

Hastanede Yatarak Tedavi Gören Hastalardan Soyutlanan Gram Negatif Bakterilerde Genişlemiş Spektrumlu ve İndüklenebilir Kromozomal Beta-laktamaz Sıklığı

Otku KANDEMİR(*), Gülden ERSÖZ(*), Elif ŞAHİN(*), Ali KAYA(*)

ÖZET

Mersin Üniversitesi Hastanesi'nde Mayıs 2000-Haziran 2001 tarihleri arasında izlenen hastaların çeşitli materyallerinden (kan, dren tüpü, kateter ucu, yara yeri, idrar, balgam vb) izole edilen 71 Gram negatif bakteride genişlemiş spektrumlu beta-laktamaz (extended spectrum beta-lactamase; ESBL) ve indüklenebilir kromozomal beta-laktamaz varlığı araştırıldı. Çalışmada ESBL'yi saptamak için çift disk sinerji testi, indüklenebilir beta-laktamazı saptamak için ise direkt indüksiyon testi kullanıldı. İzole edilen bakterilerin 30'u *Escherichia coli*, 13'ü *Pseudomonas spp*; 11'i *Klebsiella pneumoniae*, 7'si *Enterobacter spp*, 4'ü *Proteus spp*; 3'ü *K.oxytoca*, 1'i *Providencia spp*; 1'i *Serratia spp.* ve 1'i de *Morganella spp* idi. Bunların 7'sinde (%10) indüklenebilir beta-laktamaz, 11'inde (%15,4) ise genişlemiş spektrumlu beta-laktamazlar belirlendi. Rutin antibiyogram testi 11 ESBL pozitif bakterinin 7'sinde yanlış duyarlılık sonucu verdi. Direkt indüksiyon testi yapılarak kromozomal indüklenebilir beta-laktamaz pozitif olduğu belirlenen Gram negatif çomakların hepsi rutin antibiyogramda 3. kuşak sefalosporinlere ve aztreonama duyarlı bulundu.

Sonuç olarak ESBL ve kromozomal beta-laktamazların tanımlanabilmesi için özel testlerin yapılması gerektiğine inanmaktayız.

Anahtar Kelimeler: Nosokomiyal Gram negatif bakteri, genişlemiş spektrumlu beta-laktamaz, indüklenebilir beta-laktamaz, direkt indüksiyon testi, çift disk sinerji testi.

GİRİŞ

Gram negatif bakterilerin beta-laktamaz antibiyotiklere direnci başlıca beta-laktamaz enziminin üretimi ile olmaktadır. Enzimler antibiyotiği β -laktam halkasının amid bağı kırarak inaktive ederler. Bunlar kromozom, plazmid veya transpozon kaynaklı olabilirler (1,2). Gram negatif enterik bakterilerin

SUMMARY

Frequencies of Extended Spectrum and Inducible Chromosomal Betalactamases in Gram Negative Bacteria Isolated from Hospitalized Patients

The presence of extended spectrum beta-lactamase, (ESBL) and inducible chromosomal beta-lactamase is studied from the 78 Gram negative bacteria, that are cultured from different material (blood, draining catheter, catheter tip, wound, urine, sputum etc) contained from those patients followed in Mersin University Hospital between May 2000 and June 2001. Double disk synergy test is used to detect ESBL whereas direct induction test is used to detect the inducible beta-lactamase. 30 of the isolates were *Escherichia coli*, 13 were *Pseudomonas spp.*, 11 were *Klebsiella pneumoniae*, 7 were *Enterobacter spp.*, 4 were *Proteus spp.*, 3 were *Klebsiella oxytoca*, and 1 was *Providencia spp.*, 1 was *Serratia spp.*, and 1 was *Morganella spp.* Inducible beta-lactamase was present in 7 (%10) of the strains 11 (%15,4) strains were found to be ESBL positive. Routine antibiogram test revealed false results in 7 of 11 ESBL positive bacteria. All chromosomal inducible beta-lactamase positive Gram negative bacteria were sensitive to third generation cephalosporins and aztreonam in routine antibiogram. As a conclusion, we believe that special tests should be used to define ESBL and chromosomal beta lactamases.

Key Words: Nosocomial Gram negative bacteria, extended spectrum beta lactamase, inducible beta lactamase, direct induction test, double disk synergy test.

