlı derecede daha etkin bulunmuştur ($p<0.05$). Sonuç olarak, Gram negatif bakteri kaynaklı infeksiyonların tedavisinde antibiyotiklerin hastaya uygulanıp uygulanmaması konusunda karar verirken ÇDST'nin tek başına kullanılmaması gerektiği, DDTT yapılmasının çok önemli olduğu ve E-test ile doğrulanması gerektiği düşünülmüştür.

Anahtar sözcükler: çift disk sinerji testi, disk difüzyon tarama testi, E-test, genişlemiş spektrumlu beta-laktamaz, GSBL

SUMMARY

Comparison of Various Phenotypic Methods in Detection of Extended-spectrum Beta-lactamases

Extended-spectrum beta-lactamase (ESBL) enzymes of some gram-negative bacteria cause resistance to cephalosporins, broad-spectrum penicillins and monobactams. The presence of these enzymes must be investigated by various methods for the success of the treatment. In this study, the effectiveness of various phenotypic methods for detection of extended-spectrum beta-lactamases [disk diffusion screening test (DDTT), double-disk synergy test (DDST), and E-test] in *Escherichia coli* and *Klebsiella* strains isolated in Clinical Microbiology Laboratory of Duzce University, Medical Faculty were compared. Similar results were obtained with screening test and E-test, whereas DDST was found insufficient in detecting ESBL's that were determined by other methods. The effectivity of this test was found significantly low, when compared with E-test, with results for *Klebsiella* spp. ($p=0.002$) and *K.pneumoniae* ($p=0.041$) and screening test, with results for the *Klebsiella* spp. ($p=0.001$) and *K.pneumoniae* ($p=0.041$). For *E.coli* strains, results obtained with DDST and E-test ($p=0.187$) were found similar but, screening test was significantly effective than DDST ($p<0.05$). As a result, for the decision of the choice of antibiotics in the treatment of Gram-negative bacterial infections, DDST should not be used alone. Use of DDTT is very important and E-test should be used for verification.

Keywords: disk diffusion screening test, double-disk synergy test, ESBL, E-test, extended spectrum beta-lactamase

İletişim adresi: C. Elif Öztürk. Düzce Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, DÜZCE

Tel: (0380) 542 13 90/4142

e-posta:elifozturk1968@yahoo.com

Alındığı tarih: 11.05.2010, revizyon kabulü: 04.06.2010

*Çalışma yazarların tümünün Düzce Tıp Fakültesinde çalıştığı dönemde yapılmıştır.

GİRİŞ

Gram negatif bakterilerde beta-laktamaz üretimi, kromozomlar, plazmidler ya da transpozonlar aracılığı ile sentez edilen ve beta-laktam antibiyotiklerdeki amid bağlarını parçalayan enzimlerdir^(12,19) ve günümüzde 200'den fazla genişlemiş spektrumlu beta-laktamaz (GSBL) enzimi bilinmektedir⁽¹⁷⁾. Genişlemiş spektrumlu beta-laktam antibiyotiklere, in-vitro testlerde duyarlılık saptansa da, bu antibiyotikler GSBL üreten bakterilerin infeksiyonlarında kullanılmamalıdır⁽⁸⁾. İnokülüm etkisi denilen bu durum şöyle açıklanabilir; antibiyotik duyarlılık testlerinde önerilen inokülüm düzeylerinde (örneğin 5×10^5 bakteri/ml) duyarlı bulunan bakteri topluluğu, infeksiyon bölgesinde bakterilerin yoğunluğunun artmasıyla (örneğin 10^7 bakteri/ml) antibiyotiğin minimal inhibitör konsantrasyon (MİK) düzeylerinin yükselmesine neden olmaktadır⁽⁷⁾. Bu sebeple GSBL varlığının saptanabilmesi çok önemlidir. GSBL üreten suşlarda test sonuçları duyarlı gibi görünse de tüm penisilinlere, sefalosporinlere ve aztreonama dirençli şekilde verilmelidir⁽²⁾. Klinik mikrobiyoloji laboratuvarlarında GSBL varlığı çeşitli fenotipik yöntemlerle araştırılmaktadır. 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^(9,21). Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI), *Escherichia coli* ve *Klebsiella* spp. için GSBL tespiti için tarama ve doğrulama testleri önerilerini yayınlamıştır. Buna göre bir tarama testi yapılması ve pozitif bulunanların doğrulanması önerilmektedir⁽²⁾. Tarama testi olarak disk difüzyon yöntemi kullanılmaktadır. Buna göre zon çapı seftazidim için ≤ 22 mm veya sefotaksim için ≤ 27 mm veya seftriakson için ≤ 25 mm veya aztreonam için ≤ 27 mm veya sefopodoksim için ≤ 17 mm bulunursa GSBL kuşkusu vardır⁽⁷⁾. GSBL doğrulama testi olarak ise hem seftazidim, seftazidim-klavulanik asit hem de sefotaksim, sefotaksim-klavulanik asit disklerinin kullanıldığı disk difüzyon testi (kombine disk metodu) ve hem seftazidim, seftazidim-klavulanik asit hem de sefotaksim, sefotaksim-

