

KAN KÜLTÜRLERİNDEN SOYUTLANAN GRAM-NEGATİF BAKTERİLERİN ÇEŞİTLİ ANTİBİYOTİKLERE DİRENCİ VE GENİŞLEMİŞ SPEKTRUMLU BETA-LAKTAMAZ ORANLAR I

RESISTANCE TO VARIOUS ANTIBIOTICS AND PRODUCTION OF EXTENDED SPECTRUM BETA-LACTAMASE IN BLOOD ISOLATES OF GRAM-NEGATIVE BACTERIA

Gülhan VARDAR-ÜNLÜ¹ Mehmet ÜNLÜ¹ Mustafa Zahir BAKİCİ¹ Deniz GÜRF²

¹ Cumhuriyet Üniversitesi Tıp Fakültesi, Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Sivas

² Hacettepe Üniversitesi İhsan Doğramacı Çocuk Hastanesi, Klinik Mikrobiyoloji Laboratuvarı, Ankara

Anahtar Sözcükler: Gram-negatif bakteriler, kan kültürü, *in vitro* antibiyotik direnci, genişletilmiş spektrumlu beta-laktamaz (ESBL), çift disk sinerji yöntemi, disk difüzyon yöntemi, BIOMIC sistemi

Key Words: Gram-negative bacteria, blood culture, *in vitro* antibiotic resistance, extended-spectrum beta-lactamase (ESBL), double disk synergy methods, disk diffusion method, BIOMIC system

ÖZET

Bu çalışmanın amacı, kandan izole edilen çeşitli Gram-negatif bakterilerin antibiyotiklere direncini saptamak idi. Cumhuriyet Üniversitesi Sağlık Hizmetleri Uygulama ve Araştırma Hastanesinde yatan hastaların kan örneklerinden soyutlanan 96 Gram-negatif bakterinin amoksisilin–klavulanik asit, sefalotin, sefuroksim, sefoperazon, seftriakson, seftazidim, sefepim, imipenem, amikasin, netilmisin, gentamisin ve siprofloksasine karşı direnç durumları disk difüzyon ve BIOMIC sistemi kullanılarak belirlenmiştir. Ayrıca, *Klebsiella* ve *E. coli* kökenlerinde genişletilmiş spektrumlu beta-laktamaz (ESBL) üretimi çift disk sinerji yöntemi ile araştırılmıştır. Çalışmada soyutlanan bakteri kökenlerinin hiç birinde imipenem direnci saptanmazken, en yaygın direncin sefalotine karşı geliştiği gözlenmiştir. *Klebsiella* kökenlerinde %64.7, *E. coli* kökenlerinde ise %76.2 gibi oldukça yüksek oranda ESBL varlığı gösterilmiştir. Bu sonuçlar, Gram-negatif bakterilerin etken olmasından kuşkulanan bakteremilerin empirik sağaltımında dikkate alınmalıdır.

SUMMARY

The purpose of this study was to determine the antibiotic resistance of Gram-negative bacteria isolated from blood cultures. Resistance to various antibiotics in 96 Gram-negative bacteria isolated from blood specimens was determined by disk diffusion and BIOMIC system. In addition, extended spectrum beta-lactamase (ESBL) production was investigated in *Klebsiella* spp. and *E. coli* strains by double disk synergy method. Resistance to imipenem was not detected while highest resistance was observed against cephalothin. Production rates of ESBL in *Klebsiella* spp. and *E. coli* strains were found as 64.7 % and 76.2 %, respectively. These results should be taken into account for initiating empirical therapy of bacteremia when Gram-negative bacteria are suspected.

GİRİŞ

Antimikrobik ilaçlara karşı mikro-organizmaları duyarlılığının saptanması, klinik mikrobiyoloji tanı laboratuvarının en önemli işlevlerinden biridir (1). Antimikrobik

ilaçlara karşı mikro-organizmaların direncini saptamak için birçok farklı yöntem uygulanmaktadır. Bu amaçla, günümüzde disk difüzyon (Kirby-Bauer), sıvı dilüsyon, agar dilüsyon ve E-test duyarlılık yöntemleri kullanılmaktadır.