(*)Mersin Üniversitesi Tıp Fakültesi Klinik Mikrobiyoloji ve Enfeksiyon Hastalıkları Anabilim Dalı, Mersin

büyük çoğunluğunda plazmid kontrolünde olan geniş spektrumlu beta-laktamazlar bulunmaktadır. Bunlar arasında en yaygın olanı TEM 1 enzimidir. TEM2 ve SHV1 daha nadir gözlenmektedir. Geniş spektrumlu enzimler penisilinlere ve düşük oranda birinci kuşak sefalosporinlere direnç oluşturup yeni kuşak sefalosporinlere etki etmemelerine karşın ilk kez 1983 yılında Almanya'dan bildirilen ve daha sonra tüm dünyadan rapor edilen, özellikle *Klebsiella spp.* ve *Escherichia coli* olmak üzere tüm enterik Gram negatif çomaklarda bulunan bazı enzim mu-

tantlarının yeni kuşak sefalosporinler ve aztreonam gibi geniş spektrumlu beta laktamları da inaktive ettikleri gözlenmiştir. Bunlar genişlemiş spektrumlu beta-laktamazlar (ESBL) olarak adlandırılmıştır. Hibridizasyon deneyleri ile tanımlanan 50'den fazla ESBL'nin TEM-1, TEM-2 ve SHV-1 beta-laktamaz genlerinde 1-4 anahtar aminoasidin değişikliğe uğraması ile meydana gelen nokta mutasyonları sonucunda ortaya çıktığı belirtilmiştir (1). Bu enzimin Klebsiella türlerinde daha sık görülmesinin nedeni bazı araştırmacılar tarafından spontan mutasyonların bu bakterilerde daha sık olması ile açıklanmıştır (3). ESBL'lar geniş spektrumlu penisilinler, dar spektrumlu sefalosporinler yanında, geniş spektrumlu sefalosporinleri ve monobaktamları hidrolize etme yeteneğindedirler. Karbapenemler ve sefamisinler bu enzime dirençlidir. Genellikle 3. kuşak sefalosporinlere, aztreonama dirençli ve klavulanik aside duyarlı olmaları ile rutin antibiyogramda tanınabilmeleri açısından bu şekildeki sonuçlar uyarıcıdır. Ancak bununla beraber bazı ESBL (+) suşlar, yapılan rutin duyarlılık deneylerinde (disk difüzyon, mikrodilüsyon, hızlı otomatize testler) yanlışlıkla duyarlı olarak tanınabilir ve bu durum da tedavide başarısızlıklara yol açabilir (4-6). Günümüzde beta-laktamaz inhibitörlü kombinasyonlara dirence, bu mutantlardan daha çok TEM1 enziminin aşırı üretimi neden olmaktadır.

Gram negatif çomakların kromozomal tip enzimleri ise mikroorganizmanın türüne göre değişmek üzere indüklenebilir veya konstitütif olabilir. İndüklenebilir olan beta-laktamazlar kodlandıkları bölgenin adı olan ampC türü enzimler olarak adlandırılırlar.

Klinikte ciddi sorun yaratan *Enterobacter spp.*, *Citrobacter spp.*, *Serratia spp.*, *Pseudomonas spp.* gibi Gram negatif bakterilerin kromozomal beta-laktamazları indüklenebilir özelliktedir. Antibiyotik olmadığı zaman az miktarlarda, ancak beta-laktamaz antibiyotik varlığında geçici olarak yüksek miktarlarda sentezlenirler. İndüklenebilir beta-laktamazları olan bu bakteriler rutin antibiyogramda dayanıksız, zayıf indükleyici olan geniş spektrumlu sefalosporinler, üreidopenisilinler ve aztreonama duyarlı bulunurlar. Ancak bu zayıf indükleyicilerle tedavi sırasında normalde indüklenebilir popülasyonda 10^5 olasılıkla meydana gelebilen dereprese mutantlar seçilip aşırı miktarda üreyebilirler. Bu da tedavide ba-

şarısızlığa yol açar (7). Sözü edilen antibiyotikler bu enzimler tarafından hidrolize dayanıksız, ancak MIC değerinin altında zayıf indükleyici olduklarından indüklenebilen organizmalar bunlara duyarlıdır. Fakat stabil dereprese mutant suşlar dirençlidir. Karbapenemler güçlü indükleyiciler olup enzim hidrolizine dayanıklıdır ve hem indüklenebilir hem de stabil dereprese organizmalara etkilidirler (8).