klavulanik asidin test edildiği sıvı mikrodilüsyon yöntemi kullanılması önerilmektedir⁽²⁾. Doğrulama amacıyla kullanılan E-test yöntemi ise, yayılım temeline dayanan ancak diskler yerine plastik stripler üzerinde bulunan antimikrobiaj ajanın, minimal inhibitör konsantrasyonunun saptanabildiği bir yöntemdir⁽⁶⁾.

Bu çalışmada, klinik mikrobiyoloji laboratuvarımızda üretilen *E.coli* ve *Klebsiella* suşlarında GSBL saptanmasında kullanılan fenotipik testlerden disk difüzyon tarama testi, E-test ve CLSI'nın yayınladığı yeni doğrulama yöntemleri arasında yer almayan ancak birçok laboratuvarında hâlâ kullanılmakta olan ÇDST^(1,9,10,22,24)'nin karşılaştırılması amaçlanmıştır.

GEREÇ VE YÖNTEM

Bu çalışmada, örneklerin toplanması, bakterilerin identifikasyonu ve testlerin çalışılması Düzce Üniversitesi Tıp Fakültesi Mikrobiyoloji laboratuvarında 2007 yılında yapılmıştır. Laboratuvarımıza gönderilen klinik örneklerden elde edilen 110 Gram negatif enterik çomak API 20E (bioMérieux, S.A. Etoile, Fransa) sistemi ile tanımlanmıştır. GSBL saptanmasında kullanılan fenotipik testler (disk difüzyon tarama testi, çift disk sinerji testi ve E-test) karşılaştırılmıştır. Seftazidim, seftriakson ve sefotaksim için 30 µg, amoksisilin-klavulanik asit için 20-10 µg antibiyotik içeren diskler (Bioanalyse, Türkiye) kullanılmıştır.

Disk difüzyon tarama testi ile GSBL varlığının saptanması: McFarland 0.5 bulanıklığında bakteri süspansiyonları hazırlandıktan sonra petri kutularına 4 mm kalınlığında dökülmüş Mueller-Hinton agar (GBL,Türkiye) yüzeyine inoküle edilmiştir. Aralarında 2 cm olacak şekilde antibiyotik diskleri yerleştirilmiştir. Antibiyotik zon çapları ölçüldüğünde seftazidim için < 22 mm, seftriakson için < 25 mm, sefotaksim için < 27 mm olması GSBL pozitif şüphesi olarak değerlendirilmiştir⁽²⁾.

Çift disk sinerji testi (ÇDST) ile GSBL varlığının saptanması: ÇDST için suşlar, standart disk difüzyon yöntemi kurallarına uyularak Mueller-Hinton agar besiyerine yayılmıştır. Merkeze amoksisilin-klavulanik asit ve çevresi-

ne merkezler arası uzaklıklar 20 mm olacak şekilde seftazidim, seftriakson ve sefotaksim diskleri yerleştirilerek 37°C'de 18-24 saat inkübasyondan sonra sonuçlar değerlendirilmiştir. Seftazidim, seftriakson ve sefotaksim disklerinin etrafında oluşan inhibisyon zonunun, amoksisilin-klavulanik asit diskinde doğru genişlemesi GSBL varlığı olarak kabul edilmiştir⁽¹⁵⁾.

E-test (AB Biodisk, İsveç) yöntemi ile GSBL varlığının saptanması: McFarland 0.5 standardına uygun hazırlanan bakteri süspansiyonları Mueller-Hinton agar yüzeyine eküvyonla ekilmiştir. Ekim yapılan plaklara sefotaksim (0.25-16 µg/ml) ve sefotaksim (0.016-1 µg/ml)-klavulanik asit (4 µg/ml) E-test şeritleri 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 olarak kabul edilmiştir⁽²⁾.

