

**TÜRKİYE CUMHURİYETİ  
KIRIKKALE ÜNİVERSİTESİ  
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**ATLARIN DIŞKILARINDAN İZOLE EDİLEN  
*ESCHERICHIA COLI* İZOLATLARINDA  
ANTİMİKROBİYAL DİRENÇ VE GENİŞLEMİŞ  
SPEKTRUMLU BETA LAKTAMAZ ÜRETİMİNİN  
FENOTİPİK OLARAK ARAŞTIRILMASI**

**Veteriner Hekim Gamze ÖRNEK**

**MİKROBİYOLOJİ ANABİLİM DALI  
(YÜKSEK LİSANS TEZİ)**

**DANIŞMAN  
Yrd. Doç. Dr. Nilgün ÜNAL**

**2013–KIRIKKALE**

Kırıkkale Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü

Veteriner Mikrobiyoloji Yüksek Lisans Programı çerçevesinde yürütülmüş olan bu çalışma aşağıdaki jüri üyeleri tarafından Yüksek Lisans Tezi olarak kabul edilmiştir.

Tez Savunma Tarihi: / /2013

İmza

Prof. Dr. Murat YILDIRIM  
Kırıkkale Üniversitesi, Veteriner Fakültesi  
Jüri Başkanı

İmza

Prof. Dr. Aylin KASIMOĞLU DOĞRU  
Kırıkkale Üniversitesi, Veteriner Fakültesi

İmza

Yrd. Doç. Dr. Nilgün ÜNAL  
Kırıkkale Üniversitesi, Veteriner Fakültesi

## İÇİNDEKİLER

Kabul ve Onay .....	II
İçindekiler .....	III
Önsöz.....	V
Kısaltmalar.....	VI
Şekiller .....	VIII
Çizelgeler .....	IX
<b>ÖZET.....</b>	<b>1</b>
<b>SUMMARY.....</b>	<b>3</b>
<b>1.GİRİŞ.....</b>	<b>5</b>
1.1. <i>E.coli</i> Genel Özellikleri .....	8
1.2. Antibiyotikler .....	9
1.2.1. Beta-Laktam Antibiyotikler .....	10
1.3. Beta Laktam Antibiyotiklere Direnç Gelişimi .....	11
1.4. Beta Laktamazlar.....	13
1.4.1. Beta Laktamazların Sınıflandırılması.....	14
1.4.2. Genişlemiş Spektrumlu Beta Laktamazlar (GSBL) .....	14
1.4.3. GSBL tipleri .....	16
1.5. GSBL Tanı Yöntemleri .....	17
1.5.1. GSBL Tarama Testleri .....	17
1.5.2. GSBL Doğrulama Testleri .....	17
1.5.2.1. Kombine Disk Yöntemi .....	18
1.5.2.2. Çift Disk Sinerji Yöntemi .....	18
1.5.2.3. E-Test Yöntemi .....	18
1.5.2.4. Mikrodilüsyon Yöntemi.....	19
1.5.2.5. Üç Boyutlu Test .....	19

<b>2. GEREÇ VE YÖNTEM.....</b>	<b>20</b>
2.1. Dışkı Örneği Alınan Atlar.....	20
2.2. İzolasyon ve İdentifikasyon .....	21
2.2.1. Kullanılan Besiyerleri .....	21
2.2.2. <i>E.coli</i> İzolasyonu.....	21
2.2.3. İdentifikasyon .....	22
2.2.3.1. Oksidaz Testi .....	23
2.2.3.2. İndol Testi .....	23
2.2.3.3. Voges-Proskauer deneyi (Asetoin testi).....	24
2.2.3.4. Metil Red Testi .....	24
2.2.2.5. Sitrat Testi .....	25
2.3. Antibiyotik Duyarlılık Testleri.....	26
2.4. İstatiksel Analiz.....	29
<b>3. BULGULAR .....</b>	<b>30</b>
3.1. Antimikrobiyal İlaçlara Direnç Sonuçları .....	30
3.2. Fenotipik GSBL Tarama Sonuçları .....	32
3.3. İstatiksel Analiz Sonucu.....	34
<b>4. TARTIŞMA VE SONUÇ .....</b>	<b>35</b>
<b>5. KAYNAKLAR .....</b>	<b>39</b>
<b>6. ÖZGEÇMİŞ .....</b>	<b>46</b>

## ÖNSÖZ

Gerek Veteriner Hekimlikte gerekse Tıp alanında *E.coli* infeksiyonları, giderek artan antibiyotik direnci, GSBL üreten suşların yayılması ve çeşitliliğinin artması nedeniyle ciddi bir sorun olarak karşımıza çıkmaktadır. İnsanların, çiftlik hayvanları ve pet hayvanlarıyla yakın temasta olmaları ve direnç genlerinin transfer edilebildiği göz önüne alınarak ülkemizde geniş kapsamlı sürveyans programlarına ihtiyaç duyulmaktadır. Bu Çalışmada atların fekal florasından izole edilen *E.coli* izolatlarının 16 çeşit antibiyotiğe duyarlılıkları Disk Difüzyon yöntemiyle belirlenirken GSBL tayini ise fenotipik doğrulama testi ile yapıldı.

Yüksek Lisans Tez çalışmasının her aşamasında değerli yardım ve ilgilerini esirgemeyen, tez konumun belirlenmesinde ve yürütülmesinde deneyimlerinden yararlandığım, danışmanım Sayın Yrd. Doç. Dr. Nilgün ÜNAL' a, sağladıkları imkanlarla araştırmanın yapılmasına katkıda bulunan, desteklerini eksik etmeyen Mikrobiyoloji Anabilim Dalı Başkanı Değerli Hocam Sayın Prof. Dr. Murat YILDIRIM' a, ayrıca zor anlarımda desteğini esirgemeyen Anneme ve Babama, Eşime ve ikiz çocuklarıma teşekkür ederim.

## KISALTMALAR

<b>AM</b>	: Ampisilin
<b>AMC</b>	: Amoksisilin / Klavulanik asit
<b>ATCC</b>	: American Type Culture Collection
<b>AN</b>	: Amikasin
<b>ATM</b>	: Aztreonam
<b>C</b>	: Kloramfenikol
<b>CAZ</b>	: Sefotaksim
<b>CAZ/CLA</b>	: Sefotaksim / Klavulanik asit
<b>CIP</b>	: Siprofiloksasin
<b>CLSI</b>	: Clinical Laboratory Standart Institue
<b>CTX</b>	: Seftazidim
<b>CTX/CLA</b>	: Seftazidim / Klavulanik asit
<b>EMB</b>	: Eozin Metilen Blue
<b>ESBL</b>	: Extented-spectrum beta-lactamase (genişlemiş spektrumlu beta laktamaz)
<b>FAO</b>	: Food and Agriculture Organization (Birleşmiş Milletler Gıda ve Tarım Örgütü)
<b>FOX</b>	: Sefoksitin
<b>GM</b>	: Gentamisin
<b>GSBL (ESBL)</b>	: Genişlemiş-spektrumlu beta-laktamaz (Extended-spectrum beta-lactamase)
<b>IPM</b>	: İmipenem
<b>NA</b>	: Nalidiksik asit
<b>NCCLS</b>	: National Committee for Clinical Laboratory Standarts
<b>NN</b>	: Tobramisin
<b>OIE</b>	: World Organisation for Animal Health
<b>OMP</b>	: Outer membrane protein (dış membran proteini)
<b>PBP</b>	: Penisilin bağlayan protein

<b>S</b>	: Streptomisin
<b>SXT</b>	: Trimetropim/Sulfametaksazol
<b>TE</b>	: Tetrasiklin
<b>TSI</b>	: Triple Sugar Iron Agar (üç şekerli besiyeri)
<b>WHO</b>	: World Health Organisation (Dünya Sağlık Örgütü)

## ŞEKİLLER

**Şekil 1.1:** Gram negatif bakteri hücre duvar yapısı

**Şekil 2.1:** EMB agarda metalik r fle görünümü

**Şekil 2.2:** Pozitif kontrol ile oksidaz testi.

**Şekil 2.3:** IMViC testleri

**Şekil 2.4:** GSBL üretiminin belirlenmesi için fenotipik tarama ve doğrulama testi

**Şekil 2.5:** Fenotipik doğrulama testi

**Şekil 2.6:** Fenotipik doğrulama testi



## ÇİZELGELER

**Çizelge 3.1:** Tüm izolatların antibiyotiklere duyarlılık oranları

**Çizelge 3.2:** Atlardan izole edilen GSBL pozitif *E. coli* izolatlarının izole edildiği atlar ve antibiyotik direnç profilleri

**Çizelge 3.3:** *E. coli* izolatlarındaki antibiyotik direncinin karşılaştırması

## ÖZET

### **Atların Dışkılarından izole edilen *Escherichia coli* izolatlarında Antimikrobiyal Direnç ve Genişlemiş Spektrumlu Beta-Laktamaz Üretiminin Fenotipik Olarak Araştırılması**

*E. coli* infeksiyonlarının tedavisinde sıklıkla beta-laktam grubu antibiyotiklerin kullanılması ile birlikte bakterilerde antimikrobiyal direnç oluşmakta, oluşan direnç yayılmakta ve prevalansı artmaktadır. Bu antibiyotiklere karşı oluşan dirençte beta-laktamaz üretimi önemlidir. Son yıllarda *E. coli*'lerde beta-laktam antibiyotikleri hidrolize eden genişlemiş spektrumlu beta-laktamaz (GSBL) üretimi halk sağlığı ve hayvan sağlığı açısından önemli bir konudur.

Bu çalışmada Ankara'daki Hipodrom ve Konkur atlarından alınan dışkı örneklerinden izole edilen *E. coli* suşlarının çeşitli antibiyotiklere direnç durumlarını belirlemek ve GSBL varlığını araştırmak amaçlanmıştır. Bu amaçla elde edilen 100 *E. coli* (konkur: 63, hipodrom: 37) izolatının 16 antibiyotiğe karşı duyarlılıkları Disk Difüzyon yönteminden yararlanarak, GSBL varlığı fenotipik olarak analiz edildi. Hipodrom grubu ve Konkur grubu arasında antibiyotik direnç prevalansı karşılaştırıldı.

Çalışmada konkur tesisindeki atlardan izole edilen 63 adet *E. coli* izolatında en yüksek direnç tetrasikline %20.6 (13), Hipodromdaki atlardan izole edilen 37 adet *E. coli* izolatında da en yüksek direnç tetrasikline %81.1 (30) karşı tespit edildi.

Toplam 100 *E. coli* izolatının tüm antibiyotiklere duyarlılık oranı %22 (22) olarak tespit edildi, bunlardan %31.7 (20)'si konkurdan, %5.4 (2)'ü hipodromdan elde edildi.

Atlardan izole edilen 100 *E. coli* izolatınının 6'sında GSBL üretimi fenotipik doğrulama testi ile belirlendi. GSBL pozitif olarak belirlenen 6 izolat hipodromdaki atlardan izole edildi. Hipodrom atlarında GSBL üretimi %16,2 (6) olarak belirlendi. Toplam 100 attaki GSBL prevalansı %6 (6) olarak tespit edildi.

Sonuç olarak çalışmamızda kullanılan atların fekal florasından elde edilen *E. coli* izolatlarında GSBL üretimi tespit edildi. Bu etkenlerin ekosisteme bulaşması halk sağlığı açısından da potansiyel bir risk oluşturmaktadır.

**Anahtar kelimeler:** *E. coli*, GSBL, Disk Difüzyon, Antibiyotik Direnci, Fenotipik Doğrulama Testi

## SUMMARY

### **Research of Antimicrobial Resistance and Production of Extended Spectrum Beta- Lactamases phenotypicly in *Escherichia coli*'s which are isolated from Equine Feces.**

In the treatment of *E. coli* enfections, frequently used beta-lactamase group antibiotics causes bacterial antimicrobial resistance. This resistance increases the prevalence and out spread. The production of beta-lactamase is important in the resistance against these antibiotics. In the last decades, the production of extended spectrum beta-lactamase (ESBL) which hydrolysis beta-lactam antibiotics in *E. coli* became important for public and animal health.

In this study, it is aimed to research the existence of ESBL and determine the resistance of *E. coli* strains isolated from feces examples obtained from horses located in Ankara Race Track and from show jumping horses in Ankara, against various antibiotics. In this aim, the sensitivity of 100 *E. coli* isolates are analysed against 16 antibiotics by using the Disc Diffusion method and also the ESBL existence has been analysed phenotypicly. The antibiotic resistance prevalence has been compared between race track group horses and show jumping group of horses.

In this study, in 63 of *E. coli* isolates isolated from show jumping horses, the highest resistance against tetracycline is determined as 20.6% (13), whereas in 37 *E. coli* isolates isolated from race track horses, the highest resistance against tetracycline is determined as 81.1% (30).

The study about the sensitivity against all antibiotics which includes 100 *E.coli* isolates is determined as 22% (22) and 31.7% (20) of these isolates have been obtained from show jumping horses and 5.4% (2) of these isolates have been obtained from race track horses.

In 6 isolates among 100 *E. coli* isolates obtained from horses, the ESBL production has been determined by using phenotypic confirmatory test. The 6 isolates which are ESBL positive have been isolated from the horses in race track. The ESBL production ratio in race track horses has been determined as 16,2% (6). The total prevalence of ESBL in 100 horses has been determined as 6% (6).

As a result, ESBL production was determined in the isolates obtained from fecal flora of the horses used for this study. The contamination of these agents in ecosystem causes a potential risk factor for public health.

**Key words:** *E. coli*, ESBL, Disc diffusion, Antibiotic resistance, Phenotypic confirmatory test

## 1.GİRİŞ

*Enterobacteriaceae* familyasının üyesi olan *Escherichia coli*, insan ve hayvanların normal bağırsak florasının önemli bir parçasıdır. *Escherichia coli* evcil hayvanlarda kolibasilozis, ürogenital sistem infeksiyonları (sistit, piyelonefritis), mastitis, pnömoni, septisemi ve yara infeksiyonlarına neden olmaktadır (Arda ve ark. 1999).