Dilüsyon yöntemlerinin zaman alıcı, E-testin ise pahalı olması nedeni ile rutin duyarlılık testlerinde çoğunlukla disk difüzyon testi tercih edilmektedir.

Disk difüzyon yöntemleri, çok sayıda mikro-organizmanın test edilmesinde doğruluk, tekrarlanabilirlik, maliyet, esneklik ve farklı antimikrobik ilaçları seçmede kolaylık sağlaması bakımından otomatize sıvı dilüsyon sistemlerinden daha avantajlı bulunmaktadır. BIOMIC (Giles Scientific, New York, N.Y.), otomasyon ile disk difüzyon yönteminin avantajlarını birleştiren ve kantitatif sonuç veren bir sistemdir. Bu yöntem *Candida* spp., Gram-negatif ve pozitif bakterilerde MİK değerlerinin saptanmasında başarı ile kullanılmıştır (2-6).

Gram-negatif bakteremi % 20-50 arasında değişen tahmini mortalite oranı ile ciddi bir enfeksiyondur (7). Bu enfeksiyonlarda uygun ampirik tedaviye başlanabilmesi için, etken mikro-organizmaların sıklığının ve antimikrobik ilaçlara duyarlılık oranlarının her hastanede bilinmesi gerekmektedir.

Çalışmada; çeşitli kliniklerde yatan hastalardan gönderilen kan örneklerinden soyutlanan Gram-negatif bakterilerde, çeşitli antibiyotiklerin *in vitro* etkilerinin disk difüzyon yöntemi ve BIOMIC sistemi ile saptanması amaçlanmıştır. Ayrıca, son yıllarda geniş spektrumlu beta-laktam antibiyotikler ile tedavide başarısızlığa neden olan ve rutin antibiyotik duyarlılık testlerinde gözden kaçabilen veya varlığı belirlenemeyen genişletilmiş spektrumlu beta-laktamazların (ESBL) varlığı araştırılmıştır.

GEREÇ VE YÖNTEM

Bakteriler: 1999-2000 yıllarında Cumhuriyet Üniversitesi Sağlık Hizmetleri Uygulama ve Araştırma Hastanesi

kliniklerinde yatan hastalardan gönderilen 96 kan örneğinden, BACTEC 9240 (Becton-Dickinson, ABD) otomatik kan kültürü sistemi kullanılarak soyutlanan 52 *Klebsiella* spp., 21 *E. coli*, 10 *P. aeruginosa*, beş *Acinetobacter* spp., dört *Proteus* spp. ve dört *Enterobacter* spp. kökeni SCEPTOR sistemi (Becton-Dickinson, ABD) ile tanımlanmıştır. Aynı hastadan soyutlanan ikinci bir bakteri kökeni çalışmaya alınmamıştır. Kontrol kökeni olarak *E. coli* ATCC 25922 ve *P. aeruginosa* ATCC 27853 kullanılmıştır.

Antibiyotik duyarlılık testleri: Disk difüzyon yöntemi, değerlendirme aşaması dışında NCCLS önerileri (8) doğrultusunda uygulanarak, zon çapları 18 saat inkübasyondan sonra BIOMIC sistemi ile değerlendirilmiş ve 12 antibiyotik için yaklaşık MİK değerleri elde edilmiştir (2). Kullanılan antimikrobik maddeler; amoksisilin-klavulanik asit, sefalotin, sefuroksim, sefoperazon, seftriakson, seftazidim, sefepim, imipenem, amikasin, netilmisin, gentamisin ve siprofloksasin'dir.

Genişletilmiş spektrumlu beta-laktamazların saptanması: *E. coli* ve *K. pneumoniae* kökenlerinin ESBL üretimi çift disk sinerji (ÇDS) yöntemi ile incelenmiştir (9). Çift disk sinerji yönteminde, ortaya amoksisilin-klavulanik asit diski (AMC, 20/10 µg), çevreye ise merkezden merkeze uzaklığı 30 mm olacak şekilde seftazidim (CAZ, 30 µg), sefotaksim (CTX, 30 µg) ve aztreonam (ATM, 30 µg) diskleri yerleştirildi; 35° C'de bir gecelik inkübasyon sonrası, bu disklerin çevresindeki inhibisyon alanlarının amoksisilin-klavulanik asit diskine doğru genişlemesi ESBL pozitifliği olarak değerlendirildi.