İstatistiksel analiz, bağımlı iki oran farkına ait t-testi kullanılarak yapılmıştır. Elde edilen $p < 0.05$ değerleri önemli kabul edilmiştir.

BULGULAR

Çalışmamızda test edilen 110 Gram negatif bakterinin 75 (% 68)'i *E.coli*, 18 (% 16)'i *Klebsiella* spp., 17 (% 16)'si *K.pneumoniae* olarak izole edilmiştir. GSBL tespitinde kullanılan testlerin bakteri türlerine göre dağılımı Tablo 1'de gösterilmiştir.

Tablo 1. Bakteri türlerine göre GSBL pozitiflik sayı ve oranlarının dağılımı [n(%)].

Bakteri	E-test	ÇDST	Seftazidim	Seftriakson	Sefotaksim
<i>E.coli</i> n:75	20 (27)	15 (20)	25 (33)	25 (33)	25 (33)
<i>Klebsiella</i> spp. n:18	10 (56)	2 (11)	10 (56)	13 (72)	13 (72)
<i>K.pneumoniae</i> n:17	5 (29)	1 (6)	5 (29)	5 (29)	5 (29)

Çalışmamızda, GSBL saptanmasında kullanılan yöntemler istatistiksel olarak karşılaştırıldığında E-test yöntemi ile tarama testi arasında anlamlı fark bulunmamıştır. Tarama testinde kullanılan seftazidim, seftriakson ve sefotaksim disklerinin kendi aralarında yapılan istatistiksel analizinde de anlamlı fark saptanmamıştır ($p > 0.05$).

Bu yöntemlerle GSBL saptanması konusunda bakteriler ayrı ayrı incelendiğinde; *Klebsiella* spp. ve *K.pneumoniae* suşlarında, tarama testi ve E-test benzer sonuçlar vermiş iken ÇDST diğer testlerin saptayabildiği GSBL'lerin hepsini saptayamamıştır. Bu testin etkinliği, E-test ile karşılaştırıldığında *Klebsiella* spp. için $p=0.002$ ve *K. pneumoniae* için $p=0.041$ düzeyinde ve tarama testi ile karşılaştırıldığında *Klebsiella* spp. için $p=0.001$ ve *K. pneumoniae* için $p=0.041$ düzeyinde, anlamlı olarak düşük bulunmuştur. *E.coli* suşlarında ise farklı olarak; ÇDST ile E-test sonuçları benzer iken ($p=0.187$), tarama testi ÇDST'ne göre anlamlı derecede daha etkin bulunmuştur ($p < 0.05$). Çalışmamızda kullanılan fenotipik yöntemlerin toplu olarak istatistiksel karşılaştırılması Tablo 2'de gösterilmiştir.

Tablo 2. Çalışmamızda kullanılan fenotipik yöntemlerin istatistiksel olarak karşılaştırılması.

	ÇDST	CAZ	CRO	CTX
E-test	p=0.001	p=0.305	p=0.191	p=0.191
ÇDST	-	p=0.001	p=0.001	p=0.001
CAZ	-	-	p=0.358	p=0.358
CRO	-	-	-	p=1

$P < 0.05$: İstatistiksel olarak anlamlı fark var.

TARTIŞMA

Genişletilmiş spektrumlu beta-laktamazları kodlayan genler sıklıkla birden fazla antibiyotige dirençten sorumlu plazmidlerce taşınarak *Enterobacteriaceae* ailesindeki türler arasında kolaylıkla transfer edilebilmektedir. GSBL üreten suşlarla oluşan infeksiyonlar penisilinler ve sefalosporinlerle tedavi edilemez. Bu nedenle hastanelerde bu tip mikroorganizmaların tanımlanması, uygun şekilde tedavi edilmesi ve gerekli tedbirlerin alınması gerekmektedir⁽¹⁸⁾. GSBL'ler en sık *K.pneumoniae* ve takiben *E.coli* suşlarında görülmekte olup, bunları diğer bakteriler izlemektedir^(4,20). GSBL enzimlerinin *Klebsiella* spp. türlerinde sık görülmesinin başlıca nedenleri, deri ve yüzeylerde diğer enterik bakterilere göre daha uzun süre canlı kalabilmeleri, plazmid ile gen aktarımı ve spontan mutasyonların daha sık görülmesidir⁽²³⁾. GSBL saptanmasında tarama testi olarak, geniş spektrumlu beta-laktam antibiyotiklerin yer aldığı disk difüzyon ve dilüsyon

yöntemleri kullanılmaktadır. 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^(9,11,15).