Antibiyotikler insanlarda bakteriyel infeksiyonların tedavisinde, hayvanlarda ise tedavinin yanı sıra infeksiyonlardan korunma ve büyümeyi geliştirmek amaçlı kullanılmaktadır. Ayrıca kullanılan antibiyotikler patojenler ile birlikte flora bakterilerine de etki etmektedir. İlk olarak 1929 yılında A. Fleming'in penisilini keşfi ile bakteriyel hastalıkların tedavisinde yeni bir dönem başlamıştır. Ancak penisilinin klinik uygulamaya girmesini takip eden yıllarda penisiline dirençli bakteriler de izole edilmeye başlanmıştır (Cizman 2003, Hirsh 2004).

*Enterobacteriaceae* ile gelişen infeksiyonlarda en sık kullanılan antibiyotikler beta-laktamlardır. Yaygın olarak kullanılmaları sonucu beta-laktam antibiyotiklere direnç giderek artmaktadır. *Enterobacteriaceae*'da beta-laktam antibiyotiklere karşı oluşan dirençte en önemli mekanizma beta-laktamazlardır. Beta-laktamazların prevalansı ülkeden ülkeye, şehirden şehire ve hatta hastaneden hastaneye değişmektedir (Yorgancıgil 1999).

Veteriner Hekimlik alanında kullanılan antibiyotiklerin bakterilerde direnç oluşumuna ve gıda zinciri ile de bu dirençli suşların insanlara aktarılmasına neden olduğu pek çok bilimsel çalışma ve uluslararası bilim kuruluşları (FAO, OIE, WHO) tarafından bildirilmektedir (Harada ve Asai 2010).

Gıda üretimi amacıyla yetiştirilen hayvanlarda gelişmenin hızlandırılması amacıyla antimikrobiyal ilaçların kullanımı 1940'lı yılların ortalarında başlamıştır. Ticari yemlerde antibiyotik kullanımının ise 1950'li yılların başında başlamasıyla duyarlı bakterilerde direnç gelişimi kaçınılmaz olmuştur.

Kısa bir süre sonra da bu antimikrobiyal ilaçların uzun süreli kullanımının etkileri bilimsel olarak inceleme altına alınmıştır (Hinton ve ark. 1986, Hammerum 2009). Bu nedenle Avrupa'daki kararlara paralel olarak Gıda, Tarım ve Hayvancılık Bakanlığı tarafından "Yem katkıları ve Premikslerin Üretimi, İthalatı, İhracatı, Satışı ve Kullanımı Hakkında Tebliğde Değişiklik Yapılmasına Dair Tebliğ (Tebliğ No: 2006/1) ile tüm antibiyotiklerin yem katkı ve premikslerde kullanımı yasaklanmıştır.

Son yıllarda antibiyotiklere karşı giderek artan direnç sorunu tüm dünyayı tehdit eder hale gelmiştir. Beta-laktam antibiyotikleri hidrolize ederek etkisizleştiren beta-laktamaz enzim üretimi, başta *Enterobacteriaceae* üyeleri olmak üzere birçok bakteri türünün en önemli direnç mekanizmalarından biridir (Akçam ve ark. 2004).

Yeni antibiyotikler geliştirildikçe, bakteriler de aynı hızla yeni direnç yöntemleri geliştirmektedir. Bu direnç mekanizmalarının en önemlilerinden biri genişlemiş spektrumlu beta-laktamazlardır (GSBL). *E. coli* tüm beta-laktam antibiyotiklere duyarlı iken, ilk olarak 1987'de genişlemiş spektrumlu beta-laktamaz (GSBL) üreten *E.coli* suşları bildirilmiştir. Önceleri 600'ün üzerinde farklı beta-laktamaz enzimi bildirilmiştir (Bauernfeind ve ark 1987, Jacoby ve ark. 2005). Bu sayı hızla artmaktadır ve 2010 yılında bakteriyel izolatlardan identifiye edilen beta laktamaz sayısı 890'ın üzerindedir (Bush 2010). Son yıllarda, insanlarda klinik örneklerden izole edilen *E. coli* izolatlarında GSBL üreten suş sıklığında bir artış gözlenmiş ve bilim dünyasının bu konuya ilgisini artırmıştır. (Hawkey ve Jones 2009).

Çiftlik hayvanlarında antibakteriyel direnç genlerini taşıyan kommensal bakterilerin izole edilmesi ve direnç mekanizmasında rol oynayan GSBL enzimlerin varlığı nedeniyle, farklı çevrelerden izole edilen *E. coli* suşlarında GSBL aktivitesinin araştırıldığı epidemiyolojik çalışmalar önem kazanmaktadır. Hayvansal gıda üretiminde antimikrobiyal ilaçların yoğun kullanımı nedeniyle etler sıklıkla antibiyotik dirençli *E. coli* ile kontamine olmaktadır (Hammerum 2009).

Hayvan orijinli antibiyotik dirençli bakteriler halk sağlığı açısından önemli bir tehdit oluşturmaktadır (Kou-Zou ve ark. 2011). Gıda tüketiminde kullanılan hayvanlar ile insanlar arasında çoğul ilaç direncinin taşınabilirliği bilinmektedir. İnsanların antibiyotik dirençli bakteri ya da bakterilere ait genleri alabilmeleri sadece gıda tüketiminde kullanılan hayvanlardan değil, aynı zamanda birlikte yaşadıkları pet hayvanlarından da alabilmeleri mümkündür (Ewers ve ark. 2011).

*Enterobacteriaceae*'da beta-laktam direncinin hızla yayılması alarm seviyesindedir ve ciddi bir halk sağlığı tehdidi oluşturmaktadır. Gittikçe çok az sayıda antibiyotik grubu kullanılabilir duruma gelmektedir (Gazin ve ark 2012).

Avrupa Hastalıkların Önlenmesi ve Kontrol Merkezi (ECDC), antibiyotiklerin gelecekte de güvenle kullanılabilmesi için sağlık çalışanlarında ve toplumda akılcı antibiyotik kullanımı konusunda farkındalık yaratılması amacıyla, Avrupa Birliği üyesi ve aday ülkelerle birlikte, 18 Kasım'ı Avrupa Antibiyotik Farkındalık Günü olarak ilan etmiştir (Öncül 2011).

Atlar, çiftlik hayvanları ile pet hayvanları arasında bir kategoride bulunmaktadır. İnsanların atlarla yakın teması göz önüne alınarak, atlarda kullanılan antimikrobiyal ilaçlar ve bu ilaçlara karşı oluşan direnç arasındaki bağlantıyı anlamak sadece at hekimliği açısından değil aynı zamanda halk sağlığı açısından da önemli bir noktadır (Dunowska ve ark. 2006).

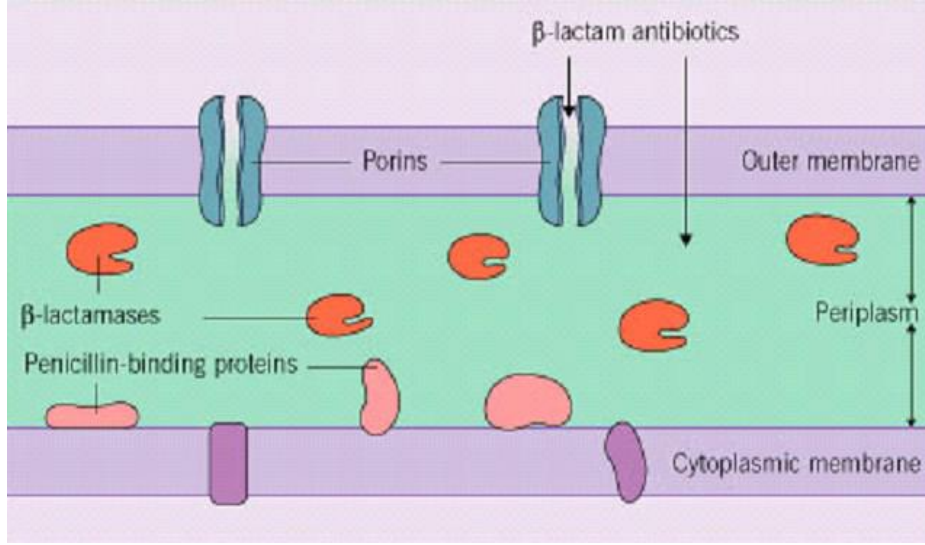
Bu çalışmanın amacı Yarış atı ve Konkur atı olarak değerlendirilen atların dışkı örneklerinden izole edilen *E.coli* suşlarının çeşitli antibiyotiklere direnç durumlarını belirlemek ve GSBL varlığını araştırmaktır.



## 1.1. *E.coli* ' nin Genel Özellikleri

*Enterobacteriaceae* üyeleri; doğada toprak, su, insan ve hayvan dışkısında bulunmakla birlikte, gerek toplumda gerekse hastane ortamında sık izole edilen mikroorganizmalar arasındadır. Enterobakteriler gram negatif, çoğu hareketli, fakültatif anaeropturlar. Bu aile 40'dan fazla cins ve 180'in üzerinde tür içermektedir ve *Escherichia* cinsi içinde en önemli tür *E. coli*'dir. *Enterobacteriaceae* familyasının bir üyesi olan *Escherichia coli*, insan ve hayvanların normal bağırsak florasında bulunmakla birlikte, birçok hastalık olgusundan primer veya sekonder etken olarak izole edilmektedir. Enterobakteriler ile gelişen infeksiyonlarda en sık kullanılan antibiyotikler beta-laktamlardır. Bunlarda gelişen, yayılan ve artan antibakteriyel direnç de bu nedenle önemlidir (Paterson 2000, Quinn ve ark. 2011).

Gram negatif bakterilerin hücre duvarının %5-10'unu peptidoglikan oluşturur. Hücre duvarının en dışında fosfolipid ve lipopolisakkaritten oluşan dış membran bulunur. Bu nedenle gram negatif bakterilerin hücre duvarında yoğun bir lipid hakimiyeti vardır. Antimikrobisallerin geçişine izin veren por proteinleri (porinler) de buradadır; bazı büyük moleküllü antimikrobisallerin hücre içine geçişi engellenebilir. Gram negatif hücre duvar yapısında dıştan içe; dış membran, gram pozitiflerden daha ince peptidoglikan tabakası, periplazmik aralık ve plazma membranı bulunur. Gram negatif bakterilerde dış membran ile sitoplazmik membran arasında kalan aralığa periplazmik aralık denilmektedir ve bu aralıkta; beta-laktamaz gibi direnç enzimleri bulunmaktadır. Bu bölgede ayrıca, bakterinin peptidoglikan tabakasından bu boşluğa doğru uzanan ve penisilinlerin bağlanma bölgesi olan transpeptidaz, endopeptidaz ve karboksipeptidaz gibi protein yapılar (penisilin bağlayan proteinler- PBP) da bulunmaktadır (Atlas 1996).



**Şekil 1.1:** Gram negatif bakteri hücre duvar yapısı  
([http://www.ivytech.net/twmwphy/text\\_pg/pro=cell.htm](http://www.ivytech.net/twmwphy/text_pg/pro=cell.htm)'den alınmıştır.)

Çeşitli antibiyotiklere karşı oluşan direnç Gram-negatif bakterilerde giderek yaygınlaşmakta, dirençli bakterilerin neden olduğu infeksiyöz hastalıkların tedavisinde antibiyotik seçimi ve etkinliğinde sorunlar ortaya çıkmaktadır. *E. coli* infeksiyonlarının tedavisinde sıklıkla beta-laktam grubu antibiyotiklerin kullanılması ile birlikte bakterilerde antimikrobiyal direnç oluşmakta, oluşan direnç yayılmakta ve prevalansı artmaktadır. Bu antibiyotiklere karşı oluşan dirençte beta-laktamaz üretimi önemlidir. *E. coli*'lerde beta-laktam antibiyotikleri hidrolize eden genişlemiş spektrumlu beta-laktamaz (GSBL) üretimi de güncelliğini yitirmeyen önemli bir konudur (Weese 2008).

## 1.2. Antibiyotikler

Antibiyotikler elde edilmesine göre doğal, sentetik ya da yarı sentetik, uygulama şekillerine göre de oral, topikal ve parenteral olarak sınıflandırılır. İnsan ve hayvan hastalıklarının tedavisinde ve de evcil hayvanlarda gelişmeyi artırmak amacıyla kullanılmaktadır. Antibiyotik direnci antibiyotikler kadar eskidir (Phillips ve ark. 2004).

Stafilokoklar üzerinde çalışma yapan A. Fleming (1929) *Penicillium notatum* adlı mantar küfünden dolayı, kültür ortamında *Staphylococcus aureus* kolonilerinin üreyemediklerini görmüş ve bundan esinlenerek etkili maddeye ‘penicillin’ adını vermiştir. Sonraki yıllardan itibaren, Florey, Chain ve Abraham (1940), penisilinin farelerde oluşturulan streptokok infeksiyonlardaki yüksek etkinliğini deneysel olarak kanıtlamış, 1941 yılında ise insanlarda infeksiyonlara karşı ilk kez penisilini kullanmışlardır (Ligon 2004, Dökmeci 2007). Bununla birlikte penisilinin kullanıma girdiği 1940’lı yıllardan itibaren bakteriyel direnç de gündeme gelmiştir. Antimikrobiyal ilaçların kullanımının artmasına paralel olarak dirençte artmış, bu durum yeni ilaçların keşfini zorunlu hale getirmiştir (Krause 1992, Tenover 2006). Penisilinin keşfinden sonra sulfonamid (1938), kloramfenikol (1945), tetrasiklin (1948), eritromisin (1952), vankomisin (1956), gentamisin (1963), sefalosporin (1966), ampicilin (1966), amikasin (1969), imipenem (1984) gibi birçok antimikrobiyal ajan infeksiyonların tedavisinde kullanıma sunulmuştur (Prescott ve ark. 2000). Keşfedilen her yeni ilaca hızla direnç gelişimi oluşması sorunun giderek büyümesine neden olmuştur (Tenover 2006).

Beta-laktam ajanlar Gram-negatif infeksiyonlarda dünyada en sık kullanılan antibiyotiklerdir. Beta-laktam antibiyotiklere, Gram-negatif patojenlerde üretilen beta-laktamazlar önemli direnç mekanizmasını oluşturmaktadır (Pithout ve ark. 2005).