İşte bu yalancı duyarlılık sorunları nedeniyle iki enzim grubuna sahip bakterilerde (ESBL ve indüklenebilir kromozomal beta-laktamaz) direnci tam olarak saptayabilmek amacıyla antibiyogramda özel testlerin yapılması ve yorumlamayı sağlayacak şekilde disk diziliminin uygulanması gereklidir (8,9).

Çalışmamızın amacı hastanemizde Gram negatif bakterilerde ESBL ve kromozomal beta-laktamaz oranlarını saptamak ve rutin antibiyogram sonuçlarıyla özel disk dizilimi arasında fark olup olmadığını araştırmaktır.

GEREÇ VE YÖNTEM

Mayıs 2000 - Haziran 2001 tarihleri arasında hastanemizde yatarak tedavi gören hastaların çeşitli örneklerinden izole edilen 71 Gram negatif bakteri incelemeye alındı. Bakterilerin identifikasyonu API 20E (bio Merieux France) ile yapıldı. Antibiyotik duyarlılık testi olarak disk difüzyon testi National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS), M2-A5 önerilerine uygun şekilde Mueller-Hinton agar kullanılarak yapıldı. Her mikroorganizma için 3 petri kutusu kullanıldı. Birinci petriye standart antibiyotik duyarlılık testi için kullanılan diskler, ikinciye ESBL için ve üçüncü petri kutusuna kromozomal indüklenebilir beta-laktamazları saptamayı amaçlayan şekilde özel dizilmiş diskler yerleştirildi. Antibiyotik duyarlılık testinde amoksisilin (AML: 25 µg), amoksisilin/klavulanik asid (AC: 20/10µg), piperasilin (PRL: 100 µg), sefoksitin (FOX: 30 µg), sefotaksim (CTX: 30 µg), seftriakson (CRO: 30: µg), seftazidim (CAZ: 30 µg), aztreonam (ATM: 30 µg), gentamisin (CN: 10 µg), amikasin (AK: 30 µg), siprofloksasin (CIP: 5 µg), imipenem (IMP: 10 µg) diskleri kullanıldı. Standart suş olarak *Escherichia coli* ATCC 25922, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27583 kullanıldı.

ESBL'yi saptamak için çift disk sinerji yönteminden

faydalanıldı. Bunun için petri kutuları içine 4 mm kalınlığında dökülmüş Mueller- Hinton agar (Oxoid) yüzeyine 0,5 Mc Farland bulanıklığında bakteri süspansiyonu inoküle edildi. Plakların merkezine amoksisilin-kulavulanik asid diski ve çevreye ise merkezden merkeze uzaklığı 25 mm olacak şekilde amoksisilin, aztreonam, sefotaksim, seftazidim, seftriakson diskleri yerleştirildi. 37°C’de bir gece inkübasyondan sonra sonuçlar değerlendirildi. Amoksisilin-kulavulanik asid diskiye doğru sefotaksim, seftazidim, seftriakson veya aztreonam inhibisyon zon çapının genişlemesi, ESBL varlığını gösterdi.

Kromozomal indüklenebilir beta-laktamazları saptamak için direkt indüksiyon testi yapıldı. Bunun için ise ortaya güçlü beta-laktamaz indükleyicisi olarak FOX ve bundan 25 mm uzaklığa ise CAZ, CTX, CRO, ATM, IMP diskleri yerleştirilip bir gece 37°C’de bekletildikten sonra aztreonam ve geniş spektrumlu sefalosporinlerin, sefoksitin veya imipenem gibi güçlü indükleyicilere bakan yüzlerinde inhibisyon zonları belirgin olarak daralmışsa indüklenebilir kromozomal beta- laktamaz poziti olarak değerlendirildi.

BULGULAR

Hastanemizde bir yıl içinde yatırılarak izlenmiş olan hastalardan elde edilen çeşitli materyallerden toplam 71 Gram negatif bakteri izole edilmiştir. Bu suşların 7’sinde (%10) indüklenebilir beta-laktamaz, 11’inde (%15,4) ESBL saptanmıştır. Etkenlere göre ESBL ve kromozomal beta-laktamaz dağılımı tabloda verilmiştir.

İndüklenebilir kromozomal beta-laktamazların 4’ü *Pseudomonas spp.*, 2’si *Enterobacter spp.*, 1’i *Serratia spp.* idi. Sadece çift disk sinerji testi ile değerlendirilen ESBL’nin saptandığı 11 bakteriden 5’i *E.coli* idi.