Disk difüzyon testinde seftazidim, aztreonam, sefotaksim ve seftriaksona karşı direnç durumunun incelenmesi esasına dayanan test, CLSI tarafından başlangıçta bir tarama testi olarak önerilmiştir⁽¹³⁾. Fakat daha sonra bakterilerin bu antibiyotiklere duyarlı olduğu durumda bile GSBL üretebildiği görülmüş ve bu antibiyotiklerin zon çaplarının belli bir sınırdan ya da altında olması, daha duyarlı bir tarama testi olarak kabul görmüştür⁽¹⁴⁾. Fincancı ve ark.⁽³⁾ yaptıkları çalışmada GSBL varlığını saptamada zon çapı ölçümüne dayanan tarama testini, ÇDST ve E-test yöntemlerine göre anlamlı derecede duyarlı bulmuşlardır. Çalışmamızda, zon çapı ölçümüne dayanan tarama testi, GSBL saptama konusunda E-test ile uyumlu, ÇDST'inden daha etkin bulunmuştur.

Tarama testlerinde kullanılan beta-laktam antibiyotiklerin GSBL saptama konusunda hangisinin daha etkin olduğu ile ilgili yapılan bir çalışmada, tarama testinde kullanılan sefalosporinler içinde, en iyi indikatörün seftazidim olduğu vurgulanmış, ayrıca yanlış negatiflikleri önlemek için disk difüzyon tarama testinde en az iki sefalosporinin değerlendirilmesinin uygun olacağı belirtilmiştir⁽¹⁰⁾. Çalışmamızda tarama testinde kullandığımız sefalosporinlerin kendi aralarında üstünlükleri saptanmamış olup seftazidim, seftriakson ya da sefotaksimden iki tanesinin tarama amaçlı kullanılmasının yeterli olacağı düşünülmüştür.

Çift disk sinerji testi, GSBL saptanmasında laboratuvarlarda rutin antibiyogram disk dizimlerini değiştirilerek uygulanan, ülkemizde halen yaygın olarak kullanılan^(1,9,10,22,24), ucuz ve kolay bir yöntemdir. Ancak diskler arasındaki mesafe konusunda tam bir standardizasyonun

olmaması, tüm GSBL'leri saptayamaması, bu yöntemin zayıf noktalarıdır. Özellikle indüklenbilir kromozomal AmpC beta-laktamazı yüksek düzeyde sentezleyen *Enterobacteriaceae* suşlarında inhibisyon zonu oluşmaması veya küçük inhibisyon zonu oluşması nedeniyle negatif sonuç verebilmesi, klavulanat diskinde meydana gelebilecek potens kaybı, ÇDST'nin güvenilirliğini azaltan faktörlerdendir^(9,10). Bazı çalışmalarda aynı suşlar üzerinde disk uzaklıklarını değiştirilerek GSBL taraması yapılmış, diskler arası mesafe fazla olduğunda düşük düzeyde saptanan GSBL oranları, mesafe daraltıldığında anlamlı olarak yüksek düzeyde bulunduğu bildirilmiştir^(3,5). Çalışmamızda diskler arası mesafe 20 mm olarak alınmasına rağmen disk difüzyon tarama testi ile ortalama % 38 ve E-test ile % 32 oranlarında bulunan GSBL pozitifliği, ÇDST ile % 16 olarak saptanmıştır. Bu sonucun, ÇDST'nin standardizasyonu olmayan ve değerlendiren kişinin yorumuna açık bir test olmasından kaynaklandığı düşünülmüştür.