### **1.2.1. Beta-Laktam Antibiyotikler**

Beta-laktam antibiyotikler, 5 grupta toplanırlar; penisilinler, sefalosporinler, monobaktamlar, karbapenemler, beta-laktamaz inhibitörlüleri. Bu gruptaki antibiyotiklerin ortak özellikleri, yapılarında beta-laktam adı verilen 4 atomlu halka taşımalarıdır (Yao ve Moelering 2007). Beta-laktamaz inhibitörleri aslında birer beta-laktam antibiyotik olmakla birlikte, pratik olarak tek başlarına antibakteriyel özellikleri yoktur (Yıldırım 1999).

Beta-laktam antibiyotikler yan etkilerinin azlığı ve bakterisid olmaları nedeniyle günümüzde en sık kullanılan antibiyotik grubudur. Bakterilerin peptidoglikan tabakasının sentezini bozarak etki ederler. Peptidoglikan tabakası çapraz bağlanan kısa peptid zincirleri ile sağlamlaşmıştır. Bu çapraz bağlantı N-asetil muramik asitin yapısında yer alan D-alanin D-alanin moleküllerinin transpeptidasyon reaksiyonu ile birleşmeleri sonucu oluşur. Transpeptidaz reaksiyonu oluşturan enzimlere penisilin bağlayan proteinler (PBP) adı verilir. Beta-laktam antibiyotikler, etkilerini peptidoglikan sentezinde görevli olan karboksipeptidaz ve transpeptidazları inhibe edip, hücre duvar sentezini durdurarak gösterirler. Bir bakteride çok sayıda PBP bulunur. Beta-laktam antibiyotikler hücre duvarı sentezi yapılan, yani üreyen bakterilere etkilidir (Gür 2002, Töreci 2008).

Beta-laktam antibiyotiklerin hedeflerine bağlanmaları ve etkinlik göstermeleri için Gram-negatif bakterilerde porin adı verilen içi su dolu protein kanalcıklarından geçmeleri, sitoplazmik membranla dış membran arasındaki periplazmik boşlukta yer alan beta-laktamazlardan etkilenmemeleri gerekmektedir (Kfoury ve ark. 2003).

### **1.3. Beta-Laktam Antibiyotiklere Direnç Gelişimi**

Beta-laktam antibiyotiklere karşı oluşan direnç, beta-laktamaz üretimine bağlıdır. Enzim, beta-laktam halkasındaki amid bağının ayrılmasına yol açarak antibiyotiği inaktive eder. Bir çok beta-laktamaz enzimi, kromozomal olarak ya da plasmid veya transpozonlarda lokalize olan transfer edilebilir genlerce kodlanır (Medeiros 1997).

Gram-negatif bakteriler başlıca üç yolla beta-laktam antibiyotiklere karşı direnç geliştirirler:

Birinci yol ‘dış membran proteinlerinde (OMP) oluşan değişiklikler ile ilacın hücre içine girişinin önlenmesi’dir. Gram-negatif bakterilerde beta-laktam antibiyotikler, dış membrandaki porlar yolu ile hücreye girmektedir. Porların özellikleri ve sayıları ile antibiyotiğin özellikleri (yük, çözünürlük, büyüklük) hücre içine giriş hızını belirlemektedir (Livermore 1995). Beta-laktam antibiyotikler dış membrandan Porin F ve Porin C adı verilen iki kanal aracılığı ile geçerler. Gram-negatif bir bakteri Porin F ve Porin C proteinlerini mutasyona uğratarak beta-laktam antibiyotiklere direnç geliştirebilir (Sanders ve ark. 1992).

Bir diğer yol ‘beta-laktam antibiyotikleri inaktive eden beta-laktamaz enzimlerinin sentezlenmesi’ şeklindedir. Beta-laktamazlar, beta-laktam antibiyotiklerdeki beta-laktam halkasının amid bağlarını hidrolizle parçalamakta ve antimikrobilyellere karşı en önemli direnç mekanizmasını oluşturmaktadır (Fridkin 1997).

Diğer yol ‘penisilin bağlayıcı protein’de oluşan değişiklikler ile antibiyotiğin hedefine bağlanmasının engellenmesi’ şeklindedir. PBP’de değişiklikler; PBP’nin beta-laktam antibiyotiğe afinitesinin azalması, PBP sayısında azalma olması veya beta-laktam antibiyotiklere düşük afinite gösteren yeni PBP’lerin sentezlenmesi sonucu oluşabilmektedir. Bu durum en çok Gram-pozitif koklarda ve *Pseudomonas spp.*’de gözlenmiştir. Gram-negatif bakterilerde, her üç mekanizma dirençten sorumlu olabilir. Çoğu zaman bir bakteride birden fazla mekanizma dirençten sorumludur (Sanders ve ark 1992, Li ve ark. 2007).

Beta-laktam grubu antibiyotiklere direnç yukarıda anlatılan yollar ile gelişmektedir. Ancak bu yollar arasında en önemlisi beta-laktamaz üretimidir (McManus 1997).

#### 1.4. Beta-Laktamazlar

Beta-laktamazlar, beta-laktam halkasındaki siklikamid bağını parçalayarak beta-laktam ajanların etkinliğini ortadan kaldıran enzimlerdir (Sanders ve ark. 1992). Beta-laktamaz enzimi ilk kez 1929 yılında A. Fleming tarafından farkedilmiştir. 1960'ların sonlarında ampisilin ve diğer aminopenisilinlere karşı *E. coli*'nin direnç geliştirmesi problem olmaya başlamıştır. Gram-negatif bakterilerde çok daha fazla çeşit beta-laktamaz bulunması ve plazmid kontrolünde sentezlenmesi, çok kısa sürede direnç artışına yol açmıştır (Özsoy ve ark. 2001). Gram-negatif bakterilerde plazmid kaynaklı ilk beta-laktamaz enzimi 1960'lı yıllarda Yunanistan'dan bildirilmiştir (Bradford 2001).

Penisilinler, sefalosporinler, monobaktamlar ve karbapenemler, beta-laktamaz ailesindeki enzimlerden biri veya birkaçı tarafından inaktive edilebilirler. Beta-laktamazlar, hem Gram-negatif hem de Gram-pozitif bakterilerce üretilmelerine karşın, beta-laktamaz üretimi başta *Enterobacteriaceae* üyeleri olmak üzere Gram-negatif bakterilerin beta-laktam direncindeki en önemli mekanizmadır. Gram-negatif bakteri türlerinde beta-laktamazlara bağlı dirençte sıklıkla ilaç geçirgenliği ile ilgili mekanizmalar rol almaktadır (Cornaglia ve ark. 2000, Bush ve Jacoby 2010).

Önceleri sadece Gram-negatifler ile sınırlı kalan bu enzimler beta-laktam sınıflarının gelişmesi ve kullanımının daha da yaygınlaşması sonucu daha fazla mikroorganizmada ve daha fazla çeşitte görülür hale gelmiştir (Medeiros 2000).

Beta-laktam antibiyotiklere direnç esas olarak beta-laktamaz üretimine bağlıdır. Beta-laktamazları kodlayan genler, bakteri kromozomlarında, plazmidlerde veya transpozonlarda yerleşmiş olabilirler. Son yıllarda pek çok *bla* geni (beta-laktamaz geni) integronlar üzerinde tanımlanmışlardır. Gram-negatif bakterilerde direnç genleri, genellikle plazmidler aracılığı ile konjugasyonla yayılmaktadır (Endtz ve ark. 1997, Weldhagen 2004).

Bunun önemini doğrular şekilde Dolejska ve ark. (2011)'de Çek Cumhuriyeti'nde at kliniği ve binicilik merkezinde yaptıkları çalışma ile GSBL geni taşıyan *E.coli*'lerin birbirleriyle temas halde yaşayan atlar, insanlar ve sinekler (*Musca domestica*) arasında plazmidlerle transfer edilebildiğini bildirmişlerdir.

Gram-negatif bakterilerde enzim periplazmik boşlukta bulunduğundan bu bakterilerde az miktarda enzim bile antibiyotiklerin etkisiz hale getirilmesi için yeterli olmaktadır (Livermore 1995).

#### **1.4.1. Beta-Laktamazların Sınıflandırılması**

Beta-laktamazlar "Ambler" sınıflandırması olarak bilinen amino asit dizilerine dayanılarak A, B, C ve D olmak üzere 4 moleküler sınıf içerisinde toplanırlar. A, C ve D sınıfında serin enzimleri ve B sınıfında da metallo beta laktamazlar bulunur. **A sınıfında** aktif bölgelerinde serin aminoasit taşıyan, penisilinleri hidroliz eden beta-laktamazlar, **B sınıfında** aktivite gösterebilmeleri için çinkoya bağlı tiyol grupları gerektiren metallo beta-laktamaz yer alır, **C sınıfında** kromozomal AmpC geni tarafından kodlanması nedeniyle AmpC enzimler olarak da adlandırılan sefalosporinazlardan oluşan enzimler, **D sınıfında** ise oksasilini hidrolize eden serin beta-laktamazlar bulunur (Li ve ark. 2007).

Bush, Jacoby ve Mederios ise 1995 yılında biyokimyasal özellikleri ve substrat profillerine göre beta-laktamazları Grup 1, 2, 3, 4 olmak üzere 4 gruba ayırmışlardır (Bush ve ark. 1995).

#### **1.4.2. Genişlemiş Spektrumlu Beta-Laktamazlar (GSBL)**

Artmış aktivite spektrumlarından dolayı (özellikle oksiminino sefalosporinlere karşı) plazmid kontrolündeki beta-laktamazlardan bir kısmı Genişlemiş Spektrumlu beta-laktamazlar (GSBL) olarak adlandırılmıştır (Bradford 2001). GSBL'ler sefuroksim, sefotaksim, seftriakson, seftizoksim, seftazidim, sefpirom ve sefepim

gibi oksiiimino sefalosporinleri hidroliz edebilen, aktif bölgelerinde serin bulunan ve genellikle klavulanik asit, sulbaktam veya tazobaktam gibi beta-laktamaz inhibitörleri ile inhibe olan beta-laktamazlardır (Bush ve ark. 1995, Stürenberg ve ark. 2003).

GSBL'ler ilk kez 1983 yılında Almanya'da *Klebsiella pneumoniae*'de (SHV-2) saptanmış olmasına rağmen ilk olarak Fransa'da klinik problem yaratmıştır. Oksiiimino-sefalosporinleri, monobaktamları hidrolize etmelerine karşın sefamisin ve karbepenemleri hidrolize edememişlerdir. Ancak son yıllarda nazokomiyal enfeksiyonlardan izole edilen *Acinetobacter baumannii* suşlarındaki karbapenem direnci tedavide zorluk yaşanmasına neden olmuştur. Klinik olarak tanımlanmış GSBL'lerin çoğu TEM ve SHV türlerinden köken almıştır (Emery ve ark 1997, Pitout ve ark. 2005, Abbott ve ark. 2013). Türkiye'de GSBL sentezleyen izolatlar ilk kez 1992 yılında Tıp Hekimliği alanından bildirilmiştir (Gür 2000). GSBL'nin hayvan kökenli bir bakteriden ilk tespiti ise Japonya'daki bir laboratuvar köpeğinden izole edilen *E.coli*'de 1988 yılında rapor edilmiştir (Matsumoto ve ark. 1988). Genişletilmiş spektrumlu beta-laktamazları en çok üreten suşlar *K. pneumoniae*, diğer *Klebsiella* türleri (*K. oxytoca* gibi) ve *E. coli*'dir (Stürenberg ve ark 2003). Son birkaç yıl içerisinde GSBL enzimleri arasında CTX-M beta-laktamaz sayısında artış olmuştur (Livermore ve ark. 2007). Son yıllarda hayvan ve insan popülasyonunda TEM ve SHV tip GSBL yerine CTX-M hızla artışıyla dünya genelinde dikkat çekmektedir. CTX-M enziminin 80'in üzerinde varyantı varken, günümüzde CTX-M-15 dünya genelinde hastane ve toplumda en sık izole edilen GSBL enzimidir. CTX-M-15 in sefotaksim ve seftazidim'i hidrolize etmesi nedeniyle tedavi zorluğu vardır (Ewers 2010).



### 1.4.3. GSBL Tipleri ;

SHV : İlk GSBL çalışmalarında klinik izolatlardan en sık izole edilen GSBL türü SHV'dir. Aktif bölgelerinde sülfhidril değil serin bulunmaktadır. Önce *Klebsiella pneumoniae*'de (1983) daha sonra da Enterobakterilerde belirlenen üçüncü kuşak sefalosporinleri hidrolize eden plazmid kaynaklı bu beta-laktamaz, SHV-1 den mutasyonla gelişen SHV-2 enzimidir (Peterson ve ark. 2005).

TEM : TEM tipi GSBL türleri TEM-1 ve TEM-2 den köken almışlardır. TEM-1 beta-laktamaz enzimi ilk kez 1965 yılında Yunanistan'da (Atina) Temoneira adlı bir hastadan izole edilen *E. coli* suşunda tespit edilmiştir. Genişlemiş spektrumlu TEM-1 beta-laktamaz ise ilk kez 1980'lerin sonlarına doğru Amerika'da salgın haldeki *K. pneumoni* suşlarından SHV-5 ile birlikte identifiye edilmiştir. Yüzden fazla TEM tipi beta-laktamaz isimlendirilmiştir (Bush 2008).

CTX-M : İsmi sefotaksime güçlü hidrolitik etkisinden gelir. Önceki adı MEN-1 olan ilk CTX-M varyantı, 1991 yılında Fransa'dan rapor edilmiştir. CTX-M enzimleri *Kluyvera* spp. kökenli olup, son zamanlarda özellikle *Enterobacteriaceae* ailesinde (Sıklıkla *Salmonela* spp., ve *E. coli*'de) önem kazanmış ve yakın zamanda Avrupa, Asya, Afrika, Kuzey ve Güney Amerika'da rapor edilmiştir. Şu ana kadar 40'ı aşkın CTX-M beta-laktamaz tiplendirilmiştir. Karbapenemler CTX-M tipi enzimlere karşı dayanıklı olmasına rağmen CTX-M-15 üreten bir *K. pneumoniae* suşunda dış membran kaybının ardından karbapenem tedavisi sırasında direnç ortaya çıktığı bildirilmiştir. CTX-M-15 İngiltere'de ilk kez 2003'te rapor edilmiştir. CTX-M-15 enziminin pandemik olarak yayılmasından sorumlu *E. coli* suşunun O25:H4-ST131 olduğu düşünülmektedir (Coque 2008, Pitout ve ark. 2005, Peterson ve ark. 2005).