BIOMIC sistemi: Disk difüzyon duyarlılık sonuçlarını okumak, değerlendirmek ve bildirmek için kullanılan yarı

Tablo 1. Çeşitli antimikrobik ilaçların izole edilen mikro-organizmalara karşı MİK₅₀, MİK₉₀ değerleri ve direnç oranları (%)

Antibiyotikler	<i>Klebsiella</i> türü (n: 52)			<i>E. coli</i> (n: 21)			<i>P. aeruginosa</i> (n: 10)		
	MİK ₅₀	MİK ₉₀	%	MİK ₅₀	MİK ₉₀	%	MİK ₅₀	MİK ₉₀	%
Amoksisilin- klavulanik asit	8	32	13.5	4	8	9.5	>64	>64	90
Sefalotin	>64	>64	75	32	>64	61.9	>64	>64	100
Sefuroksim	16	64	17.3	4	>64	9.5	>64	>64	80
Sefoperazon	32	>256	40.4	8	128	14.3	64	>256	40
Seftriakson	8	>64	15.4	<2	>64	9.5	16	>64	30
Seftazidim	8	>64	19.2	<1	4	4.8	8	>64	50
Sefepim	4	16	9.6	<1	32	9.5	16	>64	30
İmipenem	<1	<1	0	<1	<1	0	<1	<1	0
Amikasin	<2	8	3.8	2	8	0	4	>64	20
Netilmisin	4	32	17.3	<1	8	0	4	>64	30
Gentamisin	>16	>16	71.2	>16	>16	38.1	>16	>16	40
Siprofloksasin	<0.25	>8	9.6	<0.25	<0.25	4.8	<0.25	0.50	0

otomatize bir veri yönetim sistemidir. BIOMIC sisteminin bir parçası olan video-yardımlı plak okuyucu, görüntü yakalama kartı, video kameralı bir kabin ve yazılım programından oluşmaktadır. BIOMIC video sistemi disk difüzyon agar plaklarını otomatik olarak okuyup yorumlamaktadır. İzlenen işlem, üretici firmanın kullanım kılavuzunda belirtildiği gibi uygulanmıştır. Disk difüzyon agar plağı video okuyucusunun çekmeçesine yerleştirilmiş ve video ekranında beş saniye içerisinde zon çapları hesaplanmış olarak görüntü oluşmuştur. Zon çapları milimetre olarak dijital görüntü analizi ile kolayca ve hızla belirlenmiştir (2). Bu değerlendirmede, BIOMIC video okuyucu sistem tarafından hesaplanan zon çaplarının doğruluğu NCCLS standart yöntemi ile kıyaslanmıştır.

BULGULAR

Çalışmada; 96 kan örneğinden 52 *Klebsiella* spp., 21 *E. coli* ve 10 *P. aeruginosa*, beş *Acinetobacter* spp., dört *Proteus* spp. ve dört *Enterobacter* spp. kökeni soyutlanmış, antibiyotiklere direnç yüzdeleri ve $MİK_{50}$, $MİK_{90}$ değerleri Tablo 1'de gösterilmiştir. Çalışmada incelemeye alınan bakterilerde imipenem direnci saptanmamıştır. *Pseudomonas aeruginosa* kökenleri için diğer etkili antibiyotik ise siprofloksasindir. Genişlemiş spektrumlu beta-laktamaz pozitifliği *Klebsiella* kökenlerinde % 64.7, *E. coli* kökenlerinde ise % 76.2 olarak bulunmuştur.