Bakterilerde antibiyotiklere duyarlılık test edilirken, minimal inhibitör konsantrasyon düzeylerinin saptanması klasik olarak sıvı mikrodilüsyon yöntemiyle yapılabildiği gibi E-test ile de kolaylıkla saptanabilmektedir. GSBL saptanmasında, sefotaksim/sefotaksim-klavulanik asit (CT/CTL) ve seftazidim/seftazidim-klavulanik asit (TZ/TZL) E-test stripleri kullanılabilir. Zarakolu ve ark.⁽²⁵⁾ *Pseudomonas aeruginosa* ve *Acinetobacter baumannii* suşlarında GSBL varlığını farklı fenotipik yöntemler kullanılarak değerlendirmişler ve E-test yöntemini, ÇDST ile kombine disk sinerji testlerine göre daha duyarlı bulmuşlardır. Palasubramaniam ve Parasakthi⁽¹⁶⁾ seftazidim dirençli *K.pneumoniae* suşlarında GSBL varlığını ÇDST, inhibitör etkili disk difüzyon ve E-test yöntemleri kullanarak araştırmışlar ve E-test yönteminin GSBL saptanmasında en etkin yöntem olduğu sonucuna varmışlardır. GSBL varlığını saptamada ÇDST ve E-test yöntemleri arasında fark olmadığını gösteren çalışmalar da mevcuttur. Örneğin Yavuz ve ark.⁽²⁴⁾ yaptıkları çalışmada, *Enterobacteriaceae* suşlarında GSBL üretimini ÇDST ve E-test yöntemleri ile araştırmışlar ve iki yöntem arasında anlamlı fark saptamamışlardır. Yurtman ve ark.⁽²²⁾'nin yaptığı çalışmada, GSBL saptamada kul-

lanılan fenotipik yöntemler karşılaştırılmış, ÇDST ve E-test yöntemleri arasında fark bulunmadığı bildirilmiştir. Yine Akçam ve ark.⁽¹⁾'nın yaptığı çalışmada, hastane infeksiyonu etkeni çeşitli Gram negatif bakterilerde GSBL varlığı ÇDST ve E-test yöntemleri ile araştırılmış, iki yöntem arasında anlamlı fark saptanmamıştır. Işık ve ark.⁽⁹⁾ yaptıkları bir çalışmada, yatan hastaların kan kültür örneklerinden soyutlanan *K. pneumoniae* suşlarında GSBL sıklığını ÇDST, E-test ve kombine disk sinerji ile araştırmışlar, üç yöntemin de birbiriyle uyumlu olduğunu bulmuşlardır. Yaptığımız çalışmada ise; *Klebsiella* suşlarında E-test yöntemi ve tarama testi, ÇDST yöntemine göre daha etkin bulunmuşken, *E.coli* suşlarında her üç yöntem uyumlu bulunmuştur.

Sonuç olarak, Gram negatif bakteri kaynaklı infeksiyonların tedavisinde rol alan antibiyotiklerin hastaya uygulanması ya da uygulanmaması konusunda karar verirken, tarama testinin yapılmasının çok önemli olduğu ve E-test ile doğrulanması gerektiği kanısına varılmıştır. ÇDST ise, maliyeti ve uygulama kolaylığı nedeniyle birçok laboratuvar da hâlâ kullanılmasına rağmen, CLSI'nin önerdiği yeni doğrulama yöntemleri arasında yer almaması ve çalışmamızda da saptadığımız gibi etkinliğinin düşük olması nedeniyle, rutin uygulamada dikkatli kullanılması gerektiği ve diskler arasındaki mesafe azaltılarak, tarama testleri ile birlikte kullanıldığında GSBL saptama oranının arttırılabileceği düşünülmüştür.