OXA : Oksasilini hidrolize edebilme yeteneklerinden dolayı bu ismi almışlardır. *P. aeruginosa*'da ve birçok Gram-negatif bakteride tespit edilmiştir. En yaygın tipi OXA-1'dir ve *E. coli* izolatlarında %1-10 oranında tespit edilmiştir. OXA tipi GSBL ilk olarak Ankara Hacettepe Üniversitesi Hastanesi'nde *P. aeruginosa* suşundan izole edilmiştir (Pitout ve ark. 2005, Peterson ve ark. 2005).

Plazmidlerce kodlanan PER-1 enzimi ilk kez Türkiye'de nazokomiyal (hastane) infeksiyonlardan elde edilen izolatlarda, *P. aeruginosa* ve *Acinetobacter* spp. suşlarından bildirilmiştir (Weldhagen ve ark. 2003).

### 1.5. GSBL Tanı Yöntemleri

GSBL tayini fenotipik ve genotipik olarak yapılabilmektedir. GSBL tayininde fenotipik yöntemler; fenotipik tarama testi ve doğrulama testi olarak iki kısımda incelenmektedir (CLSI 2011).

**1.5.1. GSBL Tarama Testleri:** CLSI önerilerine göre; disk difüzyon veya dilüsyon yöntemleriyle sefotaksim, seftriakson, seftazidim, aztreonam veya sefpodoksime karşı duyarlılığın azaldığının saptanması halinde doğrulama testleri uygulanır (CLSI 2002).

**1.5.2. GSBL Doğrulama Testleri:** Doğrulama testleri klavulanik asit ve indikatör sefalosporin ve/veya monobaktam arasındaki sinerjinin gösterilmesi temeline dayanmaktadır. Sıklıkla kullanılan yöntemler; (Gülay 2004)

1. Kombine disk sinerji yöntemi
2. Çift disk sinerji yöntemi
3. E-test yöntemi
4. Mikrodilüsyon yöntemi
5. Üç boyutlu test

### **1.5.2.1. Kombine Disk Sinerji Yöntemi:**

Sefotaksim (30 µg) veya seftazidim (30 µg) disklerine 10 µg klavulanik asit eklenir. McFarland 0.5 bulanıklığında olacak şekilde hazırlanan bakteri süspansiyonundan Mueller-Hinton Agar (MHA) plaklarına yayılır, üzerine klavulanik asit içeren ve içermeyen sefotaksim ve seftazidim diskleri yerleştirilir. Bir gece 35 °C'de inkübasyondan sonra klavulanik asit içeren ve içermeyen disklerin etrafındaki inhibisyon zonları ölçülerek karşılaştırılır. Kombinasyon diskleri etrafındaki zon, klavulanik asit içermeyen disk etrafındaki zona kıyasla  $\geq 5$  mm daha genişse izolat GSBL üretimi açısından pozitif kabul edilir (CLSI 2011).

### **1.5.2.2. Çift Disk Sinerji Yöntemi:**

McFarland 0.5 bulanıklığında hazırlanan bakteri süspansiyonu Mueller-Hinton Agar (MHA) plağına yayılır. Plağın ortasına bir amoksisilin-klavulanik asit diski (AMC 20/10Mg) ile disk merkezleri arasındaki uzaklık 30 mm olacak şekilde seftazidim (CAZ), seftriakson (CRO) veya sefotaksim (CTX), aztreonam (ATM) veya sefpodoksim (POD) diskleri yerleştirilir. Bir gece 35 °C 'de inkübasyondan sonra sefalosporin veya aztreonam (ATM) etrafındaki inhibisyon zonunun amoksisilin / klavulanik asit (AMC) diskine doğru genişlemesi veya arada bakterinin üremediği bir sinerji alanının bulunması GSBL varlığını gösterir (Gülay 2004).

### **1.5.2.3. E-Test Yöntemi:**

Katı besiyerinde difüzyon yoluyla MİK (minimum inhibitör konsantrasyon) değerlerinin saptanmasına olanak sağlayan yöntemdir. Test stripleri bir ucunda seftazidim, diğer ucunda seftazidim ve klavulanik asit içerecek şekilde hazırlanmıştır. Disk difüzyon için bildirilen standartlarda hazırlanan plaklarda inkübasyondan sonra, eliptik inhibisyon zonunun stripi kestiği değer MİK değerini vermektedir. Seftazidim ve seftazidim / klavulanik asit MİK değerleri birbirine oranlandığında MİK değerinde 8 kat fazla azalma olması GSBL varlığını gösterir.

Benzer şekilde sefotaksim ve sefotaksim-klavulanik asit içeren E-test stripleri de bulunmaktadır (Gülay 2004).

#### **1.5.2.4. Mikrodilasyon Yöntemi:**

Sefotaksim ve seftazidim MİK değerleri, hem tek başına hem de klavulanik asit varlığında saptanır. Klavulanik asit varlığında MİK değerlerinde  $\geq 3 \log_2$  (8 kat) azalma GSBL göstergesi olarak kabul edilir (Gülay 2004).

#### **1.5.2.5. Üç Boyutlu Test:**

Test edilecek mikroorganizma 0.5 McFarland bulanıklığına ayarlandıktan sonra Mueller-Hinton Agar yüzeyine yayılır ve agarda bir yarık açılır. Yarığın içi test edilecek mikroorganizmanın üretildiği sıvı besiyeri ile doldurulur. Antibiyotik diskleri bu yarıktan 30 mm uzak olacak şekilde yerleştirilir. Yarığa bakan tarafta, disklerin etrafında inhibisyon zonunda bozulma, daralma pozitif olarak değerlendirilir.

Bunların dışında GSBL saptamada bazı otomize sistemler kullanılmaktadır; Vitek-2 (bioMerieux), Walk Away (Dade Behring) ve Phoneix (Becton Dickinson) bunlar arasındadır (Gülay 2004).

## 2. GEREÇ VE YÖNTEM

### 2.1. Dışkı Örneği Alınan Atlar

Araştırma için Ankara ilinde bulunan Konkur tesisinden engel atlama ve Türkiye Jokey Kulübü (TJK) Ankara 75.Yıl Hipodrom'unda düz yarış atı olarak yetiştirilen atlardan Mayıs - Temmuz 2012 tarihleri arasında dışkı örnekleri alındı. Değişik ırk, yaş ve cinsiyetteki 100 attan rektal swab ve direkt dışkıdan swab ile örnekler alındı.

Konkur tesisindeki çoğunluğu Alman menşeli West Falen, Holsteiner, Alman, Hannoveraner, Zangersheide, Springdeere Oldenberg, Sachsen Anhaltiner ve Pony ırkı 4-20 yaş aralığına sahip 31'i dişi, 32'si erkek olmak üzere 63 attan, Türkiye Jokey Kulübü 75.Yıl Hipodromundaki Arap ve İngiliz ırkı 2-6 yaş aralığına sahip 21'i erkek, 16'sı dişi olmak üzere 37 attan, toplam 100 dışkı örneği alındı.

Örnekler Cary-Blair transport medium (Oxoid) besiyeri içeren swablar ile rektumdan ya da taze dışkıdan olmak üzere iki yolla alındı. Alınan örnekler +4°C'de muhafaza edilerek soğuk zincir altında en kısa sürede laboratuvara getirildi.

Alınan 100 örnekten *E. coli* izolasyonu ve identifikasyonu yapıldı. Yüz attan 100 örnek alındı. Her örnekten bir izolat olmak üzere toplam 100 izolat çalışıldı. İzole ve identifiye edilen *E. coli* izolatlarının çeşitli antibiyotiklere karşı duyarlılıkları Kirby-Bauer Disk Difüzyon metodu ile belirlendi. Örneklerden izole ve identifiye edilen 100 *E. coli* izolatında GSBL üretimi fenotipik doğrulama testi ile araştırıldı.

Yetiştiriliş amaçları ve idman koşullarından dolayı örneklerin alındığı hipodrom atlarında konkurdakilere göre daha sık infeksiyon görülmekte ve aynı zamanda koruma amaçlı daha sık antibiyotik kullanılmaktadır. Yoğun kullanımı olmamakla birlikte konkur tesisinden örnek alınan atlarda son altı ay içinde penisilin/streptomisin ve gentamisin kullanıldığı bildirilmiştir.

Hipodromdaki atlarda ise tetrasiklin, enroflaksasin, gentamisin, penisilin/streptomisin, trimetropim/sulfametaksazol, seftiofur sodyum'un sık kullanılan antibiyotikler arasında olduğu gözlemlenmiştir.

## **2.2. İzolasyon ve İdentifikasyon**

### **2.2.1. Kullanılan Besiyerleri**

*E. coli* izolatlarının, izolasyon ve identifikasyonu için Eozine Metilen Blue Agar (EMB, Merc-Almanya), %5 Sheep Blood (Oxoid-İngiltere), Tryptic Soy Agar (TSA, Merc-Almanya) ve Trypticase Soy Broth (TSB, Merc-Almanya) besi yerleri kullanıldı. Besi yerleri üretici firmanın önerileri doğrultusunda hazırlandı. Hazırlanan besi yerleri sterilite kontrolü için bir gece 37°C'de bekletildikten sonra kullanılıncaya kadar + 4 °C'de saklandı.

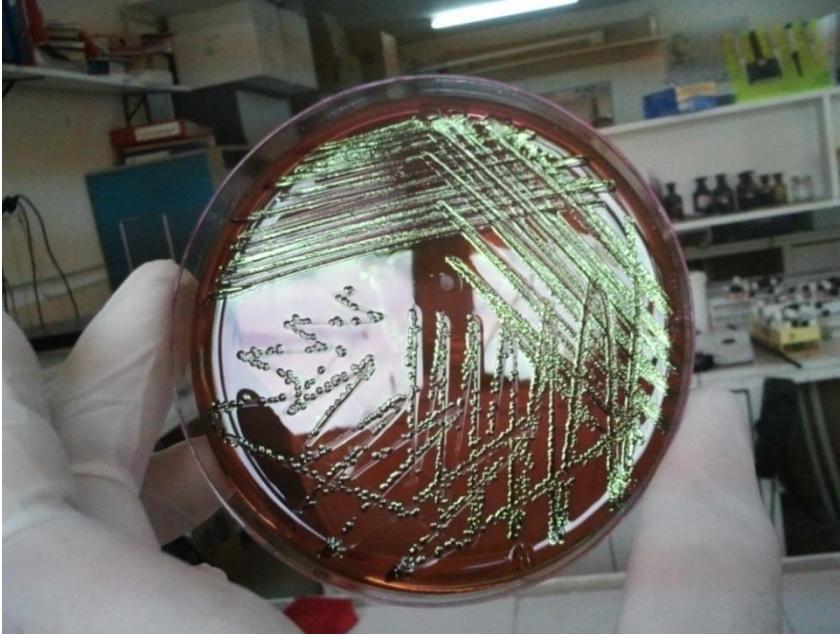
İzolatların antibiyotik dirençlerinin ve GSBL üretiminin fenotipik doğrulanması için Kirby-Bauer Disk Difüzyon yöntemi kullanıldı. Bu amaçla üretici firmanın önerileri doğrultusunda hazırlanan Mueller-Hinton Agar (Merc-Almanya) 15 cm çapındaki petrilere kalınlığı 4mm olacak şekilde, Klinik Laboratuvar Standartları Enstitüsü (CLSI) kriterlerine göre hazırlandı. Hazırlanan besi yerleri sterilite kontrolü için bir gece 37 °C'de bekletildikten sonra kullanılana kadar + 4 °C' de saklandı.

İzole ve identifiye edilen izolatların muhafazası için %20 gliserol katılan Mueller-Hinton Broth kullanıldı.

### **2.2.2. *E. coli* İzolasyonu**

Bu amaçla laboratuvara getirilen dışkı örnekleri hem 2 µg/ml sefotaksimli EMB agarlara hem de sefotaksimsiz EMB (Eosine Metilen Blue) agarlara ekilerek 37°C'de 18-24 saat inkübe edildi. Üreyen koloniler morfolojik olarak incelendi. EMB agarda metalik röfle (yeşil renk) veren *E. coli* şüpheli koloniler iğne uçlu öze ile %5 Sheep Blue agara pasajlanarak saflaştırıldıktan sonra alınan bir koloni TSB'ye (Trypticase Soy Broth) inokule edildi.

Kanlı agarda üreyen kolonilerin morfolojileri ve Gram boyanma özellikleri değerlendirildi. İzole edilen etkenlerin identifikasyonu yapıldı.



Şekil 2.1: EMB agarda metalik röfle görünümü

### 2.2.3. İdentifikasyon

*E. coli* izolatların identifikasyonunda Gram boyanma özelliği, oksidaz, indol, MR/VP, sitrat (IMViC) gibi biyokimyasal testlerle konvansiyonel metotlar kullanılarak yapıldı. Kısaca IMViC (indol, metil red, voges proskauer, sitrat) olarak isimlendirilen bu test sonuçları indol pozitif, metil red pozitif, voges proskauer negatif, sitrat negatiftir. Gram-negatif ve oksidaz negatif sonuçlar *E. coli* olarak değerlendirildi.

### 2.2.3.1. Oksidaz Testi

Bu test sitokrom oksidaz enziminin etkinliğinin saptanması temeline dayanır. Trypticase Soy Agar (TSA)'da üreyen 24 saatlik kolonilerden steril swab yardımıyla alınıp, temiz bir filtre kağıdı üzerine sürüldü. Daha sonra filtre kağıdı üzerindeki bakteriye bir damla oksidaz solüsyonu %0.5'lik tetrametil-p-fenilendiamin damlatıldı. On-onbeş saniye içerisinde kolonilerin koyu mor renge dönüşmemesi oksidaz negatif olarak değerlendirildi.

Pozitif kontrol olarak *P. aeruginosa* laboratuvar suşu, negatif kontrol olarak da *E. coli* ATCC 25922 suşu kullanıldı (Koneman 1997).



Şekil 2.2: Pozitif kontrol ile oksidaz testi.