Çift disk sinerji testi göz ardı edildiğinde, standart antibiyotik duyarlılık testinin ESBL saptanan 11 suştan 7’sinde yanlış duyarlılık verdiği saptandı.

Direkt indüksiyon testi ile saptanan indüklenebilir beta-laktamaza sahip mikroorganizmaların tümü rutin antibiyogramda 3. kuşak sefalosporinlere ve aztreonama duyarlı bulundu.

TARTIŞMA

Bakterilerde antibiyotik direncinin başlıca mekanizması olan beta-laktamaz üretimi endişe verici bir hızla yayılmaktadır. Bu duruma yol açan başlıca faktörün, yeni beta-laktamaz antibiyotik gruplarının klinik kullanımına bir yanıt olabileceği ileri sürülmek-

Tablo1. İncelenen Gram negatif bakterilerde belirlenebilen indüklenebilir beta-laktamaz ve ESBL’ların dağılımı.

	İndüklenebilir beta-laktamaz	ESBL
<i>Escherichia coli</i> (n:30)	-	5(%16.6)
<i>Klebsiella spp.</i> (n:14)*	-	2(%14)
<i>Pseudomonas spp.</i> (n.13)	4(%30.7)	-
<i>Enterobacter spp.</i> (n.7)	2	1
<i>Proteus spp.</i> (n.4)	-	1
<i>Morganella spp.</i> (n.1)	-	1
<i>Serratia spp.</i> (n.1)	1	-
<i>Providencia spp.</i> (n.1)	-	1
Toplam (n.71)	7(%10)İ	11(%15.4)

* :*K.pneumoniae*, 3’ü *K-oxytoca*.

tedir (10). Aynı zamanda plazmidler yoluyla bakteriden bakteriye direnç aktarımı da beta- laktamazların yayılmasında önemli rol oynayarak bakterinin bu yanıtına katkıda bulunmaktadır. Beta- laktamaz üretimi başta *Enterobacteriaceae* olmak üzere birçok hastane infeksiyonu etkeninin beta laktam antibiyotiklere direncinde başlıca yoldur (8,11).

Bazen sözü edilen beta-laktamaz direnci rutin antibiyotik duraylılık testlerinde saptanamayabilir ve yanlış duyarlılık sonucu klinisyenlere bildirilebilir. Kromozomal indüklenebilir beta-laktamaz ve ESBL bu tür yanlış yorumlara neden olabilen beta-laktamazlardır. Sonuç olarak bu durum infeksiyonunun tedavisinde başarısızlıklara yol açar. Örneğin indüklenebilir beta-laktamaz salgılayan suşlarla gelişen infeksiyonların geniş spektrumlu sefalosporinlerle tedavisi ile bu bakteri popülasyonunda 10^{-5} sıklıkta ortaya çıkabilen dereprese mutantlar hızla çoğalmaya başlarlar (8,1,7). Böylece hastanede mutant suşların seçilmesi sonucu dirençli suşlar hakim olabilir (12). Bu mutant suşlarla oluşan infeksiyonlarda mortalite oldukça yüksektir (1).

ESBL ve indüklenebilir beta-laktamaz sıklığı antibiyotik kullanım alışkanlığına bağlı olarak ülkeden ülkeye hatta aynı ülkenin farklı hastanelerinde bile değişmektedir (1). ESBL özellikle *Klebsiella spp.* ve *E coli* kökenlerinde bulunmuştur. *Klebsiella spp.* için

ESBL oranı Avrupa'da %20-25 olarak saptanmış olup (8) ülkemizde ise ESKİTÜRK ve arkadaşları %52, Abacıoğlu ve arkadaşları %63 (13), Kuzucu ve arkadaşları %61,8 (14) Gülay ve arkadaşları %88,6 (15), Tünger ve arkadaşları %49,3 (16) olarak bildirmişlerdir. Bizim çalışmamızda ise 14 *Klebsiella* suşunun 2'sinde (%14) ESBL saptanmıştır. E coli için ise Kuzucu ve arkadaşları ESBL sıklığını %8, Hoşgör ve arkadaşları %18 (17), Tünger ve arkadaşları %21,5 (16) verirken, biz bu oranı %16,6 (5/30) olarak saptadık. Koromozomal beta-laktamazlar *Enterobacter spp.*, *Citrobacter spp.*, *Morganella morgani*, *Providencia spp.*, *Serratia spp.*, *Pseudomonas spp.* türlerinde indüklenebilir özelliğe sahiptir (8). Çalışmamızda 13 *Pseudomonas spp.*'nin 4'ünde (%30,7) kromozomal beta-laktamaz belirlenebilmiştir.