TARTIŞMA

Gram-negatif bakterilerde uygun ampirik sağaltıma başlanabilmesi için etken mikro-organizmaların bölgesel antimikrobik ilaç duyarlılıklarının belirlenmesi önem taşımaktadır. Disk difüzyon yöntemi, rutin mikrobiyoloji tanı laboratuvarında uygulanması oldukça basit, ucuz olup, antimikrobik ilaç seçiminde büyük esneklik sağlamak ve birçok mikro-organizma için kullanılabilir. Yarı otomatik antimikrobik duyarlılık testleri için geliştirilmiş olan BIOMIC sistemi ise, disk difüzyon yöntemi ile otomatik okuma ve veri yorumlamasını kapsamaktadır. Bu sistemle, agar plağındaki her bir antibiyotiğe ait zon çapına bağlı olarak $MİK$ değeri de saptanabilmektedir.

Kan kültürlerinden soyutlanan 96 Gram-negatif bakterinin BIOMIC yöntemi ile antibiyotiklere karşı direnç durumunun yanısıra, antibiyotiklerin bakterilere karşı $MİK$ değerleri de saptanmıştır.

Bakterilerde kandan en sık soyutlanan Gram-negatif mikro-organizmalar, *Enterobacteriaceae* üyeleri ve *Pseudomonas* türleridir. Birçok çalışmada, kan kültüründen soyutlanan *Enterobacteriaceae* üyeleri arasında en sık soyutlanan kökenin *E. coli* olduğu bildirilmiştir (10-15). Bu çalışmada ise, en sık soyutlanan *Klebsiella* (% 54), ikinci sıklıkla elde edilen *E. coli* (% 22) olmuştur. Bu

oranlar, Durmaz ve ark. (16)'nın yaptıkları çalışma sonuçları ile benzerlik göstermektedir.

Çalışmada, birinci kuşak bir sefalosporin olan sefalotin karşı, incelenen Gram-negatif bakterilerin tümünde yüksek oranlarda direnç gözlenmiştir. Beta-laktamaz oluşturan bakterilere karşı daha etkili ve stabil olan ikinci kuşak sefalosporinlerden sefuroksimin, sefalotin ile karşılaştırıldığında daha etkili olduğu bulunmuştur. Gram-negatif bakterilerde geniş etki spektrumunu olan üçüncü kuşak sefalosporinlerden incelemeye alınan sefoperazonun, seftriakson ve seftazidime kıyasla daha az etkili olduğu bulunmuştur. Bu grup sefalosporinlerde *in vitro* yanıt ile klinik yanıt arasında korelasyon olmamasının nedeninin, tedavi sırasında kökenlerde indüklenebilen beta-laktamaz yapımı olduğu düşünülmektedir. Sefepim, *Enterobacteriaceae* ve *P. aeruginosa* üzerinde etkili olduğu bildirilen dördüncü kuşak bir sefalosporindir. Beta-laktamaz enzimleriyle hidrolize dayanıklı ve antipseudomonal bir antibiyotik olmasına karşın çalışmada, *P. aeruginosa* kökenlerinde %30 oranında direnç saptanmıştır. Bu sonuç, diğer çalışmalarda *Pseudomonas* spp. kökenlerinde elde edilen %36 direnç oranına yakın bulunmuştur (17, 18). Siprofloksasin beta-laktam antibiyotiklere dirençli Gram-negatif bakterilerde çok değerli bir alternatif ilaç olduğu bildirilmiş olmasına karşın tedavi sırasında özellikle *Pseudomonas* spp.'de direnç gelişebileceği üzerinde durulmaktadır. Çalışmada, siprofloksasine karşı *P. aeruginosa* kökenlerinde direnç saptanmamış, diğer bakterilerdeki etkinliği ise oldukça yüksek bulunmuştur. Türkiye'de yapılan çalışmalarda, hastane enfeksiyonu etkeni *P. aeruginosa* kökenlerinde % 16 ve % 36 oranında siprofloksasin direnci bildirmişlerdir (19, 20). Bu çalışmada *Pseudomonas* spp. de siprofloksasin direnci görülmemesinin nedeninin, incelenen köken sayısının az olmasına bağlı olabileceği düşünülmektedir. Amoksisilin-klavulanik asit, geniş spektrumlu bir penisilin ile beta-laktamaz inhibitörünün kombine edildiği bir antibiyotik olup, direnç oranı en az *E. coli* (%9.5) ve *Klebsiella* spp. (%13.5) kökenlerinde gözlenmiştir.