### 2.2.3.2. İndol Testi

Mikroorganizmaların triptofanı ayrıştırarak indol meydana getirebilme yeteneğinin belirlenmesi esasına dayanan test için, Kovaks ayracı (Saf amid ya da isoamid alkol 150 ml, P- Dimetilaminobenzaldehit 10 g, HCl konsantre 50 ml) kullanıldı.



Bu Test, prospektüsüne uygun olarak TSB (Trypticase Soy Broth) Tüplerde bölünerek hazırlandı ve steril edildi. Tüpte hazırlanan steril TSB'lere taze *E. coli* kültürlerinden ekimler yapılarak 35-37°C'de 24 saat inkübe edildi. Tüplere 100 µl kovaks ayırıcı tüp kenarından ilave edilerek triptofanın triptofanaz enzimi ile ayrıştırılarak indol meydana getirme yeteneği belirlendi. Tüpün üstünde kırmızı renk oluşumu indol pozitif olarak değerlendirildi. Pozitif kontrol olarak *E. coli* ATCC 25922 suşu, negatif kontrol olarak *K. pneumoniae* kullanıldı (Bilgehan 2002).

### **2.2.3.3.Voges-Proskauer deneyi (Asetoin testi)**

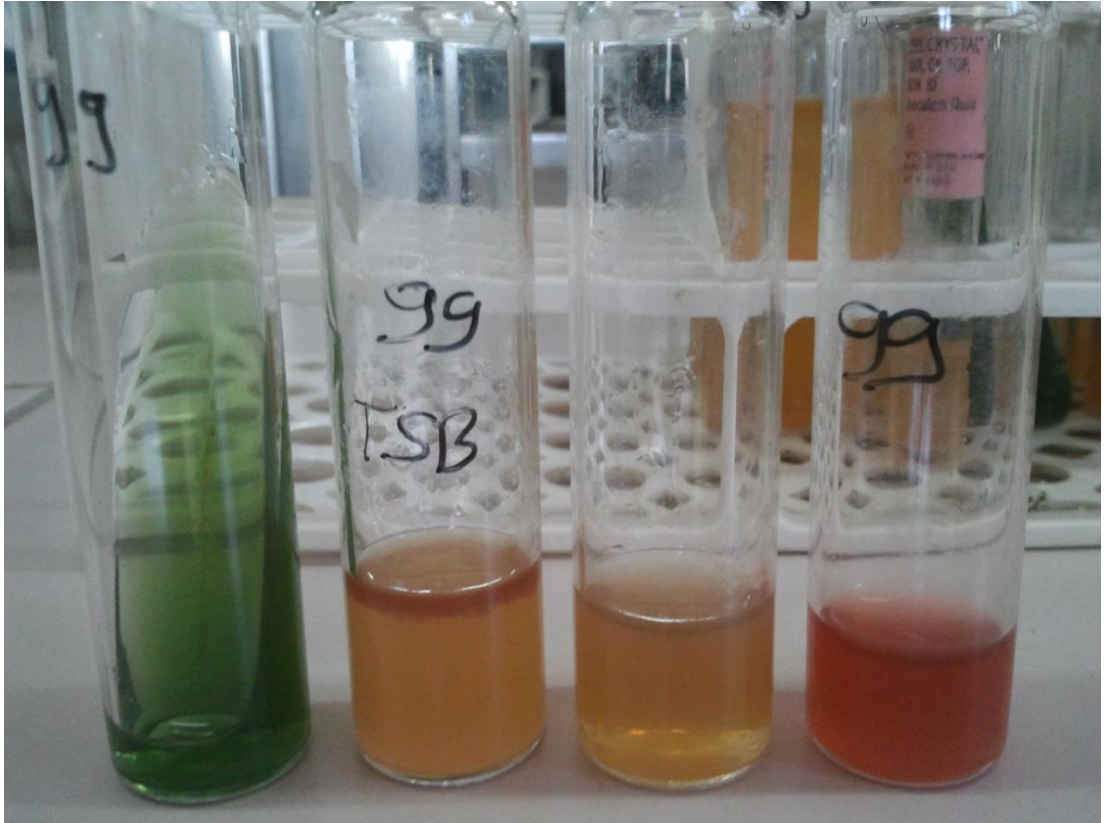
MR/VP (Clark-Labs Oxoid) besi yerine (polipepton 7 g, glukoz 5 g, K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> 5 g, saf su ile 1000 ml'ye tamamlanarak pH: 6,9) ekimi yapılan izolatlar 35-37°C'de 24 saat inkübe edildi. İnkübasyondan sonra kültür süspansiyonun (1ml) üzerine önce 0.6 ml %5'lik alfa naftol ayırıcından ve hemen arkasından 0.2 ml KOH (10 g KOH, 100 ml distle su) ayırıcından damlatıldı. Besi yerinin hava ile temas etmesi için çalkalandı ve dik olarak 10- 15 dakika bekletildi. Bu süre sonunda kırmızı rengin oluşması glikozun fermente edilerek asetoin oluşturduğu şeklinde değerlendirildi. Voges Proskauer testinde negatif kontrol olarak *E. coli* ATCC 25922 suşu, pozitif kontrol olarak *K. pneumoniae* suşu kullanıldı (Bilgehan 2002).

### **2.2.3.4.Metil Red Testi**

Glikozun fermentatif metabolize olması sonucu besi yerinde organik asitlerin meydana geldiğini ve pH'nın düştüğünü ortaya koymak için yapılan bu testte MR/VP besi yerine ekimi yapılan izolatlar 37°C'de 24 saat inkübe edildi. İnkübasyondan sonra 5-6 damla metil red ayırıcı (Metilen kırmızısı 0.050 ml, etil alkol 150 ml, saf su 100 ml) damlatılarak glikozun fermantasyonu sonucunda organik asitlerin oluşumu ile pH'nın değişimi gözlemlendi. pH'nın düşmesi kırmızı halka oluşumunu ve testin pozitifliğini gösterdi. Pozitif kontrol olarak *E. coli* ATCC 25922 suşu, negatif kontrol olarak *K. pneumoni* suşu kullanıldı (Arda 1999).

### 2.2.2.5. Sitrat Testi

Sitratları tek karbon kaynağı olarak kullanma yeteneğindeki bakterilerin incelenmesinde kullanılan bu test için Simmons Citrate (Merck-Almanya) besi yeri kullanıldı ve besi yeri ticari firmanın önerileri doğrultusunda hazırlandı. Otoklovlanan besi yerleri tüplerde yatık olarak katılaştırıldı. İğne uçlu bir öze yardımıyla EMB agardaki 24 saatlik taze ve saf bakteri kültürlerinden alındı. Yatık Simmons Citrate besiyerine ekim yapılarak 37°C'de 24 saat inkübe edildi. Sitratı kullanan bakteriler besiyerinde mavi renk oluşturur. Renk değişiminin olmaması test sonucunun negatif olduğunu gösterdi. Negatif kontrol olarak *E. coli* ATCC 25922 suşu, pozitif kontrol *S. aureus* suşu kullanıldı (Bilgehan 2002).



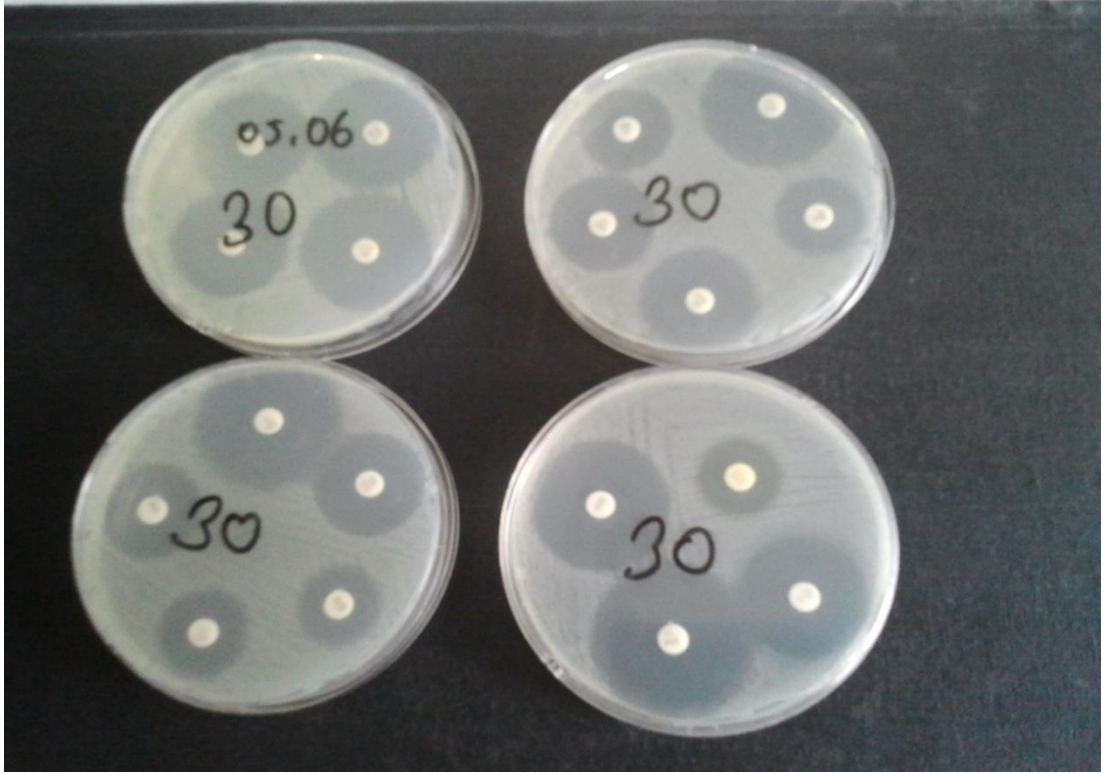
Şekil 2.3: IMViC testleri

### 2.3. Antibiyotik Duyarlılık Testleri

İzole edilen *E. coli* izolatlarının direnç profilleri Kirby-Bauer Disk Difüzyon metodu ile CLSI standartlarına göre yapıldı ve değerlendirildi. Bakteri kolonilerinden bir iki koloni öze yardımıyla alınarak steril 2 ml fizyolojik su içeren tüplerde McFarland cihazı (Biosan McFarland densitometre DEN-1) ile 0.5 McFarland bulanıklığına ayarlandı. McFarland 0.5 bulanıklığındaki bakteri süspansiyonundan steril swab yardımıyla, Mueller-Hinton Agar besi yerinin yüzeyine uygun şekilde yayıldı.

Ampisilin (AM:10µg), amoksisilin/klavulanik asit (AMC:20+10µg), sefoksitin (FOX:30µg), seftazidin (CTX:30µg), sefotaksim (CAZ:30µg), gentamisin (GM:10µg), aztreonam (ATM:30µg), imipenem (IPM:10µg), amikasin (AN:30µg), tobramisin (NN:10µg), streptomisin (S:10µg), nalidiksik asit (NA:30µg), siprofloksasin (CIP:5µg), trimetropim/sulfametaksazol (SXT:12.5+23.75µg), tetrasiklin (TE:30µg), kloramfenikol (C:30µg) antibiyotiklerinin diskleri (Oxoid) her bir örnek için 4 agar kullanılmak üzere Mueller-Hinton agar yüzeyine CLSI standartlarına uygun olarak yerleştirildi. Plaklar ters çevrilerek 35°C'de bir gece inkübasyona bırakıldı.

İnkübasyondan sonra antibiyotik disklerinin çevresinde oluşan zonlar cetvel ile ölçüldü. Ölçüm yapılırken zon kenarındaki ince üremeler de dikkate alındı. Zon çapları Klinik Laboratuar Standartlar Enstitüsü'nün (Clinical Laboratory Standart Institue / CLSI) standart sınır değerleri dikkate alınarak yorumlandı. Test kalite kontrolü olarak *E. coli* ATCC 25922 suşu kullanıldı.

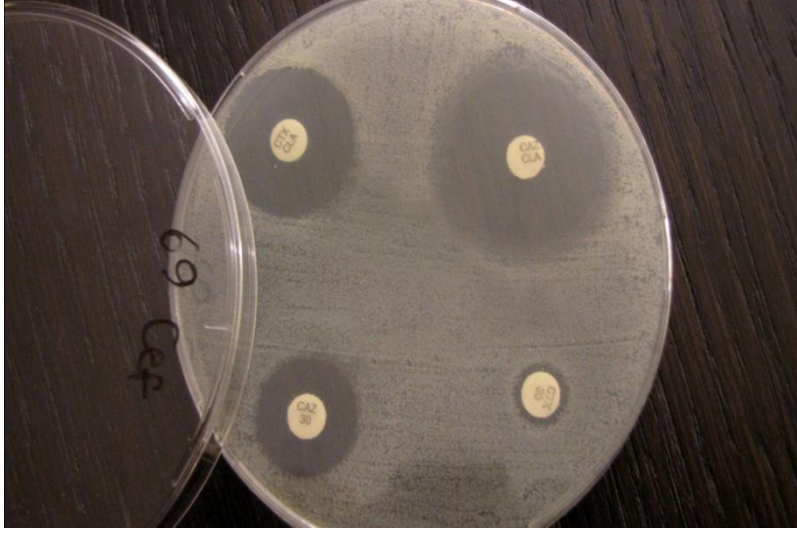


**Şekil 2.4:** GSBL üretiminin belirlenmesi için fenotipik tarama ve doğrulama testi

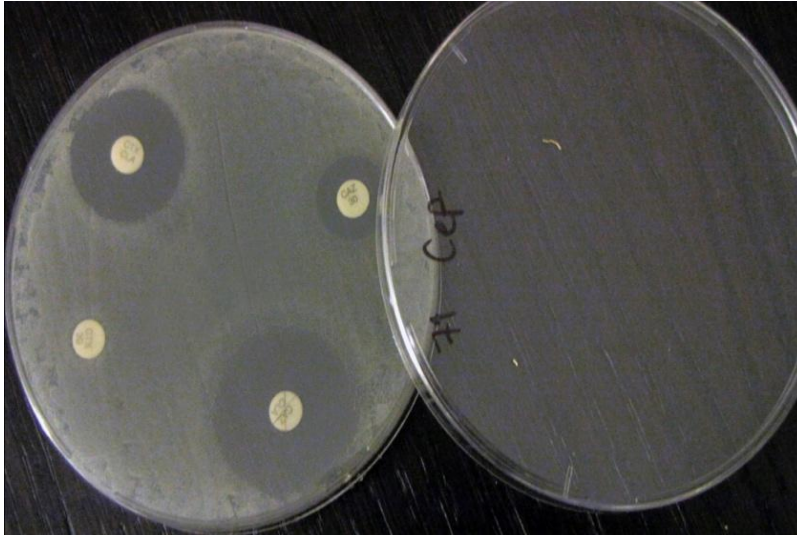
Tüm izolatlara CLSI kriterlerine göre fenotipik tarama ve doğrulama testi için 'Kirby-Bauer Disk Difüzyon Metodu' kullanıldı. *E. coli* suşlarında GSBL taraması amacıyla yapılan duyarlılık testlerinde seftaksim zon çapı  $\leq 27$  mm ve/veya seftazidim zon çapı  $\leq 22$  mm bulunanlar dahil, tüm suşlarda fenotipik doğrulama testi gerçekleştirildi. Bunun için seftazidim (CTX:30 $\mu$ g), seftaksim (CAZ:30 $\mu$ g), seftazidim/klavulanik asit (CTX/CLA:30/10 $\mu$ g), seftaksim/klavulanik asit (CAZ/CLA:30/10 $\mu$ g) antibiyotik diskleri kullanıldı (Bauer ve ark. 1996, CLSI 2007).