7 *Enterobacter spp.*'nin 2'sinde (%28,5) indüklenebilir beta-laktamaz belirlenebilmiştir. Kuzucu ve arkadaşları ise (14) inceledikleri *Pseudomonas* suşlarının %94,1'inde indüklenebilir, beta-laktamazları gösterebilmişlerdir. Akata ve arkadaşları (18) bu oranları indüklenebilir beta-laktamaz belirleme oranlarını *Pseudomonas spp.*'de %41,2 ve *Enterobacter spp.*'de %22 olarak saptamışlardır (18). Sonuçlarımız bu açıdan Akata ve arkadaşlarınıninkilerle uyumlu bulunmuştur.

Bazı araştırmacılar çok düşük düzeyde olsa bile ESBL'lerin çift disk sinerji yöntemi ile belirlenebileceğini bildirmişlerdir. Ancak bu yöntemin duyarlılığını azaltan bazı faktörler vardır. Bunlar diskler arasındaki uzaklık, bazı suşlarda yüksek düzeyde sefalosporinaz oluşması nedeniyle sinerjistik etkinin görülmesinin engellenmesi ve klavulanik asitte meydana gelebilecek potans kaybıdır (19,20). Birçok araştırmacı 30mm disk mesafesinde sonuç alamayınca disk mesafesini 20 mm'ye indirmişler ve önceki negatif sonuçların büyük oranda ESBL yönünden pozitifleştiğini saptamışlardır (14, 18, 21). Akata ve arkadaşları (18) Hoşgör ve arkadaşları (17) ise çalışmalarının, disk mesafesi 25 mm olduğunda en iyi sonuç verdiğini belirtmişlerdir. Yaptığımız denemeler sonucunda 25 mm'lik disk mesafesinin en iyi sonucu verdiği belirlendiğinden, testte kullanılan diskler bu mesafede yerleştirilmiştir.

Çalışmamızda çift disk sinerji testi ile ESBL saptanan 10 bakterinin 6'sı rutin antibiyotiklere duyarlılık deneylerinde geniş spektrumlu sefalosporinlere du-

yarlı bulunmuş, direkt indüksiyon testinde indüklenebilir beta-laktamaz saptanan bakterilerin tümü rutin duyarlılık deneylerinde 3. kuşak sefalosporinlere ve aztreonama duyarlı bulunmuştur. Bu sayılar çift disk sinerji ve direkt indüksiyon testinin yapmasının gerekliliği yönünden dikkat çekicidir.

Sonuç olarak karşılaşılan yalancı duyarlılık sorunları nedeniyle bu tip beta-laktamazların saptanması için rutin antibiyotiklere duyarlılık deneylerinde özel düzenlemelerin yapılması ve yorumlamayı sağlayacak şekilde disk diziliminin uygulanması gerekmektedir. Bununla beraber duyarlılık testlerinin okunması yorumlanarak yapılmalı ve direnç saptandığı takdirde klinisyen uyarılmalıdır (22,23). İndüklenebilir beta-laktamaz ve ESBL'lara bağlı direnç izlenmesi ve yaygınlığının bilinmesi ülkemizde antibiyotik kullanım politikası için yol gösterici olabilir.