Aminoglikozit grubu antibiyotikler arasında en etkili amikasin olmasına karşın, beş *Acinetobacter* spp. kökeninin üçünde direnç gözlenmiştir. Aminoglikozit antibiyotiklere direnç, aminoglikozitleri modifiye eden enzimlere bağlıdır. Bu enzimlerin sıklığı, coğrafi farklılıklar göstermekte, kullanılan aminoglikozitlere bağlı olarak her hastanede farklı direnç fenotipleri gözlenmektedir (21). Çalışmada en fazla direnç, *Klebsiella* spp., *E. coli* ve *P. aeruginosa* kökenlerinde gentamisine karşı gözlenmiştir. Bu da, Türkiye'de yapılan bir çalışmada (21) en sık gözlenen AAC (3)-II ve ANT(2'')-I enzimlerini içeren suşların çalışmanın yapıldığı hastanede daha yaygın olduğunu düşündürmektedir.

İmipenem, kan kültür kökenleri üzerine en etkili beta-laktam antibiyotik olarak saptanmıştır. Antibiyotik kullanım süresinin, direncin ortaya çıkışında önemli olduğu bilinmektedir. İmipenem, dirençli kökenlerin ortaya çık-maması için seyri çok ciddi olan olgularda kullanılması gereken bir ilaçtır.

Genişletilmiş spektrumlu beta-laktamazlar, ilk olarak 1983 yılında Almanya'da gösterilmiş ve günümüze kadar 30'un üzerinde ESBL tanımlanmıştır (22). Çoğunlukla *K. pneumoniae* kökenlerinde saptanan ESBL üretimi, diğer Gram-negatif bakterilerde de gözlenmektedir (23). Geniş spektrumlu beta-laktamaz üreten *Klebsiella* ve *E. coli* kökenleri, penisilinler ve sefalosporinlere *in vitro* olarak duyarlı görünmelerine karşın, klinik olarak bu ilaçlarla tedaviye dirençli olabilirler. Hastane infeksiyonuna yol açan kökenlerde ESBL üretiminin yaygın olduğu bilinmektedir. Avrupa ülkelerini kapsayan çok merkezli bir araştırmada (22); yoğun bakım ünitelerinden soyutlanan *Klebsiella* kökenlerinde ESBL araştırılmış, Türkiye'den elde edilen kökenlerde % 59 oranında ESBL pozitifliği saptanmıştır. Bu çalışmada da *Klebsiella* kökenlerinde % 64.7, *E. coli* kökenlerinde ise % 76.2 oranında ESBL varlığı gösterilmiştir. Geniş spektrumlu beta-laktamaz varlığının, ülkeler arasında, hatta aynı ülkede hastaneden hastaneye farklılıklar gösterdiği bilinmektedir. Geniş spektrumlu beta-laktamaz genleri taşıyan plazmitler, çoğunlukla aminoglikozit ve diğer antibiyotiklere karşı direnç genlerini birlikte taşımaktadır. Geniş spektrumlu beta-laktamaz üreten kökenler çoklu direnç gösteren kökenler olup, tedavide de güçlükler yaratmaktadır.

Bazı ESBL'ler MİK değerlerinde fazla yükselmeye yol açmadığı için rutin laboratuvarlarda gözden kaçabilmektedir. Bu suşlarla gelişen infeksiyonların tedavisinde sorunlar yaşanabileceğinden, ESBL beta-laktamaz sentezleyen suşların rutin laboratuvarlarda araştırılması ve klinisyene bildirilmesi gerekmektedir. Geniş spektrumlu beta-laktamaz üreten suşların tanımlanmasında, (i) antibiyotik duyarlılık testlerinde daha yüksek bakteri yoğunluğunun kullanılması, (ii) daha düşük direnç sınırlarının

uygulanması ve (iii) beta-laktam antibiyotikler ile beta-laktamaz inhibitörlerinin sinerjik etkilerinin araştırılması gerekir (23). Çalışmada gözlenen ESBL oranları ile *in vitro* direnç oranları arasındaki farkın öncelikle bu nedenden ötürü olduğu düşünülmektedir. Bunun yanısıra, ESBL'leri belirlemek için kullanılan çift disk difüzyon testinin duyarlılığının da % 100 olmadığı belirtilmektedir (24). BIOMIC testinin sonuçları, rutin disk difüzyon duyarlılık testinde olduğu gibi, ESBL içerdiği saptanan bakteriler için sefamisinler dışında tüm sefalosporinlere dirençli olarak bildirilmelidir.