FTS (fizyolojik tuzlu su)'de McFarland 0.5 bulanıklığına göre ayarlanan bakteri süspansiyonu, Mueller-Hinton agar (Oxoid) üzerine yayıldı. CLSI'nin önerdiği dört antibiyotik uygun aralıklarla yerleştirildi. Plaklar ters çevrilerek 35°C'de bir gece inkübasyona bırakıldı. İnkübasyondan sonra antibiyotik disklerinin çevresinde oluşan zonlar cetvel ile ölçüldü.

CLSI'nin kriterleri doğrultusunda klavulanik asit içeren diskin inhibisyon zonunun diğer diskin inhibisyon zonundan 5 mm veya daha büyük olması GSBL varlığı yönünde yorumlandı.



Şekil 2.5: Fenotipik doğrulama testi



Şekil 2.6: Fenotipik doğrulama testi

## 2.4. İstatiksel Analiz

Hipodrom ve konkur atlarından izole edilen *E. coli* izolatlarının antibiyotiklere direnç oranları arasındaki farkın önem analizi ki-kare ( $\chi^2$ ) testi ile yapıldı, n sayısı 5'den az olan gruplarda karşılaştırmada Fisher ki-kare ( $\chi^2$ ) testi kullanıldı.

### 3. BULGULAR

Bu çalışmada Ankara ili'nde bulunan Konkur tesisindeki atlardan 63'ünün ve Türkiye Jokey Kulübü (TJK) Ankara 75.Yıl Hipodrom'undaki atlardan 37'sinin dışkı örneğinden, her attan bir örnek, her örnekten de bir izolat olmak üzere toplam 100 *E. coli* izole ve identifiye edildi.

#### 3.1. Antimikrobiyal İlaçlara Direnç Sonuçları

Çalışmada konkur tesisindeki atlardan izole edilen 63 adet *E. coli* izolatının direnç yüzdeleri sırasıyla tetrasikline %20.6 (13), streptomisine %9.5 (6), trimetropim/sulfametaksazole %9.5 (6), amoksisilin/klavulanik asite %3.6 (2), sefoksitine %3.6 (2) ve en düşük ampisiline %1.6 (1) ile kloramfenikole %1.6 (1) olarak bulunmuş olup, seftazidim, sefotaksim, gentamisin, aztreonam, imipenem, amikasin, tobramisin, nalidiksik asit ve siprofiloksasine karşı direnç saptanmadı (Çizelge 1).

Hipodromdaki atlardan izole edilen 37 adet *E. coli* izolatının antibiyotik direnç yüzdeleri sırasıyla tetrasikline %81.1 (30), streptomisine %62.1 (23) ampisiline %48.6 (18), trimetropim/sulfametaksazole %45.9 (17), aztreonama %35.1 (13), gentamisine %32.4 (12), nalidiksik asite %32.4 (12), seftazidime %29.7 (11), tobramisine %29.7 (11), amoksisilin/klavulanik asite %27.0 (10), amikasine %27.0 (10), siprofiloksasine %27.0 (10), imipeneme %24.3 (9) kloramfenikole %21.6 (8), sefataksime %18.9 (7) ve en düşük direnç sefoksitine %13.5 (5) karşı tespit edildi.

Hipodrom ve Konkur atlarından izole edilen *E. coli* izolatlarının antibiyotik direnç farkları istatistiki olarak önemli ( $p<0.001$ ) bulundu (Çizelge 3.3).

Toplam 100 attan izole edilen *E. coli* izolatlarının tetrasikline, streptomisine trimetropim/sulfametaksazole, ampisiline, aztreonama, amoksisilin/klavulanik asite, gentamisine, nalidiksik asite, seftazidime, tobramisine, amikasine, siprofiloksasine, imipeneme, kloramfenikole ve en düşük direnç olarak da sefoksitin ile sefotaksime direnç oranları sırasıyla; %43(43), %29(29), %23(23), %19(19), %13(13), %12(12), %12(12), %12(12), %11(11), %11(11), %10(10), %10(10), %9(9), %9(9), %7(7), %7(7) olarak bulundu (Çizelge 3.1).

**Çizelge 3.1:** Tüm izolatların antibiyotiklere duyarlılık oranları

Antibiyotik adı	Konkur (n=63)			Hipodrom (n=37)			TOPLAM (n=100)		
	Dirençli Sayı n(%)	Orta Dirençli Sayı n(%)	Duyarlı Sayı n(%)	Dirençli Sayı n(%)	Orta Dirençli Sayı n(%)	Duyarlı Sayı n(%)	Dirençli Sayı n(%)	Orta Dirençli Sayı n(%)	Duyarlı Sayı n(%)
AM	1(1.6)	1(1.6)	61(96.8)	18(48.6)	3(8.1)	16(43.2)	19(19.0)	4(4.0)	77(77.0)
AMC	2(3.2)	1(1.6)	60(95.2)	10(27.0)	5(13.5)	12(32.4)	12(12.0)	6(6.0)	72(72.0)
FOX	2(3.2)	-	61(96.8)	5(13.5)	2(5.4)	30(81.1)	7(7.0)	2(2.0)	91(91.0)
CTX	-	-	63(100)	11(29.7)	1(2.7)	15(40.5)	11(11.0)	1(1.0)	88(88.0)
CAZ	-	-	63(100)	7(18.9)	4(10.8)	26(70.2)	7(7.0)	4(4.0)	89(89.0)
GM	-	-	63(100)	12(32.4)	-	25(67.5)	12(12.0)	-	88(88.0)
ATM	-	-	63(100)	13(35.1)	-	24(64.8)	13(13.0)	-	87(87.0)
IPM	-	-	63(100)	9(24.3)	-	28(75.6)	9(9.0)	-	91(91.0)
AN	-	-	63(100)	10(27.0)	-	27(72.9)	10(10.0)	-	90(90.0)
NN	-	-	63(100)	11(29.7)	-	26(70.2)	11(11.0)	-	89(89.0)
S	6(9.5)	2(3.2)	55(87.3)	23(62.1)	2(5.4)	12(32.4)	29(29.0)	4(4.0)	67(67.0)
NA	-	1(1.6)	62(98.4)	12(32.4)	2(5.4)	23(62.1)	12(12.0)	3(3.0)	85(85.0)
CIP	-	-	63(100)	10(27.0)	2(5.4)	25(67.5)	10(10.0)	2(2.0)	88(88.0)
SXT	6(9.5)	-	57(90.4)	17(45.9)	-	10(27.0)	23(23.0)	-	67(67.0)
TE	13(20.6)	22(35.0)	28(44.4)	30(81.1)	4(10.8)	3(8.1)	43(43.0)	26(26.0)	31(31.0)
C	1(1.6)	-	62(98.4)	8(21.6)	6(16.2)	23(62.1)	9(9.0)	6(6.0)	85(85.0)

AM:Ampisilin, AMC:Amoksisilin/Klavulanik asit, FOX:Sefoksitin, CTX:Seftazidim, CAZ:Sefotaksim, GM:Gentamisin, ATM:Aztreonam, IPM:İmipenem, AN:Amikasin, NN:Tobramisin, S:Streptomisin, NA:Nalidiksik asit, CIP:Siprofiloksasin, SXT:Trimetropim/Sulfametaksazol, TE:Tetrasiklin, C:Kloramfenikol, - : 0(0.0)



Toplam 100 *E. coli* izolatu arasında çalışılan tüm antibiyotiklere duyarlılık oranı %22 (22) olarak tesbit edildi, bunlardan %31.7 (20)'si konkurdan, %5.4 (2)'ü hipodromdan elde edildi. İncelenen tüm antibiyotiklere dirençli bir adet suş bulundu ve bu izolat fenotipik doğrulama testinde GSBL pozitif olarak belirlendi.

Konkur atlarından izole edilen 63 izolatin % 33.3 (21)'ü en az bir antibiyotiğe dirençli olarak belirlenirken %9.5 (6)'inde çoğul direnç (en az iki antibiyotiğe veya daha fazlasına direnç) belirlendi. Üç antibiyotiğe direnç oranı %3.2 (2), dört antibiyotiğe %3.2 (2) ve beş antibiyotiğe direnç oranı %1.6 (1) olarak belirlendi.

Hipodromdan elde edilen 37 izolatin %89.1 (33)'i en az bir antibiyotiğe dirençli olarak belirlenirken %72.9 (27)'unda çoğul direnç tespit edildi. Üç antibiyotiğe direnç oranı %56.7 (21), dört antibiyotiğe %51.3 (19), beş antibiyotiğe %43.2 (16), altı antibiyotiğe %40.5 (15), yedi antibiyotiğe %32.4 (12), sekiz ve dokuz antibiyotiğe %29.7 (11), on antibiyotiğe %27.02 (10), on bir antibiyotiğe %24.3(9), on iki antibiyotiğe 21.6 (8), on üç antibiyotiğe %16.2 (6), on dört antibiyotiğe %13.5 (5), on beş antibiyotiğe %2.7 (1), on altı antibiyotiğe yani tüm antibiyotiklere direnç oranı %2.7 (1) olarak bulundu.

Çalışmada elde edilen toplam 100 izolatin %54 (54)'ü en az bir antibiyotiğe dirençli olarak belirlenirken, çoğul direnç oranı ise (iki veya daha fazla antibiyotiğe) ise %33 (33) olarak tespit edildi.

### **3.2. Fenotipik GSBL Tarama Sonuçları**

Atlardan izole edilen 100 *E. coli* izolatinın 6'sında GSBL üretimi fenotipik doğrulama testi ile belirlendi. GSBL pozitif olan 6 izolatta en az bir antibiyotiğe direnç oranı %100 (6) ve çoğul direnç oranı da %100 (6) olarak belirlendi.

GSBL pozitif olarak belirlenen 6 izolat hipodromdaki atlardan izole edildi. Hipodrom atlarında GSBL üretimi %16.2 (6) olarak belirlendi. Toplam 100 attaki GSBL prevalansı %6 (6) olarak tespit edildi.

GSBL pozitif suşlarda, pek çok antibiyotik için de direnç oranları, GSBL negatif suşlardan yüksek bulundu. GSBL pozitif suşların çoğul dirençli olduğu görüldü (Çizelge 3.2).

**Çizelge 3.2:** Atlardan izole edilen GSBL pozitif *E. coli* izolatlarının izole edildiği atlar ve antibiyotik direnç profilleri

<b>Atlar/ Yaş</b>	<b>Dirençli Antibiyotikler</b>	<b>D.Antibiyotik Sayısı</b>
İngiliz (3)	AM,ATM,S,SXT,TE,CTX	6
Arap (4)	AM,AMC,FOX,GM,ATM,IPM,AN,NN,S,CIP,TE,CTX, CAZ	13
Arap (6)	AM,GM,ATM,NN,NA,CIP,SXT,TE,CTX,CAZ	10
Arap (5)	AM,FOX,GM,ATM,NN,S,NA,CIP,SXT,TE,CTX,CAZ	12
Arap (4)	AM,AMC,FOX,GM,ATM,IPM,AN,NN,S,NA,CIP,SXT,TE, C,CTX,CAZ	16
İngiliz (3)	AM,AMC,GM,ATM,NN,S,SXT,TE,C,CTX	10

### 3.3. İstatiksel Analiz Sonucu

**Çizelge 3.3:** *E. coli* izolatlarındaki antibiyotik direncinin karşılaştırması

	<b>Konkur (n=63)</b>	<b>Hipodrom (n=37)</b>	<b>P</b>
<b>Antibiyotik adı</b>	<b>Dirençli Sayı n(%)</b>	<b>Dirençli Sayı n(%)</b>	
AM	1 <sup>1</sup> (1.58) <sup>2</sup>	18 (48.6)	***
AMC	2 (3.17)	10 (27.02)	***
FOX	2 (3.17)	5 (13.5)	***
CTX	0 (0.0)	11 (29.7)	***
CAZ	0 (0.0)	7 (18.9)	***
GM	0 (0.0)	12 (32.4)	***
ATM	0 (0.0)	13 (35.1)	***
IPM	0 (0.0)	9 (24.3)	***
AN	0 (0.0)	10 (27.02)	***
NN	0 (0.0)	11 (29.7)	***
S	6 (9.5)	23 (62.1)	***
NA	0 (0.0)	12 (32.4)	***
CIP	0 (0.0)	10 (27.02)	***
SXT	6 (9.5)	17 (45.9)	***
TE	13 (20.6)	30 (81.1)	***
C	1 (1.58)	8 (21.6)	***

Dirençli suş sayısı :1 ,Yüzde:2

\*\*\* : P<0.001

Araştırmada hipodrom ve konkur atlarından izole edilen *E. coli* izolatlarında antibiyotiklere direnç bakımından gruplar arası karşılaştırmalarda Ki-kare testi; n sayısı 5'ten az olan grupların karşılaştırmaların da ise Fisher'in Ki-Kare testi kullanılmıştır.