KAYNAKLAR

1. Akçam FZ, Gönen İ, Kaya O, Yaylı G: Hastane infeksiyonu etkeni çeşitli Gram-negatif bakterilerde genişlemiş spektrumlu beta-laktamaz yapımının iki yöntemle araştırılması, *Klimik Derg* 2004;17(1):47-9.
2. Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) (Çeviri editörü D Gür): Antimikrobik Duyarlılık Testleri İçin Uygulama Standartları, Onsekizinci Bilgi Eki, M100-S18, Bilimsel Tıp Yayınevi, Ankara (2008).
3. Fincancı M, Ulutürk R, Eren G ve ark: *Klebsiella pneumoniae*, *Klebsiella oxytoca* ve *Escherichia coli* kökenlerinde genişletilmiş spektrumlu beta-laktamazların araştırılmasında kullanılan çeşitli yöntemlerin karşılaştırılması, *İnfeksiyon Derg* 2003;17(1):55-60.
4. Güdücüoğlu H, Baykal S, İzci H, Berktaş M: Genişlemiş spektrumlu beta-laktamaz (GSBL) üreten *Escherichia coli* ve *Klebsiella pneumoniae* suşlarının antibiyotiklere direnci, *ANKEM Derg* 2007;21(3):155-60.
5. Gülay Z, Abacioğlu H, Yuluğ N: Çift disk sinerji yönteminde diskler arası uzaklığın sonuca etkisi, *İnfeksiyon Derg* 1995;9(1-2):89-92.
6. Gülay Z: Antimikrobiyal ilaçlara direnç, "Ustaçelebi Ş (ed): Temel ve Klinik Mikrobiyoloji" kitabında s. 91-108, Güneş Kitabevi, Ankara (1999).
7. Gülay Z: Antibiyotik duyarlılık testlerinin yorumu, *Türk Toraks Derg* 2002;3(1):75-88.
8. Heffelfinger JD, Dowell SF, Jorgensen JH et al: Management of community acquired pneumonia in the era of pneumococcal resistance; a report from the Drug Resistant Streptococcus pneumoniae Therapeutic Working Group, *Arch Intern Med* 2000;160:1399-408.
9. Işık F, Arslan U, Tuncer İ: Kan kültürlerinden izole edilen *Klebsiella pneumoniae* suşlarında genişlemiş spektrumlu beta-laktamazların belirlenmesinde üç yöntemin karşılaştırılması, *ANKEM Derg* 2007;21(3):165-70.
10. Kaçmaz B, Özenç ÇF, Aksoy A: Hastane kaynaklı infeksiyonlardan izole edilen *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae* ve *Klebsiella oxytoca* türlerinde genişletilmiş spektrumlu beta-laktamaz saptanması, *ANKEM Derg* 2005;19(3):125-9.
11. 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.
12. Livermore DM: Beta-lactamases: Quantity and resistance, *Clin Microbiol Infect* 1997;3(4):S10-9.
13. National Committee for Clinical Laboratory Standards: Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing. Eighth Informational Supplement, Approved Standard M2-A6 (M100-S8), NCCLS, Wayne, PA (1998).
14. National Committee for Clinical Laboratory Standards: Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing. Ninth Informational Supplement, Approved Standards M2-A6 and M7-A4 (M100-S9), NCCLS, Wayne, PA (1999).

15. National Committee for Clinical Laboratory Standards: Performance Standard for Antimicrobial Disk Susceptibility Testing; Ninth Informational Supplement M100-S9, NCCLS, Wayne, PA (2002).
16. Palasubramaniam S, Parasakthi N: Comparison of three different methods for the presumptive detection of ESBL production in ceftazidim-resistant strains of *Klebsiella pneumoniae*, *Malays J Pathol* 2001;23(2):73-8.
17. Paterson DL, Bonomo RA: Extended spectrum beta-lactamases: A clinical update, *Clin Microbiol Rev* 2005;18(4):657-86.
18. Queenan AM, Foleno B, Gownley C, Wira E, Bush K: Effects of inoculum and beta-lactamase activity in AmpC- and extended-spectrum beta-lactamase (ESBL)-producing *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae* clinical isolates tested by using NCCLS ESBL methodology, *J Clin Microbiol* 2004;42(1):269-75.
19. Sanders CC, Thomson KS, Bradford PA: Problems with detection of beta-lactam resistance among non-fastidious gram-negative bacilli, *Infect Dis Clin North Am* 1993;7(2):411-23.
20. Tzelepi E, Magana CH, Platsouka E et al: Extended-spectrum beta-lactamase types in *Klebsiella pneumoniae* and *Escherichia coli* in two Greek hospitals, *Int J Antimicrob Agents* 2003;21(3):285-8.
21. Vercauteren E, Descheemaeker P, Ieven 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. Yurtman AN, Hoşgör-Limoncu M, Ermertcan Ş, Erač B: Genişlemiş spektrumlu beta-laktamazların saptanmasında fenotipik yöntemlerin karşılaştırılması, *İnfeksiyon Derg* 2009;23(1):5-8.
23. Yavuzdemir Ş, Aysev AD, Güriz H: Hastane kökenli GSBL yapan 50 *Klebsiella pneumoniae* suşunun bazı antibiyotiklere direnç oranları ve GSBL belirlenmesinde diskler arası mesafenin önemi, *Flora* 2001;6(3):196-200.
24. Yavuz MT, Ersan G, Süvarierel M: Enterobacteriaceae kökenlerinde genişlemiş spektrumlu beta-laktamaz üretiminin iki farklı yöntemle araştırılması, *Düzce Tıp Fak Derg* 2005;(2):10-3.
25. Zarakolu P, Metan G, Haşçelik G, Akova M: *Pseudomonas aeruginosa* ve *Acinetobacter baumannii* suşlarında genişlemiş spektrumlu beta-laktamaz varlığının saptanmasında farklı fenotipik yöntemlerin karşılaştırılması, *Mikrobiyol Bült* 2005;39(3):265-72.