BIOMIC sisteminin bir parçası olan video yardımcı plak okuyucu sistem, hızlı bir şekilde inhibisyon zon çaplarını okuyarak herbir antibiyotik zonunun tek tek ölçülmesi zorluğunu ortadan kaldırmaktadır. BIOMIC sistemi, birçok araştırmacı tarafından değerlendirilmiş ve son zamanlarda yapılan bir çalışmada, rutin olarak önerilmesine karşın sepsis, endokardit ve meninjit gibi ciddi hastalıklarda MİK değerlerinin tedavideki önemi nedeniyle kullanım alanı bulabileceği bildirilmiştir (25). BIOMIC sistemi, özellikle çoklu direnç gösteren bakterilerin etken olduğu infeksiyonlarda, uygun antibiyotik seçiminin bu antibiyotiğin MİK değerinin saptanarak yapılması, her bir plağın kısa sürede değerlendirilmesi gibi özellikleri nedeniyle, diğer MİK saptayan ticari sistemlere göre daha kullanışlı olduğu belirtilmektedir.

Sonuç olarak, çalışmanın yapıldığı hastane de kan kültürlerinden soyutlanan Gram-negatif bakterilerin hiçbirinde imipenem direnci saptanmamıştır ve hastaneden elde edilen kökenlerde güvenle kullanılacak bir antibiyotik olmasına karşın direnç gelişiminin önlenmesi için dikkatli kullanılması gerektiği düşünülmektedir. *Klebsiella* ve *E. coli* kökenlerinde ESBL varlığının oldukça yüksek oranda gözlenmesi, çoklu direncin izlenmesi ve tedavinin yönlendirilmesi bakımından önem taşımaktadır. BIOMIC sistemi kullanılarak antibiyotik duyarlılığının MİK değerleriyle belirtilmesinin bakteremilerde etkin antibiyotik sağaltımına olanak verecektir.

KAYNAKLAR

1. Jorgensen JH. Selection criteria for an antimicrobial susceptibility testing system. *J Clin Microbiol* 1993; 31: 2841-4.
2. Berke I, Tierno PM. Comparison of efficacy and cost-effectiveness of BIOMIC VIDEO and Vitek antimicrobial susceptibility test systems for use in the clinical microbiology laboratory. *J Clin Microbiol* 1996; 34: 1980-4.
3. Meis J, Petrou M, Bille J, Ellis D, Gibbs D. Global Antifungal Surveillance Group. A global evaluation of the susceptibility of *Candida* species to fluconazole by disk diffusion. *Diag Microbiol Infect Dis* 2000; 36: 215-23.
4. Korgenski EK, Daly JA. Evaluation of the BIOMIC video reader system for determining interpretive categories of isolates on the basis of disk diffusion susceptibility results. *J Clin Microbiol* 1998; 36: 302-4.
5. Sautter RL, Denys GA. Comparison of BIOGRAM and commercial microdilution antimicrobial susceptibility test systems. *J Clin Microbiol* 1987; 25: 301-4.
6. D'amato RF, Hochstein L, Vernaleo JR, et al. Evaluation of the BIOGRAM antimicrobial susceptibility test system. *J Clin Microbiol* 1985; 22: 793-8.