#### 4. TARTIŞMA VE SONUÇ

Antibiyotiğin keşfedilmesinden bu yana gerek insan ve gerek Veteriner Hekimlik alanında pek çok bakteriyel infeksiyonun tedavisinde başarılar elde edilmiştir. Ancak antibiyotiğin kullanıma girmesi antimikrobiyal direnç sorununu da beraberinde getirmiştir. Antimikrobiyal direnç, son yıllarda Veteriner Hekimlik ve Tıp alanında ülkemizde ve dünyada önemli bir sorun haline gelmiştir (Avorn ve ark. 2001, Quinn ve ark. 2011).

Antibiyotiklere karşı artan direnç sorunu tüm dünyayı tehdit eder durumdadır. Beta-laktam antibiyotikleri hidrolize ederek inaktif hale getiren beta-laktamaz enzim üretimi, başta *Enterobacteriaceae* üyeleri olmak üzere birçok bakteri türünün en önemli direnç mekanizmalarından biridir (Akçam ve ark. 2004).

Çalışmada direkt antibiyotik kullanımı ile ilgili olmasa da farklı yetiştirme gruplarından örnekler alındı. İki farklı gruptan izole edilen *E. coli* izolatlarında antibiyotik direnç oranları farklı belirlendi. Daha sık antibiyotik kullanılan hipodrom atlarında antibiyotik direnç oranları % 13.5-81.1 (sefoksitin-tetrasiklin) arasında belirlenirken, daha az antibiyotik kullanılan konkur grubunda bu oran %1.6-20.6 (ampisilin-tetrasiklin) olarak belirlendi.

Çeşitli ülkelerde farklı hayvan türleri ile yapılan çalışmalarda değişik oranlarda GSBL üreten *E. coli* bildirilmiştir; Dunowska ve ark. (2006)'nın USA'da antibiyotik tedavisi yapılmış (68), antibiyotik kullanılmamış (63) ve sağlıklı atlardan (85) izole ettikleri 724 *E. coli* izolatının, Ahmed ve ark. (2010)'nın İngiltere'de at hastanesinden (66), kiralık ahırlardan (72) izole ettikleri 296 *E.coli* izolatının, John's ve ark. (2012)'nin antibiyotik ile tedavi edilmiş hospitalize (56), hospitalize edilmeyen (14) ve tedavi edilmeyen kontrol atı (10) olarak kullandıkları atlardan izole ettikleri 228 *E.coli* izolatının antibiyotiklere dirençlerini araştırmışlardır. Antibiyotik kullanımı farklı olan gruplarda antibiyotik direncinin de farklı olduğunu belirtmişlerdir. Araştırmacıların sonuçları ile bu çalışmada bulunan sonuçlar uyumluluk göstermektedir.

Bu çalışmada da farklı gruplarda farklı oranlarda antibiyotik direnci belirlendi. Bu farklılığın kesin olmamakla birlikte antibiyotik kullanım sıklığı ile ilgili olabileceği düşünülmektedir.

Dolejska ve ark. (2011)'de Çek Cumhuriyeti'nde at kliniği ve binicilik merkezinde yaptıkları çalışmada; GSBL prevalansını, at kliniğinden elde ettikleri *E. coli* izolatlarında (antibiyotik ile tedavi edilen atlarda), binicilik merkezinden elde edilen *E. coli* izolatlarına göre önemli derecede yüksek bulmuşlardır. Bu çalışmada da benzer şekilde antibiyotik direncinin yüksek belirlendiği hipodrom atlarında GSBL belirlenirken, antibiyotik direnç oranlarının düşük olduğu binicilik merkezindeki konkur atlarında GSBL belirlenmedi.

Amerika'da 2004 yılında Ulusal Tanı Laboratuvarının antimikrobiyal direnç izleme çalışmaları sonucu, atlardan elde edilen *E. coli* izolatlarında direnç prevalansı en yüksek tetrasiklin (%44.4), sulfametaksazol (%44.4), streptomisin (%40.7) ve gentamisin (%37.0) oranında bulunmuştur (USDA 2005). Bu çalışma sonucunda da en yüksek antibiyotik direnci hem konkur (%20.6) hem hipodrom da (%81.1) tetrasikline karşı belirlendi.

Bu çalışmada atlardan elde ettiğimiz *E. coli* izolatlarında antimikrobiyal direnç oranları en yüksek %43 tetrasiklin, %29 streptomisin, %23 trimetropim/sulfametaksazol ve %19 ampisilin olarak sıralanmıştır.

GSBL üreten *E. coli* izolatlarının çiftlik hayvanlarından izole edilmesi ile ilgili çok sayıda çalışma yapılmaktadır. Ülkemizde bu konuda çok az sayıda çalışma mevcuttur; Aksoy ve ark. (2005)'de sığır dışkılarından elde ettikleri *E. coli* izolatlarında yaptıkları çalışmada GSBL pozitiflik saptamamışlardır. Dinç ve ark. (2012)'de mastitisli sığırlardan izole edilen *E. coli* izolatlarında hiç GSBL pozitiflik saptamamışlardır.

Yurt dışında Overderest ve ark. (2011)'de Hollanda'da tavuk etlerinden izole ettikleri *E. coli* suşlarında % 79.8, Dolejska ve ark. (2011)'de Çek Cumhuriyeti'nde sığırlardan izole edilen *E.coli* izolatlarında %1-39 (meme içi sefalosporin kullanılan çiftlik – kullanılmayan çiftlik), O'Keefe ve ark. (2010)'nın USA'da kedi ve köpekten izole edilen *E. coli* izolatlarında %4 (6/150), Girlich ve ark. (2007)'de Fransa'da 7 farklı bölgedeki 10 kesimhaneye getirilen sağlıklı kümes hayvanlarının dışkı ve kloakal swablarından izole ettikleri *E. coli* izolatlarında %10.7 (12/112), Huber ve ark.(2010)'da İsviçre'de kedi ve köpek üriner sisteminden izole ettikleri *E. coli* izolatlarında ise %7.4 (8/107), oranında GSBL pozitif *E. coli* bildirmişlerdir.

Yurt dışında, atlarda GSBL pozitif *E. coli* oranı %3 (John's ve ark. 2012) - %32 (Dolejska ve ark. 2011) olarak belirlenmiştir. Yapılan literatür taraması sonucuna göre, bu tez çalışması Türkiye'de atların fekal florasından izole edilen *E.coli*'lerde GSBL üretiminin araştırıldığı ilk çalışmadır. Araştırılan izolatların %6'sında fenotipik olarak GSBL varlığı belirlendi.

John's ve ark. (2012)'de at dışkılarından elde ettikleri *E. coli* izolatlarında en az bir antibiyotiğe dirençli *E. coli* izolatını %32 (73/228), iki antibiyotiğe %12 (27/228), üç antibiyotiğe %4 (9/228) oranında belirlerlerken, çalışmada elde edilen toplam 100 izolatın %54 (54)'ü en az bir antibiyotiğe dirençli olarak belirlendi. Çoğul direnç oranı (iki veya daha fazla antibiyotiğe) ise %33 (33), üç antibiyotiğe direnç %23 (23) olarak tespit edildi.

Bu çalışmada Yarış atı ve Konkur atı olarak değerlendirilen atların dışkı örneklerinden izole edilen *E. coli* suşlarının çeşitli antibiyotiklere direnç durumlarını belirlemek ve GSBL varlığını araştırmak amaçlanmıştır. Bu amaçla elde edilen 100 *E. coli* ( konkur: 63, hipodrom: 37) izolatının 16 antibiyotiğe karşı duyarlılıkları ile birlikte Disk Difüzyon yönteminden yararlanarak GSBL varlığı fenotipik olarak analiz edildi. Hipodrom grubu ve Konkur grubu arasında antibiyotik direnç prevalansı karşılaştırıldı.

Yurt dışında pek çok ülkede bu konuda çok sayıda çalışmanın mevcut olmasına rağmen ülkemizde at kökenli izolatlardaki GSBL enzim varlığını araştıran bir çalışmaya yaptığımız literatür taramasında ulaşamamıştır. Atların florasındaki antibiyotik dirençli *E. coli* izolatlarının varlığı, direnç genlerinin ekosisteme karışması dolayısı ile hayvan ve insan sağlığı açısından önemlidir. Ülkemizde bu konuda kapsamlı çalışmaların yapılması gerekmektedir. Ayrıca hayvan kökenli izolatlardaki antibiyotik direnç durumunu fenotipik ve genotipik olarak belirleyecek çok merkezli ulusal sörveyans programlarının oluşturulması ile antibiyotik direncini önleme stratejileri geliştirilmelidir.

## KAYNAKLAR

- ABBOTT I, CERQUEIRA GM, BHUIYAN S, PELEG AY (2013) Carbapenem resistance in *Acinetobacter baumannii*, laboratory challenges, mechanistic insights and therapeutic strategies, expert reviews anti-infective therapy. 11(4):395-409.
- AHMED OM, CLEGG PD, WILLIAMS NJ, BAPTISTE KE, BENNETT M (2010) Antimicrobial resistance in equine faecal *Escherichia coli* isolates from North West England, *Annals Of Clinical Microbiology And Antimicrobials* 9:12 (<http://www.ann-clinmicrob.com/content/9/1/12>)
- AKÇAM FZ, GÖNEN İ, KAYA O, YAYLI G. (2004 ) Hastane enfeksiyonu etkeni çeşitli gram- negatif bakterilerde genişlemiş spektrumlu beta-laktamaz yapımının iki yöntemle araştırılması, *Klinik Dergisi* 17(1): 47-9.
- AKSOY A, GÖÇMEN J.S., KAÇMAZ B, CANVER S. (2005) İnsan ve sığırlardan izole edilen fekal *Escherichia coli* suşlarında antibiyotik direnci ve genişlemiş spektrumlu beta-laktamaz üretimi, *ANKEM Dergi* 19(3):130-134.
- ARDA M, MİNBAY A, LELOĞLU N, AYDIN N, KAHRAMAN M, AKAY Ö, ILGAZ A, İZGÜR M, DİKER S. (1999) Özel Mikrobiyoloji, Fakültatif Anerobik Gram Negatif Çomaklar, Enterobacteriaceae Familyası, 4.baskı, (3): 45-47
- ARDA M. (2000) Temel Mikrobiyoloji, Metil Red Testi, 1.Baskı, 8(33): 308
- ATLAS RM. (1996), Microbial Pysiology Cellular Biology, Principles of Microbiology, secend ed.3(2): 108-113
- AVORN JL, BARRETT JF, DAVEY PG, MCEWEN SA, O'BRIEN TF and LEVY (2001) Antibiotic resistance: synthesis of recommendations by expert policy groups. *World Health Organization*. p: 81-82.
- BAUER AU, KIRBY WM, SHERRIS JC, TACK M (1966): Antibiotic Susceptibility Testing by a Standardized Single Disc Method. *Journal of Clinical Pathology*, 45, 493-494.
- BAUERNFEIND A, HORL G. (1987) Novel R-factor-borne Beta-laktamaz conferring resistance to cephalosporins. *Infection* 15; 257-9
- BİLGEHAN H. (2002) Klinik Mikrobiyolojik Tanı, 3.baskı, Barış Yayınları Fakülteler Kitabevi, İzmir s:669-695
- BRADFORD PA.(2001) Extended-spectrum beta-lactamases in the 21st century: characterization, epidemiology, and detection of this important resistance threat. *Clinical Microbiology review*; 14: 933
- BUSH K, JACOBY GA, MEDEİROS AA (1995 ) A functional classification scheme for betalactamases and its correlation with molecular structure. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*. 39(6) :1211-1233



- BUSH K. (2008) Extended-spectrum  $\beta$ -lactamases in North America, 1987–2006, *Clinical Microbiology and Infection* review, 14 (Suppl. 1): 134–143
- BUSH K. (2010) Bench-to bedside review: the role of  $\beta$ -lactamases in antibiotic-resistant gram- negative infections. *Critical Care*, 14: 224
- BUSH K ve GEORGE A.JACOBY (2010) Updated functional classification of  $\beta$ -lactamases. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, March: 54(3), 969-976
- CIZMAN M (2003). The use and resistance to antibiotics in the community. *International Journal of Antimicrobial Agents*, 21: 297-307.
- CLSI (2002) CLİNİCAL AND LABORATORY STANDARDS İNSTITÜTE (Çeviri editörü D. Gür): Antimikrobik duyarlılık testleri için uygulama standartları, on birinci bilgi eki M100-S10, Bilimsel Tıp Yayınevi, Ankara.
- CLSI (2007) Clinical and laboratory standards institute performance standards for antimicrobial susceptibility testing. 17th informational supplement. approved standard, MS100-S17, Wayne, PA, USA
- CLSI (2011) Clinical and laboratory standards institute performance standards for antimicrobial susceptibility testing.,twenty first informational supplement, M100-S21, Vol 31, No 11
- COQUE TM, BAQUERO F, CANTON R (2008) Increasing prevalence of ESBL - producing Enterobacteriaceae in Europe *Eurosurveillance*, Review, Vol 13, Issue 47
- CORNAGLIA G, MAZZARIOL A, FONTANA R (2000) The astonishing complexity of antibiotic resistance. *Clinical Microbiology and Infection*, 6 (Suppl 3):93-4.
- DİNÇ G, ATA Z, TEMELLİ S (2012) Sığır mastitislerinden izole edilen *Escherichia coli* suşlarında genişlemiş spektrumlu beta-laktamaz aktivitesi ve antibiyotik dirençlilik profilinin incelenmesi, *Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*, 59; 85-88
- DÖKMECİ İ. (2007) Farmakoloji İlaçlar ve Etkileri, Alfa Yayınları, Ankara s. 413-619
- DOLEJSKA M, JURČICKOVA Z, LİTERAK I, POKLUDOVA L, BURES J, HERA A, KOHOUTOVA L, SMOLA J, CÍZEK A ( 2011) IncN plasmids carrying blaCTX-M-1 in *Escherichia coli* isolates on a dairy Farm, *Veterinary Microbiology* 149; 513–516
- DOLEJSKA M, DUSKOVA E, RYBARÍKOVA J, JANOSZOWSKA D, ROUBALOVA E, DİBĐAKOVA K, MACECKOVA G, KOHOUTOVA L, LİTERAK I, SMOLA J. AND CÍZEK A. (2011) Plasmids carrying blaCTX-M-1 and qnr genes in *Escherichia coli* isolates from an equine clinic and a horseback riding centre. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy* 66(4): 757–764