KAYNAKLAR

1. Quinn JP: Clinical significance of extended-spectrum beta-lactamases, Eur J Clin Microbiol Infect Dis 13 (Suppl 1): 39 (1994).
2. Jacoby GA, Medeiros AA: More extended-spectrum beta-lactamases, Antimicrob Agents Chemother 35: 1697 (1991).
3. Katsanis G, Jacoby G: The frequency of extended-spectrum beta-lactamases in isolates of *Klebsiella pneumoniae*, J Antimicrob Chemother 29: 345 (1992).
4. Büyükbaba Ö, Aydın D, Anđ Ö: İdrar yolu infeksiyonu etkeni gram negatif çomaklarda genişlemiş spektrumlu beta-laktamazların çift disk sinerji yöntemi ile belirlenmesi, Klimik Derg 9: 27 (1996).
5. Philippon A, Laiba R, Jacoby G: Extended-spectrum beta-lactamases, Antimicrob Agents Chemother 33: 1131 (1989).
6. Washington JA, Knapp CC, Sanders CC: Accuracy of microdilution and the automicrobic system in detection of beta-lactam resistance in Gram-negative bacterial mutants with derepressed beta-lactamase, Rev Infect Dis 10: 867 (1988).
7. Sanders CC, Thomson KS, Brandford BA: Problems with detection of beta-lactam resistance among non fastidious gram-negative bacilli, Infect Dis Clin North Am 7: 411 (1993).
8. Livermore DM: Beta-lactamases in laboratory and clinical resistance, Clin Microbiol Rev 8: 557 (1995).
9. Philippon A, Arlet G, Lagrange PH: Origin and impact of plasmid-mediated extended-spectrum beta-lactamases, Eur J Clin Microbiol Infect Dis 13 (Suppl 1): 17 (1994).
10. Medeiros AA: Evaluation and dissemination of beta-lactamases accelerated by generations of beta-lactam antibiotics, Clin Infect Dis 24 (suppl 1): 19 (1997).
11. Yuluğ N: Beta-laktamazlar ve klinik açıdan önemi, Antikem Derg 11: 205 (1997).

- 12. Sanders CC, Sanders WE:** Beta-lactam resistance in gram-negative bacteria: global trends and clinical impact, *Clin Infect Dis* 15: 824 (1992).
- 13. Abacıoğlu YH, Yücesoy M, Gülay Z, Yuluğ N:** "Extended spectrum beta-lactamases" saptanmasında E test ile çift disk sinerji yöntemlerinin karşılaştırılması, *İnfeksiyon Derg.* 9:93 (1995).
- 14. Kuzucu Ç, Kabakçioğlu M, Özışık A, Osmanoğlu Ezen F, Acar NS:** Nozokomiyal gram negatif bakterilerde genişlemiş spektrumlu ve kromozomal beta-laktamaz varlığının saptanması, *Flora Derg* 4: 102 (1999).
- 15. Gülay Z, Amyes SGB, Yuluğ N:** Hastane infeksiyonlarından soyutlanan *Klebsiella pneumoniae* suşlarının beta-laktam antibiyotiklere duyarlılığının ve beta-laktamaz tiplerinin incelenmesi, *Mikrobiyoloji Bül* 330: 1 (1996).
- 16. Tünger A, Hilmiöğlu S, Dibek MA, Çavuşoğlu C, Aktaş L, Özkan F, Özinel MA:** Hastane infeksiyonu etkeni olarak soyutlanan *Klebsiella pneumoniae* ve *Escherichia coli* kökenlerinde genişlemiş spektrumlu beta-laktamaz sıklığı, *İnfeksiyon Derg* 12: 165 (1998).
- 17. Hoşgör M, Özkan F, Yapar N, Tünger A, Özinel MA:** Genişlemiş spektrumlu beta-laktamazların belirlenmesinde çift diskli sinerji testi ile üç boyutlu yöntemin karşılaştırılması, *Klimik Derg* 11(2): 59 (1998).
- 18. Akata F, Otkun M, Teker B, Karabay O, Öğütlü A, Tuğrul M, Dünder V:** Nozokomiyal gram-negatif bakterilerde genişlemiş spektrumlu ve kromozomal beta-laktamaz sıklığı, *İnfeksiyon Derg* 11: 255 (1997).
- 19. Sirot DL, Golsteil FW, Soussy CJ:** Resistance to cefotaxime and seven other seven β -lactams in members of the family Enterobacteriaceae: a 3-year survey in France, *Antimicrob Agents Chemother* 36: 1677 (1y992).
- 20. Moland ES, Thomson KS:** Extended-spectrum β -lactamases of Enterobacteriaceae, *J Antimicrob Chemother* 33: 666 (1994).
- 21. Gülay Z, Abacıoğlu HY, Yuluğ N:** Çift disk sinerji yönteminde diskler arası uzaklığın sonuca etkisi, 9: 255 (1997).
- 22. Akata F:** Gram-negatif bakterilerde beta-laktamaz tipleri ve antibiyogramdan beta-laktamaz tipini tahmin etmede kullanılabilecek yöntemler, *İnfeksiyon Derg* 11:303 (1997).
- 23. Vahaboğlu MH:** Antibiyotik direnç mekanizmaları, *Klimik Derg* 6:6 (1993).