7. **Bone RC.** Gram-negative sepsis: a dilemma of modern medicine. *Clin Microbiol Rev* **1993**; 6: 57-68.
8. **National Committee for Clinical Laboratory Standards.** *Performance Standards for Antimicrobial Disk Susceptibility Tests.* Approved Standard. 6th ed. NCCLS Document M2-A6. Wayne, Pa: NCCLS, **1997**.
9. **Jarlier VN, Fournier G, Philippon A.** Extended broad-spectrum beta lactamases conferring transferable resistance to newer beta-lactam agents in *Enterobacteriaceae*: hospital prevalence and susceptibility patterns. *Rev Infect Dis* **1988**; 10: 867-78.
10. **Kılıç D, Kurt H, Tekeli E, Sözen TH.** Kan kültürlerinden izole edilen Gram-negatif aerobik bakterilerin dağılımı ve antibiyotiklere duyarlılıkları. *İnfek Derg* **1994**; 8: 55-8.
11. **Hoşoğlu S, Ayaz C, Geyik MF, Kökoğlu ÖF, Demirel M.** Aerobik bakteriyemi etkenlerinin izolasyonunda BACTEC 9240 sisteminin değerlendirilmesi. *İnfek Derg* **1999**; 13: 85-8.
12. **Gülşay Z, Atay T, Öktem MA, Yuluğ N.** Kan kültürü üremelerinde difüzyon testi uygulamasının değerlendirilmesi. *ANKEM Derg* **2000**; 14: 85-91.
13. **Kristensen B, Smedegaard HH, Pedersen HM, et al.** Antibiotic resistance patterns among blood culture isolates in a Danish county 1981-1995. *J Med Microbiol* **1999**; 48: 67-71.
14. **Fluit AC, Jones ME, Schmitz FJ, Acar J, Gupta R, Verhoef J.** The SENTRY Participants Group. *Clin Infect Dis* **2000**; 30: 454-60.
15. **Reinser BS, Woods GL.** Times to detection of bacteria and yeast in BACTEC 9240 blood culture bottles. *J Clin Microbiol* **1999**; 37: 2024-6.
16. **Durmaz G, Bolatlı T, Yıldız Ü, Akgün Y.** 5148 kan kültürünün retrospektif değerlendirilmesi. *Türk Mikrobiyol Cem Derg* **1997**; 23: 164-7.
17. **Akyar I, Fidan I, Erer D, Rota S, Türet S, Halit V.** Göğüs, kalp ve damar cerrahisi yoğun bakım ünitesinden izole edilen bakteri türlerinin sefepim duyarlılığı. *ANKEM Derg* **2000**; 14: 5.
18. **Karayay S, Öksüz L, Gürler N, Kaygusuz A, Öngen B, Töreci K.** Gram-negatif bakteri suşlarında sefepim direnci duyarlılığı. *ANKEM Derg* **1997**; 11: 5.
19. **İnan D, Ögünç D, Günseren F, Çolak D, Mamıkoğlu L, Gültekin M.** Hastane enfeksiyonu etkeni olan *Pseudomonas aeruginosa* suşlarının çeşitli antibiyotiklere karşı direnci. *Mikrobiyol Bült* **2000**; 34: 255-60.
20. **Yapar N, Ulusoy S, Arda B, Tünger A.** Hastane enfeksiyonu etkeni *Pseudomonas aeruginosa* kökenlerinde beta-laktamaz aktivitesi ve antibiyotik direnci. *İnfek Derg* **1999**; 13: 51-4.
21. **Över U, Gür D, Ünal S, Miller GH.** Aminoglikozid Direnci Çalışma Grubu: Gram-negatif bakterilerde aminoglikozid antibiyotiklere karşı direnç mekanizmaları: Son gelişmeler ve Türkiye sonuçları. *Flora* **2000**; 5: 168-78.
22. **Livermore DM, Yuan M.** Antibiotic resistance and production of extended-spectrum beta-lactamases amongst *Klebsiella* spp. from intensive care units in Europe. *J Antimicrob Chemother* **1996**; 38: 409-24.
23. **Gür D.** Beta laktamazlar. *Flora* **1997**; 2 (Ek 3): 3-18.
24. **Bush K.** Is it important to identify extended-spectrum beta-lactamase-producing isolates? *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* **1996**; 15: 361-4.
25. **Geiss HK, Klar UF.** Evaluation of the BIOMIC video reader system for routine use in the clinical microbiology laboratory. *Diagn Microbiol Infect Dis* **2000**; 37: 151-5.