- DUNOSWSKA M, MORLEY PS., DARGATZ JLT, HYATT DR., DARGATZ DA. (2006) Impact of hospitalizasyon and antimicrobial drug adminstration on antimicrobial susceptibilitiy patterns of commensal *Escherichia coli* isolated from the feces of horses, *Journal of the American Veterinary Medical Association (JAVMA)*, Vol 228,no:12
- EMERY CL, WEYMOUTH LA (1997) "Detection and clinical significance of extended spectrum beta-lactamases in a tertiary-care medical center", *Journal of Clinical Microbiology*, 35: 2061-2067
- ENDTZ HP, DÍJK WC, VERBRUGH HA and MUSTİN STUDY GROUP (1997) Comparative in vitro activitiy of meropenem against selected pathogens from hospitalized patients in the Netherlans. *Antimicrobial Chemotherapy* 39: 149-56
- EWERS C, GROBBEL M, STAMM I, KOPP A.P, DÍEHL I, SEMMLER T, FRUTH A, BEUTLÍCH J, BGUERRA B, WÍELER L.H. and GUENTHER S. (2010) Emergence of human pandemic O25:H4-ST131 CTX-M-15 extended-spectrum beta-lactamase producing escherichia coli among companion animals. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy* 65: 651–660
- EWERS C, GROBBEL M, BETHE A, WÍELER LH, GUANTHER S. (2011) Extended-spectrum beta-lactamases-producing gram-negative bacteria in companion animals: action is clearly warranted! [\*Berliner und Münchener Tierärztliche Wochenschrift\*](#). Mar-Apr;124(3-4):94-101. Review
- FRÍDKÍN SK, WELBEL SF and WEÍNSTEÍN RA (1997 ) Magnitude and prevention of nosocomial infections in the intensive care unit. *Infectious Disease Clinics of North America*, 11: 479-496.
- GAZİN M, PAASCH F, GOOSSENS H. and KUMAR SM. (2012) On behalf of the MOSAR WP2 and SATURN WP1 study teams current trends in culture-based and molecular detection of extended-spectrum beta-lactamase-harboring and carbapenem-resistant Enterobacteriaceae, *Journal of Clinical Microbiology*. p: 1140–1146
- GÍRLÍCH D, POÍREL L, CARATTOLÍ A, KEMPF I, LARTÍGUE MF, BERTÍNÍ A, NORDMANN P. (2007). Extended-spectrum beta-lactamase CTX-M-1 in *Escherichia coli* isolates from healthy poultry in France. *Applied and Environmental Microbiology*. 73(14):4681-4685.
- GÜLAY Z. (2004) ESBL'lerin Tanı Yöntemleri. In: ÜNAL S, VAHABOĞLU H, LEBLEBÍCÍOĞLU H, ÖZTÜRK R, KÖKSAL İ.(eds). Yeni ve yeniden gündeme gelen infeksiyonlar, genişlemiş spektrumlu beta-laktamazlar. Ankara: Bilimsel Tıp Yayınevi; 13-26.
- GÜR D. (2000) Hastane infeksiyonları ve antimikrobiyal ajanlara çoğul dirençli gram negatif bakteriler. *Hastane İnfeksiyon Dergisi*. 4: 218-25
- GÜR D. (2002) Bakterilerde antibiyotiklere karşı direnç. In: Topçu AW, Söyletir G, Doğanay M (eds). İnfeksiyon Hastalıkları ve Mikrobiyolojisi. İstanbul: Nobel tıp kitabevleri, 182-93.

- HAMMERUM AM and HEUER OE. (2009) Human health hazards from antimicrobial-resistant *Escherichia coli* of animal origin. *Clinical Infectious Diseases*. 48: 916–21
- HARADA K and ASAI T. (2010) Role of antimicrobial selective pressure and secondary factors on antimicrobial resistance prevalence in *Escherichia coli* from food-producing animals in Japan. Hindawi Publishing Corporation. *Journal of Biomedicine and Biotechnology*. Article ID 180682, doi:10.1155/2010/180682
- HAWKEY PM, JONES AM. (2009) The changing epidemiology of resistance. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*. doi:10.1093/jac/dkp256
- HIRSH DC, MACLACHLAN NJ, WALKER RL (2004) John F. Prescott, Antimicrobial Chemotherapy 4; 26-43
- HINTON M, KAUKAS A, LIPTON AH (1986) The ecology of drug resistance in enteric bacteria. *Journal of Applied Bacteriology*, 61 (Suppl 1): 77–92.
- HUBER H, ZWEIFEL C, MAX M, WITTENBRINK MM, STEPHAN R. (2010) ESBL-producing uropathogenic *Escherichia coli* isolated from dogs and cats in Switzerland. *Veterinary Microbiology*, doi:10.1016/j.vetmic.2012.10.029
- JACOBY GA, MUNOZ-PRICE LS. (2005) The new beta-lactamases. *The New England Journal of Medicine*. 352: 380-391.
- JOHNS I, VERHEYEN K, GOOD L, RYCROFT A. (2012) Antimicrobial resistance in faecal *Escherichia coli* isolates from horses treated with antimicrobials: a longitudinal study in hospitalised and non-hospitalised horses. *Veterinary Microbiology*. 12;159(3-4):381-9
- KFOURY JNS, ARAJ GF. (2003) Recent development in beta-lactamases and extended spectrum beta-lactamases. *British Journal Medicine* 327:1209-13
- KRAUSE RM. (1992) The origin of plagues: Old and new. *Science*; 257: 1073-8.
- KONEMAN EW, ALLEN SD, JANDA WM, SCHRECKENBERGER PC, WINN WC. (1997) Color Atlas and Textbook of Microbiology, fifth edition, s:1314
- KOU-ZOU L, NING WANGA H., ZENG B, YUN ZHANG A., NIANG LI J., TING LI X., BAO TIAN G, WEI K, SHUN ZHOU Y, WEN XU C, RONG YANG Z. (2011) Phenotypic and genotypic characterization of beta-lactam resistance in *Klebsiella pneumoniae* isolated from swine. *Veterinary Microbiology* 149 ; 139–146
- LIGON BL (2004) Penicillin: its discovery and early development. *Seminars in Pediatric Infectious Diseases* 15: 52-57
- LI XZ, MEHROTRA M, GHIMIRE S, ADEWOYE L (2007).  $\beta$ -Lactam resistance and  $\beta$ -lactamases in bacteria of animal origin. *Veterinary Microbiology*. 121: 197-214
- LIVERMORE DM (1995) Beta-lactamases in laboratory and clinical resistance. *Clinical Microbiology Review* 8: 557-84.

- LİVERMORE DM, CANTON R, GNIADKOWSKI M ET AL. (2007) CTX-M: Changing the face of ESBLs in Europe. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy* 59: 165–74.
- MCMANUS MC. (1997) Mechanisms of bacterial resistance to antimicrobial agents. *American Journal of Health System Pharmacy*; 54: 1420-33
- MATSUMOTO Y , IKEDA F, KAMİMURA T, YOKOTA Y, MİNE Y. ( 1988).Novel plasmid-mediated beta-lactamase from *escherichia coli* that inactivates oxyimino-cephalosporins. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*. 32: 1243–1246.
- MEDEİROS AA. (1997) Evolution and dissemination of beta-lactamases accelerated by generations of beta-lactam antibiotics. *Clinical Infection Disease*.24:19-45.
- MEDEİROS AA. (2000) Cooperative evolution of mechanisms of beta-lactam resistance. *Clinical Microbiology and Infection*, 6: 3-5
- O'KEEFE A, HUTTON TA, SCHİFFERLİ DM, RANKİN SC (2010) First detection of CTX-M and SHV extended-spectrum beta-lactamases in *Escherichia coli* urinary tract isolates from dogs and cats in the United States, *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, p. 3489–3492
- OVERDEVEST I, WİLLEMSEN I, RİJNSBURGER M, EUSTACE A, XU L, HAWKEY P, HECK M, SAVELKOUL P, GRAULS CV, ZWALUW KV, XANDER H, KLUYTMANS J (2011) Extended-spectrum  $\beta$ -lactamase genes of *Escherichia coli* in chicken meat and humans, the netherlands, *Emerging Infectious Diseases*, www.cdc.gov/eid ,Vol. 17, No. 7
- ÖZSOY FM, ÖNCÜL O, YILDIRIM A, PAHSA A.(2001) Genişletilmiş spektrumlu beta-laktamazlar: klinik önemi ve getirdiği sorunlar. *Flora Dergisi* 6: 3-21.
- ÖNCÜL O (2011) Dördüncü Avrupa antibiyotik farkındalık günü, Türk klinik mikrobiyoloji ve infeksiyon hastalıkları *Klinik Bülteni*,([www.klinik.org](http://www.klinik.org)) Erişim tarihi: 02.01.2013
- PATERSON DL. (2000) Recommendation for treatment of severe infections caused by enterobacteriaceae producing extended-spectrum beta-lactamases. *Clinical Microbiology and Infection*, 6: 460
- PATERSON DL. and BONOMO RA. (2005) Extended-spectrum  $\beta$ -lactamases: a clinical update, *Clinical Microbiology Review*. 18(4):657.
- PHİLLİPS I, CASEWEEL M. COX T,GROOT DB, FRIİS C, JONES R, NİGHTİNGALE C, PRESTON R and WADDEL J. (2004) Does the use of antibiotics food animal pose a risk to human health? a critical reievw of published data *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, (53) 28-52
- PİTOUT JDD, NORDMANN P, LAUPLAND KB. and POİREL L (2005) Emergence of Enterobacteriaceae Producing Extended-Spectrum  $\beta$ -lactamases (ESBLs) in the Community, *Journal of Antimicrobial Chemotherapy* 56, 52–59

- PRESCOTT JF., BAGGOT JD and WALKER RD. (2000) Antimicrobial therapy in veterinary medicine, third edition, chapter 1, Antimicrobial Drug Action and Infection, p:5
- QUINN PJ, MARKEY B.K, LEONARD FC, FITZPATRICK ES, FANNING S, HARTIGAN PJ (2011) Veterinary Microbiology and Microbial Disease, Antimicrobial Resistance, Second Edition, Chapter 12, p:157
- QUINN PJ, MARKEY BK, LEONARD FC, FITZPATRICK ES, FANNING S, HARTIGAN PJ (2011) Veterinary Microbiology and Microbial Disease, Enterobacteriaceae, second edition, chapter 24, p:263
- SANDERS CC, SANDERS WE. (1992) Beta-lactam resistance in gram-negative bacteria: new challenges for new drugs. *Clinical Infection Disease*, 14: 1089-1099.
- STÜRENBERG E, MACK D. (2003) Extended-spectrum beta-lactamases: implications for the clinical microbiology laboratory, therapy, and infection control. *Journal Infection* 47: 273-295.
- TENOVER FC. (2006) Mechanisms of antimicrobial resistance in bacteria. *American Journal of Medicine*; 119: 3-10.
- TC. RESMÎ GAZETE (2006) Yem Katkıları ve Premikslerin Üretimi, 21.01.2006, sayı:26056, Tebliğ No: 2006/1
- TÖRECİ K. (2008) Antibakteriyel Antibiyotiklerin Etki Mekanizmaları. In. Leblebicioğlu H, Usluer G, Ulusoy S, eds. Güncel Bilgiler Işığında Antibiyotikler. Ankara: Bilimsel Tıp Yayınevi 15-37
- WEESE JS. (2008) Antimicrobial resistance in companion animals, *Animal Health Research Reviews*, Cambridge University Press. Erişim: [www.journals.cambridge.org](http://www.journals.cambridge.org), erişim tarihi:21.03.2013, 9(2); 169-176
- WELDHAGEN GF, POÏREL L, NORDMANN P. (2003) Ambler class A extended spectrum beta-lactamases in *Pseudomonas aeruginosa*: novel developments and clinical impact. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*; 47: 2385-92.
- WELDHAGEN GF (2004) Integrons and beta-lactamases: a novel perspective on resistance. *International Journal Antimicrobial Agents*. 23 (6): 556-62.
- USDA (2005) U.S. Department of Agriculture Research Service Web site. Bacterial epidemiology and antimicrobial resistance. National Antimicrobial Resistance Monitoring System (NARMS) reports. Erişim: [www.ars.usda.gov/Main/docs.htm?docid=6750](http://www.ars.usda.gov/Main/docs.htm?docid=6750). Accessed Nov 14, Erişim tarihi:03.04.2013
- YAO JDC, MOELERING, JR. RCA. (2007) Antibacterial Agents. Murray PR, ed. *Manual of Clinical Microbiology*, 9th ed, ASM Press, 1077-113.

- YILDIRIM A. (1999) Extended spectrum beta-lactamase (ESBL) araştırma yöntemlerinin karşılaştırılması: *E.coli* ve *Klebsiella* spp. suşlarında sıklığının saptanması. Uzmanlık tezi. Gülhane Askeri Tıp Akademisi, İstanbul
- YORGANCIGİL B. (1999) Beta laktam antibiyotiklere karşı oluşan antibiyotik dirençleri. *Turgut Özal Tıp Merkezi Dergisi* 6(2)

## ÖZGEÇMİŞ

### **Bireysel Bilgiler**

**Adı:** Gamze

**Soyadı:** ÖRNEK

**Doğum yeri / tarihi:** Sivas/Gürün 1980

**Uyruğu:** T.C.

**Medeni Durumu:** Evli

**İletişim Adresi:** Gıda Tarım ve Hayvancılık Bakanlığı, Bala İlçe Müdürlüğü

### **Eğitim :**

Yüzüncü Yıl Üniversitesi 2003

### **Meslek Deneyimi:**

\*Beritan Veteriner Kliniği, Diyarbakır 2002

\*Kuki-Obuz Pet Klinik, Ankara 2003

\*Erpiliç Ser-Pa Gıda A.Ş, Sorumlu Yönetici, Ankara 2003

\*Türkiye Jokey Kulübü Şanlıurfa Pansiyon Hara, Şanlıurfa 2004

\*Türkiye Jokey Kulübü Ankara 75.yıl Hipodromu, Ankara 2005-2007

\*Gıda Tarım ve Hayvancılık Bakanlığı, Bala İlçe Müdürlüğü, Ankara 2011